

МИНИСТЕРСТВО РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДЕЛАМ
ГРАЖДАНСКОЙ ОБОРОНЫ, ЧРЕЗВЫЧАЙНЫМ СИТУАЦИЯМ
И ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ СТИХИЙНЫХ БЕДСТВИЙ

Федеральное государственное учреждение здравоохранения
«Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины
имени А.М. Никитова»

**КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА
В КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ
СПЕЦИАЛИСТОВ ОПАСНЫХ ПРОФЕССИЙ**
(Коллективная монография)

Под редакцией С.С. Алексанина и Н.М. Калининой

Санкт-Петербург
2009

УДК 616-07

Авторы: Алексанин С.С., Андреев А.А., Бычкова Н.В., Васякина Л.И., Давыдова Н.И., Дрыгина Л.Б., Железняков Е.В., Зыбина Н.Н., Калинина Н.М., Корсакова Н.Е., Пономаренко В.М., Пояркова Н.А., Тихомирова О.В., Трофимова И.В., Фролова М.Ю., Чиненова Л.В., Шантырь И.И., Эллиниди В.Н., Яковлева М.В.

Рецензенты:

доктор медицинских наук профессор В.Л. Эмануэль
доктор медицинских наук профессор В.Н. Хирманов

Клиническая лабораторная диагностика в комплексной оценке состояния здоровья специалистов опасных профессий (коллективная монография) / под. ред. С.С. Алексанина, Н.М. Калининой. – СПб.: «Политехника-сервис», 2009. – 311 с.

Аннотация:

В монографии представлены результаты исследований специалистов в области клинической лабораторной диагностики Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова МЧС России, посвященные выявлению диагностической значимости и информативности показателей биохимических, иммунохимических, иммунологических и морфологических исследований при обследовании ЛПА на ЧАЭС и спасателей МЧС и определению роли методов клинической лабораторной диагностики в программах оценки состояния здоровья этих категорий лиц.

ISBN 978-5-904031-31-5

© Коллектив авторов, 2009

© ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова
МЧС России, 2009

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений и условных обозначений	5
Введение	6
Раздел I. Клиническая лабораторная диагностика в оценке состояния здоровья ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС	8
1.1. Современные лабораторные технологии в диагностике патологии щитовидной железы и онкопревенции у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС (<i>Дрыгина Л.Б., Трофимова И.В.</i>).....	8
1.2. Алгоритмы лабораторной диагностики при сосудистой патологии у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС (<i>Зыбина Н.Н., Тихомирова О.В., Фролова М.Ю., Дрыгина Л.Б., Давыдова Н.И.</i>).....	38
1.3. Клинико-лабораторная оценка состояния слизистой оболочки желудка у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС (<i>Дрыгина Л.Б., Пояркова Н.А., Эллиниди В.Н.</i>).....	60
1.4. Дисфункция эндотелия как один из механизмов формирования сосудистых реакций у лиц опасных профессий (<i>Дрыгина Л.Б., Железняков Е.В.</i>).....	87
1.5. Клинико-лабораторные критерии оценки состояния адаптационно-регуляторных систем у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС в отдаленные сроки (<i>Дрыгина Л.Б.</i>).....	104
1.6. Формирование остеопенического синдрома и возрастной дефицит андрогенов у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС (<i>Дрыгина Л.Б., Давыдова Н.И., Зыбина Н.Н., Корсакова Н.Е.</i>).....	123
1.7. Информативность параметров оценки окислительного стресса у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС с бронхолегочной патологией (<i>Н.Н. Зыбина</i>)	133
1.8. Оценка микроэлементного статуса лиц опасных профессий (<i>Шантырь И.И., Яковлева М.В.</i>)	159
Раздел II. Клиническая лабораторная диагностика в оценке состояния здоровья спасателей МЧС	168
2.1. Клиническая лабораторная диагностика в программе оценки состояния здоровья спасателей МЧС (<i>Алексанин С.С., Зыбина Н.Н., Андреев А.А.</i>).....	168
2.2. Диагностическая информативность иммунологических показателей в оценке состояния здоровья профессиональных спасателей МЧС и сотрудников ГПС (<i>Калинина Н.М. Давыдова Н.И. Бычкова Н.В. Чиненова Л.В. Васякина Л.И. Пономаренко В.М. Андреев А.А.</i>).....	187

2.3. Сравнительная оценка функциональной активности слизистой оболочки желудка у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС и сотрудников государственной пожарной службы (Дрыгина Л.Б., Пояркова Н.А.).....	201
Раздел III. Приложение	206
3.1. Кардиоспецифические биомаркеры как предикторы коронарных катастроф (Дрыгина Л.Б.).....	206
3.2. Взаимосвязь изменения минеральной плотности костной ткани и атерокальцификации сосудов (Дрыгина Л.Б., Корсакова Н.Е).....	215
3.3. Роль воспаления в атерогенезе при ишемической болезни сердца (Дрыгина Л.Б., Корсакова Н.Е.).....	226
3.4. Современные технологии аллергодиагностики (Калинина Н.М., Дрыгина Л.Б.).....	234
Список литературы	279

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ	артериальная гипертензия	ОП	остеопороз
АД	артериальное давление	ОПС	остеопенический синдром
АИТ	аутоиммунный тиреоидит	ПСФСЗ	поисково-спасательные формирования Северо-Западного региона
АС	атеросклероз	ПОЛ	перекисное окисление липидов
АОЗ	антиоксидантная защита	ПЦР	полимеразная цепная реакция
АОС	антиоксидантная система	РЖ	рак желудка
ВСД	вегетососудистая дистония	РЦЖ	рак щитовидной железы
ГБ	гипертоническая болезнь	СОД	супероксиддисмутаза
ГПС	государственная пожарная служба	СОЖ	слизистая оболочка желудка
ГЦ	гомоцистеин	СРБ	С-реактивный белок
ДАД	диастолическое артериальное давление	СРО	свободнорадикальное окисление
ДЭ	дисциркуляторная энцефалопатия	ССЗ	сердечно-сосудистые заболевания
ЖКТ	желудочно-кишечный тракт	ССС	сердечно-сосудистая система
ИБС	ишемическая болезнь сердца	ТБК	тиобарбитуровая кислота
ИИ	ионизирующее излучение	ФНО	фактор некроза опухоли
ИЛ	интерлейкины	ЦАМО	центральный аэромобильный спасательный отряд
ИМТ	индекс массы тела	ХАГ	хронический атрофический гастрит
КФРА	комплекс факторов радиационной аварии	ХНМК	хроническое нарушение мозгового кровообращения
ЛПА	ликвидаторы последствий аварии	ЦВЗ	цереброваскулярные заболевания
ЛПВП	липопротеины высокой плотности	ЧАЭС	Чернобыльская атомная электростанция
ЛПНП	липопротеины низкой плотности	ЧС	чрезвычайные ситуации
ЛПОНП	липопротеины очень низкой плотности	ЭТ	эндотелин
МД	малые дозы	ЭЭГ	электроэнцефалография
МДА	малоновый диальдегид	TNF	фактор некроза опухолей
МПКТ	минеральная плотность костной ткани	IFN	интерфероны
НПНКМ	начальные проявления недостаточности кровообращения мозга	IL	интерлейкины
НЦД	нейроциркуляторная дистония	HP	<i>Helicobacter pylori</i>
ОИМ	острый инфаркт миокарда	PADAM	возрастной дефицит андрогенов

ВВЕДЕНИЕ

В XXI веке во всем мире неуклонно возрастает угроза терроризма, повышается опасность локальных военных конфликтов, применения террористическими группами взрывчатых, воспламеняющихся, химических, биологических и радиоактивных веществ. В этих условиях на специализированные аварийно-спасательные подразделения МЧС РФ возлагается особая роль по обеспечению законного права интересов граждан РФ в области сохранения их жизни и здоровья при развитии ЧС, что определяет необходимость высокой профессиональной и физической готовности спасательных подразделений к действиям в ЧС любого характера.

В подобных условиях для обеспечения максимальной эффективности профессиональной деятельности особое значение приобретают мероприятия по сохранению здоровья спасателей при проведении работ в очагах возникновения ЧС техногенного, природного, биолого-социального характера. Совокупность неблагоприятных факторов условий профессионального труда спасателей требует контроля и мониторинга состояния их здоровья.

Особую актуальность эта проблема приобретает в связи с неуклонным ростом числа аварийных ситуаций, сопровождающихся пожарами и значительным количеством пострадавших при этом людей

В Российской Федерации в последние годы пожары приобретают масштабы национального бедствия, что подтверждается высоким числом погибших и травмированных в пожарах людей. При ЧС, как впрочем и при пожарах, не только пострадавшие, но спасатели и пожарные подвергаются воздействию множества опасных факторов – действию низких и высоких температур, токсичных продуктов горения, при работах на глубине водоемов – повышенному атмосферному давлению, хроническому стрессу

В соответствии с приказами МЗМП РФ №90 от 14.03.96 г., МЗСР РФ от 16.08.2004 г. №83 с изменениями от 16.05.05 г. требования к состоянию здоровья спасателей МЧС исключительно высоки, при этом перечень разработанных диагностических мероприятий явно недостаточен для выявления и предупреждения патологии, ассоциированной с профессиональными факторами. В связи с этим разработка адекватных подходов к оценке состояния здоровья и методов профилактики заболеваний у спасателей представляется своевременной и актуальной.

Клиническая лабораторная диагностика донологических нарушений здоровья лиц опасных профессий, спасателей и пожарных, приобретает в этой связи высокую медицинскую и социальную значимость.

Опыт клинической лабораторной диагностики состояния здоровья ликвидаторов последствий аварии (ЛПА) на ЧАЭС, приобретенный

сотрудниками ВЦЭРМ им. А.М.Никифорова МЧС России (ВЦЭРМ), позволяет разработать и совершенствовать оптимальные алгоритмы обследования ныне работающих спасателей и пожарных и предложить направления профилактики нарушений здоровья профессиональных спасателей и пожарных

Проблема оценки состояния здоровья ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС и сегодня, более чем через 20 лет после аварии, остается актуальной. Изучение медицинских последствий Чернобыльской катастрофы является одной из существенных составляющих деятельности ВЦЭРМ, в котором на протяжении многих лет проводится комплексное обследование и лечение ЛПА с соматической патологией. Существенный вклад в диагностику соматических заболеваний у ЛПА вносит клиническая лабораторная диагностика. Усилия специалистов ВЦЭРМ в области лабораторной диагностики были направлены на изучение молекулярных механизмов развития соматической патологии у ЛПА, что позволило сформировать представления о программах лабораторной диагностики при соматической патологии у ЛПА с целью оптимизации диагностического процесса, выявления патогенетических вариантов той или иной патологии, выбора обоснованной терапии и оценки эффективности лечения.

В монографии представлены результаты исследований сотрудников ВЦЭРМ, посвященные выявлению диагностической значимости и информативности показателей биохимических, иммунохимических, иммунологических и морфологических исследований при обследовании ЛПА на ЧАЭС и спасателей МЧС и определению роли методов клинической лабораторной диагностики в программах оценки состояния здоровья этих категорий лиц.

Данная монография представляет собой первый опыт обобщения полученных результатов за последние 15 лет деятельности сектора клинического лабораторно-диагностического ВЦЭРМ. В связи со стремительным развитием лабораторной диагностики в практику работы лабораторий ВЦЭРМ внедряются новые методы и подходы, позволяющие повысить качество и информативность диагностики. Некоторые материалы, дающие представление о перспективах лабораторной диагностики, в том числе и при оценке состояния здоровья лиц опасных профессий, помещены в раздел «Приложение».

РАЗДЕЛ I

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧАЭС

1.1. СОВРЕМЕННЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ОНКОПРЕВЕНЦИИ У ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧАЭС

Более 20 лет продолжают интенсивные научные исследования, направленные на изучение медико-биологических последствий ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС. После аварии на ЧАЭС одним из ключевых аспектов медицинской реабилитации пострадавшего населения явились болезни щитовидной железы (Дедов В.И. и др., 1993).

Известно, что основными повреждающими радиационными факторами аварии были общее внешнее гамма-облучение всего тела и бета-облучение большой поверхности тела с решающим вкладом в суммарную дозу коротко живущих изотопов йода – ^{131}I , ^{133}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{126}I и ^{130}I и изотопов цезия, а также стронция, плутония, селена (Никифоров А.М. и др., 2002; Коваленко А.Н. и др., 2006). Анализ проведенных исследований свидетельствует об отчетливой зависимости доза-ответ в отношении величины относительного риска рака щитовидной железы (ЩЖ) в диапазоне 0-5 Гр. Ионизирующие излучения в малых дозах также обуславливают развитие тиреоидного рака (Ron E. et.al., 1988; Hallquist A. et al. 1994).

В настоящее время в отношении пострадавших от Чернобыльской катастрофы широко используется термин «йодный удар», указывающий на основной повреждающий фактор в развитии патологии щитовидной железы у этого контингента – изотопы йода. Не вызывает сомнений и является научно доказанным факт влияния лучевого воздействия на развитие не только новообразований щитовидной железы, но и гипотиреоза, аутоиммунного тиреоидита, узловых форм нетоксического зоба, тиреотоксикоза.

Радионуклиды йода являются канцерогенами для щитовидной железы, поскольку у лиц, подвергнутых «йодному удару», развиваются опухоли исключительно из эпителия, поглощающего йод. При этом эндотелий, миоциты сосудов, клетки соединительной и нервной ткани, находящиеся в ткани щитовидной железы, не являются источником роста опухолей.

Непрерывный мониторинг за состоянием здоровья ликвидаторов и пострадавшего населения свидетельствует о том, что основным и наиболее

тяжелым медицинским последствием этой аварии явился рост заболеваемости раком щитовидной железы (РЩЖ), особенно папиллярной его формой.

Исследования МАГАТЭ, ведущих учреждений РФ и СНГ, занимающихся медицинскими последствиями Чернобыльской катастрофы, убедительно показали достоверный рост заболеваемости узловым зобом в Белоруссии (с 0,5 до 3,48 %) (Астахова Л.Н. и др., 1991) и в ряде регионов России – в Калужской, Брянской, Тульской областях (Дедов И.И. и др., 1993). Увеличение заболеваемости РЩЖ связывают с внутренним облучением вследствие избирательного накопления ею радиоактивного йода. Не исключается также влияние более долго живущих изотопов цезия (хотя известно, что щитовидная железа цезий избирательно не накапливает).

Некоторые исследователи пытались выявить отличия и закономерности роста радиогенного и спорадического РЩЖ. Использовали различные критерии: клинические, морфологические, молекулярно-генетические. Выводом, сделанным авторами явилось утверждение, что радиогенный и спорадический раки ЩЖ не имеют характерных отличительных особенностей гистологического строения. В группе радиогенных опухолей не выявлено половых различий, в то время как при спорадическом раке преобладают лица женского пола (Абросимов А.Ю., 2008).

По данным А. Пинчера (1999) РЩЖ, выявляемый у лиц, пострадавших от Чернобыльской аварии, отличается от спонтанного рядом особенностей: развивается тем чаще, чем моложе были субъекты во время аварии; исчезновением разницы в числе случаев между мужчинами и женщинами; преобладанием папиллярного рака (90 %) с характерным интенсивным ростом, преобладанием стромы, выраженной тенденцией к локальной инвазии, меньшей степенью дифференцировки, частым метастазированием в лимфатические узлы.

Данные Национальных медицинских регистров по раку щитовидной железы свидетельствуют о том, что рост заболеваемости раком щитовидной железы в регионах, загрязненных радионуклидами, носит драматический характер с 1992 г. после окончания латентного (скрытого) периода. Особенно наблюдается стремительное нарастание этой патологии среди лиц, которые были детьми во время Чернобыльской аварии.

Вопросы патогенеза радиационно-индуцированного рака до конца не изучены. Притом, известно, что радиация является канцерогенным фактором и обладает свойствами инициатора и промотора (UNSCEAR 1988, 1994). Наиболее распространенной точкой зрения является положение о том, что увеличение числа случаев рака ЩЖ в первые годы после аварии может быть объяснено действием радиационного фактора как промотора на уже имеющиеся в то время микроопухоли ЩЖ (cancer in

situ), что могло ускорить рост последних и манифестацию клинической стадии. Рассматривается также вопрос о том, что возможно развитие рака *de novo*. Известно, что предраковые процессы в различных органах проявляются по - разному (диффузные изменения в виде дистрофий, дисплазий, атрофий, гиперплазий) и в этом отношении щитовидная железа не является исключением.

По обобщенным литературным данным РЩЖ возникает с частотой от 0 до 11 % у больных с аденоматозным зобом, у 3-33 % у больных, оперированных по поводу узловых образований и в 2-22 % при наличии «холодных» узлов. Другим по значимости заболеванием, на фоне которого нередко встречается РЩЖ, является зоб – самое распространенное заболевание щитовидной железы. Доказательством возможных перестроек, гиперплазии ткани щитовидной железы при зобе, играющей роль в формировании рака является тот факт, что в регионах, эндемичных по зобу, РЩЖ обнаруживается значительно чаще, чем в местах, где нет дефицита йода.

Зоб Хасимото не рассматривается как предопухоловое заболевание, однако нередко случаи папиллярного рака с развитием аутоиммунных процессов в железе.

Заболевания ЩЖ у ликвидаторов последствий аварии (ЛПА) на ЧАЭС можно охарактеризовать двумя синдромами: синдромом увеличения ЩЖ (узловое или диффузное) и синдромом нарушения ее функции (гипертиреоз или гипотиреоз). У ЛПА на ЧАЭС, выполнявших работы в 30-км зоне с апреля 1986 г. по ноябрь 1987 г., гипертиреоидные состояния были выявлены в 20,2 % случаев, а гипотиреоз – в 13,9 %. Среди лиц, принимавших участие в ликвидации последствий аварии в 1988-1990 годах, гипертиреоз выявлялся у 14,9 % обследованных, гипотиреоз – у 5,6 % (Петров Н.М. и др., 1998). Авторами была установлена прямая корреляционная зависимость продолжительности пребывания в зоне радиоактивного заражения и степени тяжести сдвигов в гипофизарно-тиреоидной гормональной оси. Высокая частота заболеваемости ЩЖ связана с накоплением в ней радиоактивного йода (Гридько О.М., 1997). Доля лиц с выявленной инкорпорацией йода в ЩЖ среди пребывавших в 30-км зоне в мае 1986 года составила 55,7 % (Цыганкова А.Т. и др., 1991). Облучение ЩЖ сопровождалось первичной острой, затем хронической воспалительной реакцией (Чебан А.И., 1991). И.И. Дедов и соавт. (1995) отмечали, что заболевания ЩЖ выявлялись у 27 % ЛПА и в отдаленном периоде.

Известно, что радиационный мутагенез, канцерогенез и старение являются главными отдаленными последствиями воздействия ионизирующих излучений, они способны запускать аутоиммунные процессы у облученных лиц на фоне генетической детерминации. У ЛПА на ЧАЭС выявлена высокая частота мутаций в гипервариабельных

минисателлитных локусах генов. Ионизирующее излучение даже в небольших пролонгированных дозах приводит к отсроченной репродуктивной гибели (отдаленным летальным мутациям), дестабилизации хромосом, соматическим мутациям и амплификации генов, изменению радиочувствительности измененных клеток, и они существенным образом отличаются от необлученных.

Полагают, что аутоиммунный тиреоидит (АИТ) инициируется генетическими факторами: такими, как дестабилизация хромосом, соматические мутации, тяжелые дисметаболические изменения в системе окислительно-восстановительного гомеостаза, усиление образования активных цитотоксических форм кислорода, ослабление активности ферментов антиоксидантной системы, и, следовательно, приводят к первичному, вторичному и третичному повреждению тиреоидных фолликулов. Как следствие, образуются цитотоксические иммунные комплексы, Т-лимфоцитарная агрессия к собственным тиреоцитам, образование аутоантител, апоптоз, разрушение фолликулов, транзиторный гипертиреоз. По мере уменьшения числа функционирующих тиреоцитов возникает гипотиреоз, происходит замещение разрушенных фолликулов соединительной тканью. Таким образом при воздействии ионизирующего излучения происходит развитие АИТ и гипотиреоза.

Болезнь Грейвса отнесена к группе фоновых предраковых заболеваний щитовидной железы, так как это заболевание сопровождается пролиферативными процессами в фолликулярном эпителии. Тиреоидстимулирующие антитела способствуют пролиферации тиреоидного эпителия. При гистологическом анализе удаленных желез по поводу болезни Грейвса в 1-8 % обнаруживают карциномы, что дает основание рассматривать связь между этим заболеванием и раком (Han S.-M. et al, 2004).

Ясно, что механизмы канцерогенеза ЩЖ до конца не изучены. Чернобыльская катастрофа явилась своеобразным тяжелым медицинским экспериментом, в который оказались вовлеченными огромные группы населения. Последствия его будут изучаться до последнего умершего, пострадавшего в данной аварии и еще долго в поколениях детей, рожденных в семьях пострадавших. В настоящее время важно своевременно диагностировать и лечить те заболевания ЩЖ, рост которых индуцировала авария. Для этого необходимо не только использовать уже известные методы исследований, но и современные медицинские технологии, правильно трактовать результаты полученных исследований.

Регуляция деятельности щитовидной железы

ЩЖ секретирует в кровь три гормона – тироксин (T_4), трийодтиронин (T_3) и кальцитонин. Тироксин и трийодтиронин являются

йодированными производными тирозина, а кальцитонин – полипептидный гормон. Кальцитонин функционально не связан с другими гормонами ЩЖ и участвует в регуляции гомеостаза кальция. Основным гормоном, продуцируемым ЩЖ, является тироксин. Его вырабатывается в 10 раз больше, чем трийодтиронина.

Синтез и высвобождение T_4 щитовидной железой регулируется тиреотропным гормоном (ТТГ) гипофиза, выработка которого в свою очередь находится под контролем ТТГ-рилизинг гормона гипоталамуса. Выработка ТТГ и ТТГ-рилизинг гормона регулируется тироксином по механизму обратной связи.

ТТГ имеет общую с гонадотропинами и пролактином альфа-цепь, чем объясняется взаимное влияние половых желез и ЩЖ. Биологический эффект ТТГ на клетки реализуется через рецептор к ТТГ, расположенный на мембране тиреоцитов. Рецептор имеет довольно сложное строение. ТТГ-рецепторный комплекс вызывает ответные биологические реакции с помощью не менее четырех внутриклеточных посредников (цАМФ, диацилглицерола и др.)

При аутоиммунном ответе может происходить выработка аутоантител, связывающихся с рецепторами к ТТГ (рТТГ). В настоящее время определение антител к рТТГ проводят иммуноферментным методом (ELISA). Антитела к рТТГ гетерогенны, они могут оказывать блокирующее или стимулирующее действие. Определение антител к рТТГ имеет значение при лечении диффузного токсического зоба (ДТЗ): отсутствие антител при ДТЗ свидетельствует о ремиссии заболевания; наличие – о возможном рецидиве после отмены лечения.

Процесс биосинтеза тиреоидных гормонов включает четыре стадии:

- включение йода в ЩЖ;
- органификация йода;
- синтез гормонов;
- синтез тироксина и трийодтиронина;
- хранение и выведение в кровь.

В ЩЖ непрерывно происходит обновление йода вследствие поглощения его из крови (в виде йодида), а затем синтеза и секреции тиреоидных гормонов. Механизм захвата йодида из крови называют йодидным насосом. ЩЖ способна извлекать до 40 % содержащегося в крови йодида. Это достигается благодаря наличию йодидного насоса и мощного кровотока через ткань железы. Основная часть (90 %) йода, не поглощенного ЩЖ, выделяется с мочой. Именно на этом свойстве основаны клинические тесты определения йодной недостаточности по суточной экскреции йода с мочой. Необходимо отметить, что этот

показатель не может быть использован для оценки йодного баланса у конкретного пациента, а проводится для характеристики его в популяции: средняя величина более 10 мкг % позволяет исключить йодный дефицит.

Йодид поступает в ЩЖ не только из желудочно-кишечного тракта, но и после периферического дейодирования йодтиронинов, а также после «утечки» из самой ЩЖ. При поступлении йодидов в ЩЖ происходит их окисление в молекулярный йод под влиянием окислительных ферментов – пероксидазы, цитохромоксидазы.

Образовавшийся молекулярный йод включается в остаток тирозина молекулы тиреоглобулина (ТГ) с последующим образованием моно- и дийодтирозина. Параллельно происходит процесс дейодирования этих соединений. Образовавшийся молекулярный йод вновь поступает во внутренний кругооборот в железе и используется для синтеза тиреоидных гормонов T_3 , T_4 .

Под влиянием фермента тиреоидной пероксидазы и ТГ йодированные тирозины конденсируются в тиронины (монойодтиронин, дийодтиронин) с последующим образованием тетраiodтиронина (тироксина) и трийодтиронина. Биосинтез йодсодержащих гормонов и накопление их в резервной форме происходит внутри основного гликопротеида тиреоидных фолликулов – тиреоглобулина.

Тироксин синтезируется в ЩЖ; 20 % трийодтиронина синтезируется в ЩЖ и 80 % - в печени из тироксина. Поступление йодсодержащих гормонов в кровь происходит путем протеолиза ТГ под действием протеаз и пептидаз.

Ежедневная секреция T_4 составляет 80-100 мкг, а T_3 7-12 мкг. Поступившие из ЩЖ в кровоток тиреоидные гормоны связываются с транспортными белками: тироксинсвязывающий глобулин связывает 60-65 % T_4 и T_3 ; тироксинсвязывающий преальбумин связывает 25-30 % T_4 и T_3 ; тироксинсвязывающий альбумин связывает 5-10 % T_4 и T_3 .

Большая часть тиреоидных гормонов находится в связанной с белками форме – 99,96 % T_4 и 99,7 % T_3 , а свободная фракция составляет 0,03 % для T_4 и 0,3 % для T_3 и именно она обуславливает биологическое действие йодсодержащих гормонов.

Функции периферических тиреоидных гормонов следующие: повышение потребления кислорода тканями; стимулирование синтеза белков; воздействие на рост и дифференцировку клеток; влияние на метаболизм углеводов, липидов, витаминов; влияние на процессы в центральной нервной системе

Тиреотропный гормон гипофиза оказывает воздействие на

транспорт йода в ЩЖ; синтез тиреоглобулина; синтез тиреоидных гормонов T_4 и T_3 ; высвобождение йодсодержащих гормонов из ЩЖ.

Лабораторная диагностика дисфункции щитовидной железы

Для лабораторной диагностики дисфункции ЩЖ широко используются методы иммунохимического анализа, лидирующее место среди которых принадлежит ИФА. Особенно большое распространение этот метод получил в последние годы, благодаря широкому внедрению в производство диагностических тест-систем на основе моноклональных антител и рекомбинантных антигенов, позволяющих повысить чувствительность и специфичность анализа.

Первым этапом лабораторной диагностики функции ЩЖ является определение уровня ТТГ. Это позволяет предположить наличие гипо-, гипер- и эутиреоза.

При повышенной концентрации ТТГ первичный гипотиреоз можно подтвердить низким уровнем общего T_4 , однако концентрация T_4 может меняться и при отсутствии заболеваний ЩЖ из-за изменения концентрации тироксинсвязывающего глобулина (терапевтическое лечение андрогенами, анаболическими стероидами, прием контрацептивов). В связи с чем, для оценки состояния ЩЖ рекомендуется проводить определение уровня свободного тироксина (fT_4).

Низкие концентрации ТТГ при высоком содержании fT_4 свидетельствуют о гипертиреоидном состоянии.

Часто при оценке функционального состояния ЩЖ в первую очередь определяют концентрации периферических гормонов щитовидной железы. Диагностическая значимость определения общих тиреоидных гормонов может соответствовать таковой для свободной фракции гормонов при условии, что уровень связывающих протеинов сыворотки у всех пациентов одинаков при равной аффинности к тиреоидным гормонам. Аномальные содержания общих тиреоидных гормонов в крови наиболее часто обусловлены патологией связывающих протеинов, а не нарушением функции щитовидной железы. В связи с этим, определение свободного тироксина предпочтительно по отношению к общему содержанию гормона в условиях аномальных концентраций тиреоидсвязывающих глобулинов. В то же время уровни свободных тиреоидных гормонов могут быть не точны при изменении аффинности тиреоидсвязывающих глобулинов или в присутствии аномальных тироксинсвязывающих протеинов. В условиях несоответствия результатов исследования концентраций свободных фракций гормонов, показано определение содержания общих тироксина и трийодтиронина.

Одним из оснований для предпочтительного выбора определения свободных фракций гормонов (fT_4 и fT_3) по отношению к общим величинам их концентраций может быть необходимость повышения точности диагностики гипер- и гипотиреоза у больных с нарушениями в системе связывающих протеинов плазмы, что искажает диагностическую точность исследования свободных T_3 и T_4 .

Клиническое значение определения уровня ТТГ в сыворотке крови. Известно, что определение ТТГ в крови является предпочтительным по сравнению с определением fT_4 , так как дает возможность определять субклинические формы тиреотоксикоза и гипотиреоза, поскольку при этих состояниях уровень fT_4 остается нормальным. Для обоснованного заключения о субклинической тиреоидной дисфункции необходимо подтверждение изолированного нарушения содержания ТТГ при повторном определении гормона в повторных анализах не менее чем через 3 недели. При подтверждении отклонений уровня ТТГ (повышение) от нормы следует определить титр антитиреоидных антител как причины субклинического гипотиреоза. Чем более высокие уровни антитиреоидных антител, тем быстрее развивается гипотиреоз. При выявлении достоверно низких концентраций ТТГ необходимо установить причину гипертиреоза: ятрогенного генеза, автономно функционирующей аденомы при наличии одно- или многоузлового зоба. Сочетание стойко низкого уровня ТТГ и повышенного титра антитиреоидных антител указывает на аутоиммунный генез тиреотоксикоза.

Известны не тиреоидные состояния, при которых возникают существенные изменения уровня тиреоидных гормонов. При голодании, системных заболеваниях происходит снижение уровней T_3 общего и свободного. На фоне приема некоторых препаратов возможно повышение уровня T_4 без клинических симптомов тиреотоксикоза. Указанные изменения наблюдаются при психиатрической патологии, заболеваниях печени, у лиц старческого возраста. Пациенты, принимающие амиодарон (кордарон), принимавшие препараты йода (в частности йодконтрастные) или пропранолол в высоких дозах демонстрируют повышенные уровни T_4 .

Тиреоглобулин (ТГ) – протеин-предшественник в процессе синтеза гормонов щитовидной железы и выявляется в сыворотке большинства здоровых лиц при использовании довольно чувствительных методов. Содержание ТГ в крови определяется тремя основными факторами: 1) объемом имеющейся в организме дифференцированной тиреоидной ткани; 2) наличием или отсутствием любого вида воспаления или иного повреждения ЩЖ, обуславливающего поступление ТГ в кровь; 3) уровнем стимуляции ТТГ-рецепторов хорионическим гонадотропином или антителами к рецепторам ТТГ.

Повышение уровня ТГ является неспецифическим признаком любой тиреоидной патологии. При подавляющем большинстве гипертиреоидных

состояний уровень ТГ сыворотки повышен. Низкие уровни ТГ информативны при подтверждении ятрогенного или вызванного приемом препаратов левотироксина гипотиреоза, при дифференциальной диагностике врожденного гипотиреоза, а также степени активности тиреоидита (в том числе, подострого и амиодарон-индуцированного).

Принципы оценки результатов определения уровня ТГ при дифференцированном РЩЖ зависят от ряда моментов:

При отсутствии у больного антитиреоидных антител - исследование содержания этого показателя в сыворотке до хирургического лечения (а также до и не менее чем через 2 недели после тонкоигольной пункционной биопсии) информативно в оценке тиреоглобулин секретирующей способности опухоли;

- снижение уровня тиреоглобулина в крови после хирургического вмешательства отражает степень его радикальности при условии уменьшения показателя вдвое на протяжении каждых 3-4 суток на фоне ТТГ-супрессивной терапии препаратами левотироксина;

- после тиреоидэктомии не существует «диапазона нормы» содержания тиреоглобулина в крови, после экстирпации ЩЖ тиреоглобулин в сыворотке крови не определяется, даже на фоне повышенного ТТГ;

- выявлена зависимость объема тиреоидной ткани и продукции тиреоглобулина при условии супрессии ТТГ до уровня ниже 0,1 мЕД/л: один грамм нормальной тиреоидной ткани обеспечивает содержание тиреоглобулина в сыворотке на уровне ~ 1 мкг/л (нг/мл).

- при стабильном уровне ТТГ возможен мониторинг размеров опухолевой ткани путем последовательного определения тиреоглобулина без сцинтиграфии с отменой терапии тироксином.

При наличии у больного антитиреоидных антител обычно выявляют ослабление или отсутствие реакции тиреоглобулина в ответ на стимуляцию ТТГ;

- последовательное определение ТГ является информативным тестом в отношении маркера опухоли.

Определение антитиреоидных антител и их клинко-диагностическое значение

На протяжении длительного времени считалось, что для развития аутоиммунного процесса достаточно простого контакта белков ЩЖ с иммунокомпетентными клетками, в результате которого образуются органоспецифические аутоантитела, вызывающие повреждение ткани ЩЖ. Однако, как показывают наблюдения, в сыворотке крови здоровых людей содержится тиреоглобулин (ТГ), а антитела к ТГ обнаруживаются

только у небольшого процента людей.

Показано, что постоянное поступление ТГ в кровь вызывает иммунный ответ только у лиц с нарушением иммунорегуляции, при этом играют роль изменения в структуре молекулы ТГ, возникающие в результате патологического процесса в ЩЖ.

В патогенезе АИТ принимают участие как клеточные, так и гуморальные механизмы иммунной реакции. Патогенез аутоиммунного поражения достаточно сложен и может включать:

- воздействие цитотоксических Т-лимфоцитов;
- антителозависимую комплемент- опосредованную цитотоксичность;
- антителозависимую клеточно- опосредованную цитотоксичность

Нарушение иммунорегуляции при тиреоидите обусловлено аномальным представлением антигена. На поверхности тиреоцитов появляются молекулы ГКГ класса II (HLA-DR). Пусковым фактором в экспрессии молекул класса II может выступать, например, ИФН γ при вирусной инфекции.

Аутоиммунная агрессия против ЩЖ может сопровождаться не только гибелью тиреоцитов с развитием гипотиреоза, но и изменением их функционального состояния. Так, продуцируемые плазматическими клетками – потомками специфических В-лимфоцитов, аутоантитела влияют на гормоногенез в щитовидной железе.

Маркерами заболеваний ЩЖ аутоиммунной природы являются антитиреоидные антитела. В настоящий момент идентифицированы и определяются полуколичественно антитела к ТГ (АтТГ) и микросомальной фракции тиреоцитов (АтМТ) - тиреоидной пероксидазе (антитела к ТПО). Механизм воздействия АтТГ и АтМТ различен, их уровни в крови изменяются независимо друг от друга, поэтому только совместное определение антител может иметь существенное клинико-диагностическое значение.

АтМТ связываются с аутоантигеном поверхностной мембраны, образуя комплекс антиген-антитело, присоединение к которому компонентов комплемента приводит к лизису клетки-мишени – тиреоцита. В случае присоединения к этому комплексу активационного антигена естественных киллеров (CD16+), гибель тиреоцита происходит в результате активации цитотоксической функции этих клеток. Основным антигеном микросомальной фракции тиреоцитов является фермент – тиреоидная пероксидаза. Тиреоидная пероксидаза играет важную роль в процессе иодирования ТГ и гормоногенезе в ЩЖ. Можно предположить, что АтМТ влияют на функциональную активность тиреоцитов, что в

конечном итоге приводит к гипотиреозу.

АтТГ обладают протеолитической активностью и способны расщеплять ТГ на более мелкие фрагменты. Попадая в фолликул, АтТГ расщепляют ТГ и, тем самым, препятствуют действию на него тиреоидной пероксидазы, которая распознает только нативные молекулы этого белка. В результате такого процесса также может наблюдаться снижение синтеза тиреоидных гормонов Т₃ и Т₄.

В ответ на повреждающее действие аутоагрессии наблюдается гиперплазия ЩЖ, поддерживающая состояние эутиреоза, а иногда сопровождающаяся признаками гиперфункции. Длительный процесс аутоагрессии приводит к постепенному снижению функциональной активности ЩЖ – гипотиреозу. По принципу отрицательной обратной связи нарастает продукция ТТГ гипофизом. В результате формируется зоб (гипертрофическая форма аутоиммунного заболевания). Атрофическую форму аутоиммунного тиреоидита связывают с эффектом блокировки антител к рецептору ТТГ (рТТГ).

АтТГ методом радиоиммунного анализа обнаружены в 38 % случаев у больных гипертиреозом; у 10 % – гиперсекреторной аденомой; 14 % – коллоидно-узловым зобом; 80 % – тиреоидитом Хашимото; 15 % – гипотиреозом; 10 % – у лиц, не имеющих заболеваний ЩЖ.

Маркерная роль АтМТ выступает более отчетливо. Так при диффузном токсическом зобе эти антитела выявляются в 85 % случаев, при тиреоидите Хашимото – в 90 %; в популяции в европейской части России – в 4,1 % случаев.

Показана корреляционная зависимость между содержанием АтМТ в сыворотке крови со снижением гипэхогенности ткани ЩЖ при ультразвуковом исследовании.

Циркулирующие в крови АтТГ и АтМТ являются специфическими гуморальными эффекторами при аутоиммунном тиреоидите.

При подозрении на аутоиммунный тиреоидит определяют наличие в сыворотке крови пациентов антител к антигенам ткани щитовидной железы – антитела к тиреоглобулину и антитела к тиреоидной пероксидазе. Предварительные данные дают основание предполагать, что повышенный титр антител только к тиреоидной пероксидазе может указывать на тенденцию к гипотиреозу при нормальной ультразвуковой картине ЩЖ. Высокий титр антител к тиреоглобулину может указывать на тенденцию к узлообразованию.

При эпидемиологическом скрининге больших групп населения (пострадавших в результате воздействия комплекса факторов техногенных

катастроф, населения эндемичных по недостатку йода территорий) целесообразно выбрать единственный гормональный тест с невысокой стоимостью и большой чувствительностью. Таким тестом является определение концентрации ТТГ. При выявлении отклонений в концентрации ТТГ исследование дополняют определением концентрации fT₄. Важную роль при массовых обследованиях населения играет определение АТТГ и АТМТ, позволяя формировать группы риска по возникновению аутоиммунной тиреоидной патологии и оценивать влияние экологических факторов на состояние ЩЖ.

Определение антител к ТПО (или АТМТ) рекомендовано:

- в диагностике аутоиммунных заболеваний щитовидной железы;
- в диагностике факторов риска аутоиммунной тиреоидной патологии;
- при наличии факторов риска гипотиреоза на фоне терапии препаратами альфа-интерферона, интерлейкина-2 и лития;
- в связи с факторами риска дисфункции ЩЖ на фоне лечения амиодароном (амиодарон-индуцированного гипертиреоза).

Определение АТТГ при неопухолевых заболеваниях и состояниях:

- в условиях достаточного насыщения йодом не следует одновременно проводить определение антител к тиреоглобулину;
- в йод-дефицитных условиях определение АТТГ может быть показано в целях выявления аутоиммунной патологии ЩЖ на фоне узлового зоба;
- показано определение при мониторинге терапии препаратами йода по поводу эндемического зоба.

Определение антител к ТТГ-рецепторам:

- показано для определения этиологии гипертиреоза при сомнении в клиническом диагнозе;
- снижение уровня антител к рТТГ на фоне продолжительной тиреостатической терапии указывает на высокую вероятность ремиссии (до 75 % случаев);
- при болезни Грейвса помогает оптимизировать схемы терапии;
- при обследовании больных с подозрением на «эутиреоидную офтальмопатию Грейвса» (отсутствие антител к рТТГ не исключает развитие патологии).

Клинические аспекты патологии щитовидной железы

Для врача-клинициста при определении нозологии поражения ЩЖ

большое значение имеет ее размер, форма, структура, функциональная активность и наличие аутоантител к ткани ЩЖ.

Основные формы патологии ЩЖ, с точки зрения функционального состояния, делятся на три категории: гипотиреоз; эутиреоз; гипертиреоз.

Включение ультразвукового исследования в диагностический алгоритм при аутоиммунных поражениях ЩЖ позволяет получить дополнительную информацию, которую целесообразно использовать в комплексе с лабораторными, клиническими и цитологическими данными.

В процессе обследования ЛПА определенные трудности возникают при диагностике некоторых вариантов аутоиммунного тиреоидита. Напомним, что этот диагноз у данной категории лиц имеет не только медицинское, но и медико-социальное значение (при решении экспертных вопросов и, в частности, при установлении причинной связи заболевания с действием комплекса факторов радиационной катастрофы на ЧАЭС). Изучение медицинской документации ЛПА свидетельствует о том, что в некоторых лечебных учреждениях АИТ диагностируется почти у каждого третьего из них, что на порядок выше, чем при обследовании данного контингента в ведущих эндокринологических стационарах страны. Основной причиной подобной гипердиагностики является переоценка данных ультразвукового (реже пальпаторного) исследования, когда выявление диффузной гипоехогенности ткани ЩЖ трактуется как безусловный или, по крайней мере, основной, достаточный для диагноза признак АИТ.

В качестве критериев аутоиммунного тиреоидита целесообразно использовать:

пальпаторные признаки увеличения и уплотнения ткани железы, клинические признаки гипотиреоза;

типичные изменения железы при УЗИ: диффузное снижение эхогенности ткани, уменьшение (при атрофической форме) или увеличение (при гипертрофической форме) объема железы;

наличие диагностического титра АтТГ и/или АтМТ;

повышенный уровень ТТГ (при субклиническом гипотиреозе), либо сниженный уровень тиреоидных гормонов при повышенной концентрации ТТГ;

наличие лимфоцитарной инфильтрации и других изменений ткани ЩЖ по данным тонкоигольной аспирационной биопсии (ТАБ).

Наличие только одного из перечисленных признаков недостаточно для постановки диагноза. Вероятность АИТ возрастает с увеличением числа диагностических признаков.

По нашему мнению, обязательным для установления данного диагноза наличие минимум двух признаков: эхографические изменения в ткани железы и диагностически значимый титр АтТГ и/или АтМТ. О наличии «серонегативного» АИТ косвенно свидетельствует высокое содержание ТГ в крови, однако окончательный диагноз может быть верифицирован только цитологически.

Определение параметров клеточного иммунитета относится к числу дополнительных методов исследования и необходимы при установлении механизмов иммунопатогенеза АИТ.

Лабораторно-диагностические методы онкопревенции

Представляет интерес сообщение И.О.Томашевского с соавт. (2007) об определении состояния функции щитовидной железы по концентрации интратиреоидного йода. Доказано, что имеется корреляция между достоверным изменением концентрации интратиреоидного стабильного йода (КИСИ) и ТТГ. При наличии антитиреоидных антител КИСИ в ЩЖ снижается, а уровни ТТГ и fT4 значительно не меняются. Эти результаты демонстрируют достаточную чувствительность рентгенофлуоресцентного определения КИСИ в выявлении больных, имеющих риск развития гипотиреоза, что выражается в снижении концентрации интратиреоидного стабильного йода ниже 200 мкг/г. Одновременное определение ТТГ и КИСИ позволяет провести дифференциальную диагностику между переходящим и истинным, происшедшим в результате заболевания, нарушением функции ЩЖ, а также внести поправку «в ошибку» определения концентрации ТТГ в крови в результате влияния нетиреоидных факторов.

Технология определения КИСИ может быть использована с целью проведения индивидуальной йодной профилактики.

С целью визуализации щитовидной железы до настоящего времени в некоторых ситуациях (например, для выявления автономно функционирующей аденомы, или для наблюдения за больным после операции по поводу рака ЩЖ, или с целью поиска эктопированной ткани ЩЖ) требуется проведение *сцинтиграфии* щитовидной железы. Хотя сама по себе сцинтиграфия в настоящее время, как самостоятельный метод практически не используется для диагностики патологии щитовидной железы. Показано, что применение двухиндикаторной сцинтиграфии с использованием ^{99m}Tc –технетрила и ^{99m}Tc -пертехнетата в 100 % позволяет выявить рецидив РЩЖ.

Нет необходимости говорить о ценности *ультразвукового*

исследования с целью выявления различных заболеваний щитовидной железы. Ценность метода неизмеримо возрастает в сочетании с *тонкоигольной пункционной биопсией (ТАБ)*, являющейся эффективным методом диагностики РЩЖ.

Метод УЗИ рекомендуется при всех пальпируемых солитарных или доминантных узлах, независимо от размеров. Этот метод является предпочтительным по отношению к радиоизотопному сканированию и ультразвукографии в качестве первичного диагностического метода при узловом зобе, в то же время, предшествующая сонография может в значительной степени облегчить задачу проведения аспирации. В случае низких величин содержания ТТГ в крови или наличия признаков гиперфункции ЩЖ до проведения ТАБ показано радиоизотопное сканирование, при этом результаты его не исключают необходимость проведения ТАБ.

Важнейшей задачей при проведении ТАБ является получение информативного материала, его правильная обработка (окраска, оценка цитопатологических характеристик, правильное составление протокола).

Данные исследований показывают, что адекватность материала для цитологического исследования существенно возрастает параллельно с размером узла.

Принципиальными причинами получения неинформативного материала является неопытность персонала проводящего исследование, малый размер или кистозная природа пунктируемого образования, степень его васкуляризации.

Материал считается адекватным, если получено не менее 6 групп по 10-20 фолликулярных клеток в двух различных мазках.

Цитологическое исследование является важнейшим этапом в диагностике заболеваний щитовидной железы, тем более, что материал, полученный при проведении ТАБ, может использоваться для *молекулярно-генетических* исследований.

Молекулярно-генетическая (FISH) диагностика РЩЖ.

Молекулярная тиреоидология в настоящее время является областью проведения активных исследований.

FISH диагностика - это метод молекулярной цитогенетики, позволяющий проводить диагностику злокачественных новообразований различной локализации. Так как в основе процесса малигнизации лежат генетические нарушения, выявление первичных генетических изменений представляет собой способ самой ранней диагностики онкологических заболеваний и предраковых состояний. Методами молекулярной цитогенетики патологические клетки могут быть выявлены тогда, когда

изменения еще не проявляются на цитологическом и гистологическом уровнях.

Сущность метода флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) заключается в использовании гибридизации *in situ* исследуемых клеток со специфическими хромосомными зондами, позволяющими визуально (под флюоресцентным микроскопом) регистрировать патологические клетки.

Применение данных методов представляется особенно важным при обследовании такой категории пациентов, как ликвидаторы последствий аварии. Эти лица подверглись облучению в диапазоне малых доз, последствия которого для состояния здоровья до настоящего времени окончательно не ясны.

Недавними исследованиями было показано, что числовые хромосомные аномалии вовлечены в паратиреоидный туморогенез. При исследовании методом интерфазной FISH образцов тканей на парафиновых срезах паратиреоидных аденом и карцином обнаружено, что если в нормальной паратиреоидной ткани хромосомные нарушения отсутствуют, то при патологии щитовидной железы выявляются цитогенетические нарушения в виде гипо- и гиперплоидий, главным образом – по 11 хромосоме. При этом повышенная частота повреждения 11 хромосомы ассоциировалась с более агрессивным течением паратиреоидных неопластических процессов.

В настоящее время в молекулярно-генетических исследованиях используется разновидность ПЦР - ОТПЦР (обратно-транскриптазная полимеразная цепная реакция), столь чувствительная, что позволяет выявить фрагменты нуклеиновой кислоты в порции крови пациента, содержащей миллион аналогичного размера прочих участков нуклеиновых кислот. Первые успехи в использовании методов на основе ОТПЦР в процессе предоперационной диагностики РЩЖ в целом обнадеживают, хотя чувствительность и прогностическая ценность этих методов во многих случаях оказались не выше, чем традиционных, применяемых в тиреологии. Определенные преимущества методов ОТПЦР в настоящее время нивелируются высокими материальными затратами.

Понятно, что необходимы дальнейшие исследования, направленные на разработку молекулярно-генетических методов диагностики заболеваний щитовидной железы, оценки их эффективности в сравнении с традиционными методами.

В настоящее время наиболее адекватной принято считать рекомендацию одновременного иммуногистохимического определения GAL-3, ФН-1, НВМЕ1.

GAL-3 – маркер РЩЖ при условии исключения тиреоидита Хашимото, ФН-1 (фибронектин) – маркер тиреоидной карциномы, НВМЕ1- моноклональные антитела направленные к поверхностным белкам злокачественных эпителиальных клеток мезотелиомы. Экспрессия

поверхностного протеина мезотелиоцитов выявлена при папиллярном и фолликулярном раке щитовидной железы в отличие от нормальных тиреоцитов. Указанные маркеры помогают в диагностике опухолей фолликулярного эпителия щитовидной железы.

Аутоиммунный тиреоидит

Развитие аутоиммунных заболеваний является следствием утраты организмом толерантности – неспособности иммунной системы отвечать на антигены собственных тканей иммунологическими реакциями по клеточному и/или гуморальному типу. Аутоиммунный процесс, как и иммунный ответ на экзоантигены является специфическим, т.е. протекает с образованием специфических клеточных (цитотоксических лимфоцитов CD8+; натуральных киллеров, осуществляющих антителозависимую цитотоксичность, CD16+) и гуморальных эффекторов (аутоантител).

В настоящее время процент аутоиммунных заболеваний органов эндокринной системы достаточно высок. К ним относятся инсулинозависимый сахарный диабет I типа, болезнь Аддисона, аутоиммунные заболевания щитовидной железы, а именно диффузный токсический зоб (ДТЗ), болезнь Хашимото, атрофический аутоиммунный тиреоидит, а также полигландулярные синдромы I и II типа.

По мнению многих авторов, аутоиммунный тиреоидит (АИТ) относится к самым частым заболеваниям ЩЖ, наблюдается у 20-40 % взрослого населения с тиреоидной патологией и является основной причиной первичного гипотиреоза. Проблема развития тиреоидной аутоиммунной патологии приобрела особую актуальность после Чернобыльской катастрофы. Известно, что в результате аварии на ЧАЭС в атмосферу было выброшено большое количество радиоактивных изотопов йода, который помимо воздействия на структуру и функцию ЩЖ оказал выраженное действие на иммунную систему. На долю разнообразных короткоживущих изотопов йода пришлось около 20 % суммарной активности. Среди названных радиоактивных изотопов йода наиболее полно учтен вклад ^{131}I , который сформировал «йодный период» аварии, охвативший конец весны и лето 1986 г. В течение этого периода на загрязненных территориях циркулировал радиоактивный йод, поступал в организм людей и избирательно накапливался в ЩЖ.

По данным Государственного Регистра по Северо-Западу АИТ является распространенной нозологической формой среди заболеваний ЩЖ у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. Начиная с 1996 г. заболеваемость АИТ у этого контингента возросла примерно в четыре раза (рис.1.1.1.).

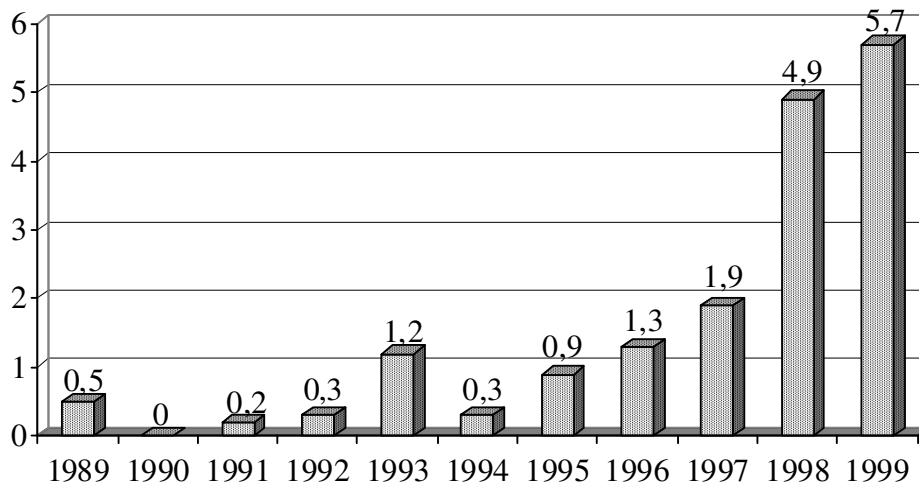


Рис. 1.1.1. Динамика заболеваемости аутоиммунным тиреоидитом среди ЛПА 1986-87 годов (на 1000 человек)

Отмечается, что АИТ мог развиваться как на фоне постлучевых изменений в тиреоидной ткани вследствие накопления радиоактивного йода в ЩЖ, так и в результате неадекватной и несвоевременной йодной профилактики.

В настоящее время частоту заболеваемости АИТ у ликвидаторов рассматривают как один из важнейших интегральных показателей, характеризующих вероятные последствия аварии на ЧАЭС. Особенность АИТ заключается в том, что заболевание развивается в течение ряда лет и характеризуется отсутствием клинической манифестации аутоиммунного процесса. Продолжительный дебют АИТ затрудняет своевременную клиничко-лабораторную диагностику заболевания, а также назначение патогенетического лечения.

Согласно современным представлениям, аутоиммунный ответ может протекать как адаптивный ответ иммунной системы на измененные под воздействием различных факторов собственные антигены или, наоборот, как следствие нарушений центральных и периферических механизмов становления иммунологической толерантности. Существует несколько гипотез, которые объясняют патогенез аутоиммунных заболеваний ЩЖ. В настоящее время невозможно дать предпочтение ни одной из них. Наличие ряда факторов при развитии этих заболеваний подтверждает то, что в их патогенезе задействованы различные механизмы аутоиммунного процесса. Противоречивость иммунопатогенетических механизмов АИТ затрудняет дифференциальную диагностику этой тиреоидной патологии.

Длительное течение и относительная «доброкачественность» АИТ дает возможность выбрать это заболевание в качестве модели для изучения механизмов аутоиммунной агрессии против ЩЖ и разработке алгоритма лабораторного обследования контингента лиц, подвергшихся воздействию комплекса факторов радиационной аварии.

Эпидемиологическое значение определения показателей тиреоидной системы у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС в отдаленный период после аварии

Изучение функции ЩЖ у ЛПА на ЧАЭС в отдаленные периоды после аварии (1993-2000 гг.) выявило у них довольно высокую частоту дисфункций и заболеваний щитовидной железы, обнаруживаемых при проведении гормонального скрининга, несмотря на то, что средние показатели содержания гормонов в периферической крови пациентов существенно не отличались от нормы (табл.1.1.1).

Таблица 1.1.1

Содержание тиреоидных гормонов и ТТГ в сыворотке крови ЛПА в отдаленные периоды после аварии на ЧАЭС

Период обследования (годы)	Количество обследованных	T ₃ , нмоль/л (1,2-3,1)	T ₄ , нмоль/л (53-158)	ТТГ, мМЕ/л (0,23-3,4)
1993–1994	270	1,43 ± 0,21	107,2 ± 12,7	1,65 ± 0,57
1995–1996	260	1,32 ± 0,03	103,2 ± 6,3	1,49 ± 0,13
1997–1998	83	1,71 ± 0,63	117,7 ± 13,3	1,43 ± 0,26
1999–2000	57	1,65 ± 0,44	110,0 ± 9,4	1,45 ± 0,31

Ведущим нарушением при этом являлся синдром «низкого T₃» который составил в 1993–1994 гг. – 20,6 %; в 1995–1996 гг. – 18,4 %; в 1997–1998 гг. – 7,2 % случаев. Мониторинг гормонального фона по уровню общего T₃ позволил считать, что имеется общая тенденция к его нормализации, вероятно, связанная с изменением периферической конверсии T₄ в T₃.

Вместе с тем, данные по частоте отклонений гормональных показателей от нормальных значений позволяют констатировать, что у обследованных ликвидаторов изменения носят устойчивый характер. Так, отклонения от референтных величин всех трех гормонов гипофизарно-тиреоидной системы ТТГ-T₃-T₄ у ЛПА даже через 12 лет после аварии были выявлены в 22,8 % случаев от общего количества обследованных.

Для обнаружения признаков аутоиммунной тиреоидной патологии, с учетом радиационного фактора и йодного дефицита, крайне важна разработка новых и усовершенствование существующих методов ранней диагностики и контроля эффективности лечения.

Нами получены и проанализированы результаты мониторингового обследования ЛПА по уровню тиреоидных аутоантител.

Показано, что частота выявления АтТГ в 1994 г. составила 5,7 %; АтМТ – 1,4 %. Наличие антитиреоидных антител сочеталось с высокой частотой латентного гипотиреоза и функциональных тиреоидных расстройств, что предполагало к развитию у ЛПА мелкоузловых зобов (эхографически верифицированная величина узла менее 1 см). В 1996 г. частота выявления антитиреоидных антител увеличилась и составила: АтТГ – 14 %; АтМТ – 2 %. На этот же период пришелся пик выявления мелконодозных зобов у ликвидаторов, уровень сывороточного ТГ превышал норму в два раза. Вместе с тем, распространенность серопозитивного АИТ не отличалась от среднепопуляционной. В 1998 г. АтТГ были обнаружены у 20,4 %; АтМТ – у 7,2 %. В 2000 г. частота выявления АтТГ не увеличилась и составила 12 %. Среди ликвидаторов с наличием АтТГ и/или АтМТ, АИТ верифицирован у 63 % пациентов, что свидетельствует как о высокой степени соответствия установленных на основании клинических и лабораторных данных диагнозов, так и диагностической значимости определения концентрации аутоиммунных антител.

В отдаленный период после аварии преобладает экспрессия АтТГ при отсутствии корреляционной связи с сывороточным ТГ.

Через 12-14 лет после участия в ликвидации аварии на ЧАЭС отмечено снижение частоты латентного гипотиреоза, функциональных тиреоидных расстройств до уровня, характерного для популяции. В то же время, на фоне доминирующего эутиреоза и отсутствия АтТГ и АтМТ суммарная частота клинически верифицированной гиперплазии ЩЖ составила 39,4 %. Преобладание гиперплазии ЩЖ на фоне отсутствия компенсаторной реакции со стороны гипофизарно-тиреоидной системы формирует определенную онконастороженность среди врачей по отношению к группе ликвидаторов.

Таким образом, определение «классических» тиреоидных антител при обследовании ЛПА является необходимым показателем диагностического лабораторного алгоритма верификации АИТ и позволяет формировать группы риска по тиреоидной патологии аутоиммунного генеза. Проведенное нами сопоставление результатов определения тиреоидных антител с данными ультразвукового исследования ЩЖ и тиреоидного

гормонального фона у ЛПА в динамике после аварии на ЧАЭС имеет не только диагностическое значение при верификации АИТ, но и позволяет прогнозировать изменение тенденции к узлообразованию (по уровню АтТГ) и снижению гормоногенеза (по уровню АтМТ) у обследуемых.

Таблица 1.1.2

Сочетание АИТ с другими соматическими заболеваниями у ЛПА в отдаленные сроки после аварии на ЧАЭС

Аутоиммунный тиреозидит	Ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, их сочетание;	53 %
	Дисциркуляторная энцефалопатия;	51 %
	Язвенная болезнь, гастродуоденит;	46 %
	Остеохондроз;	43 %
	Хронические неспецифические заболевания легких	25 %

Определение концентрации антител к антигенам ткани ЩЖ особенно важно проводить у пациентов с высокой частотой мелкоузловых зобов диаметром менее 1 см, к числу которых относится большинство из обследованных ликвидаторов, поскольку для такой категории пациентов нецелесообразно использовать ТАБ для оценки морфологической структуры ЩЖ и уточнения характера узловых образований, а также дифференциальной диагностики диффузных процессов, главным образом АИТ.

Индикация уровня АтТГ и АтМТ, а так же концентрации тиреоидных гормонов и ТТГ служит важным инструментом для лабораторного мониторинга, врачебного наблюдения и формирования групп риска по аутоиммунной патологии ЩЖ и необходимо как на первом этапе диагностики, динамическом наблюдении, так и при контроле за лечением соответствующих заболеваний у ЛПА.

Развивающиеся при АИТ иммунокомплексные реакции могут вызывать

ряд других заболеваний внутренних органов.

При изучении состояния здоровья 250 ликвидаторов 1986 г. с АИТ в отдаленные сроки после аварии было показано следующее сочетание болезней ЩЖ с другими соматическими заболеваниями (табл. 1.1.2).

Измерение гормональных показателей у ЛПА с аутоиммунным тиреоидитом в отдаленные сроки после аварии на ЧАЭС

Как отмечалось выше, наибольший процент заболеваемости АИТ среди ликвидаторов аварии на ЧАЭС пришелся на работавших в зоне четвертого энергоблока в 1986 г. (йодный период аварии). В течение всего периода времени после аварии на ЧАЭС пострадавшие ликвидаторы с АИТ находились под постоянным наблюдением эндокринолога и получали соответствующее медикаментозное лечение.

В 2000 г. (через 14 лет после аварии) нами были обследованы 23 ЛПА с АИТ, средний возраст пациентов составил $50 \pm 0,4$ года.

При УЗИ выявлены мелкоузловые образования (диаметром менее 1 см) у 5 ЛПА, гиперплазия ЩЖ - у 3ЛПА и эхографическая норма – у 15 ЛПА.

У двоих обследованных ЛПА были обнаружены антитела к тиреоглобулину в диагностически значимом титре (концентрация АтТГ >100 МЕ/мл), у одного из них – в сочетании с АтМТ (концентрация АтМТ >30 МЕ/мл).

Данные по исследованию уровня тиреоидных гормонов и ТТГ у ЛПА с аутоиммунным тиреоидитом в зависимости от результатов УЗИ представлены в табл. 1.1.3.

Исходя из данных таблицы, можно считать, что при мелкоузловых образованиях ЩЖ у мужчин-ликвидаторов с АИТ характерным является повышение уровня ТГ и снижение уровня ТТГ.

У ЛПА с эхографически верифицированным диффузным увеличением ЩЖ (зоб I, II степени) выявлен достоверно более низкий уровень общего и свободного тироксина в периферической крови по сравнению с другими группами обследованных ЛПА. При этом сывороточный уровень ТГ был достоверно ниже, чем в группе ЛПА с мелкими нодозными образованиями.

При проведении лабораторного исследования среди мужчин-ликвидаторов 1986 г. с установленным диагнозом АИТ наблюдается эутиреоидное состояние, антитела к антигенам ткани ЩЖ практически не циркулируют в периферической крови.

Таблица 1.1.3

Средние величины концентраций гормонов ЩЖ и тиреоглобулина у ЛПА 1986 г. с эхографическим увеличением щитовидной железы и мелкоузловыми образованиями, обследованных в 2000 г.

Группы ЛПА	Гормон, ед.изм.			
	Т ₃ , нмоль/л (FT ₃ ,пмоль/л)	Т ₄ , нмоль/л (FT ₄ ,пмоль/л)	ТТГ, мМЕ/л	ТГ, нг/мл
Увеличение ЩЖ (n = 3)	1,52 ± 0,09 (7,14 ± 0,09)	82,5 ± 3,4 (10,17 ± 0,11)*	0,87 ± 0,05	11,3 ± 0,05
Мелкоузловые образования (n = 5)	1,54 ± 0,11 (7,56 ± 0,07)	102,5 ± 5,2 (16,5 ± 0,13)	0,72 ± 0,03**	58,4 ± 5,1*
Эхографическая норма (n = 15)	1,53 ± 0,09 (7,06 ± 0,13)	98,7 ± 3,4 (17,04 ± 0,16)	1,41 ± 0,07	16,67 ± 0,10

*- различия между группами достоверны при $p < 0,05$;

** - различия с эхографической нормой достоверны при $p < 0,05$

Таким образом, можно заключить, что при наличии клинических данных, обнаружение АтТГ и/или АтМТ свидетельствует об аутоиммунном тиреоидите. При верифицированном диагнозе, уровень антител к тиреоглобулину или микросомальной фракции тиреоцитов используют для мониторинга за лечением заболевания.

Оценка функционального состояния щитовидной железы у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС через 20 лет после катастрофы

Необходимость исследования функции ЩЖ и ее морфологии у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС не вызывает сомнений с научной и практической точки зрения, так как окончательная оценка (с учетом длительного проспективного наблюдения) повреждающих воздействий ионизирующего излучения на щитовидную железу еще не дана. До настоящего времени необходим соответствующий мониторинг для этой категории лиц с использованием новых методов обследования.

С этой целью была проведена клинико-лабораторная оценка функционального и морфологического состояния щитовидной железы у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС с различными заболеваниями этого органа; цитологические, морфометрические, молекулярно-генетические исследования маркеров опухолевого процесса у больных с узловыми образованиями щитовидной железы; оценка влияния комплексного лечения больных с патологией щитовидной железы

препаратами тироксина, йодомарина, а также коррекция нарушений микроэлементного состава крови.

Протокол исследования:

- клинический анализ крови, мочи;
- биохимический анализ крови (холестерин, глюкоза);
- ЭКГ;
- ТТГ, fT4, АТТГ, антитела к ТПО, ТГ, антитела к рТТГ гормона;
- анализ крови на содержание микроэлементов;
- УЗИ щитовидной железы;
- пункционная биопсия ЩЖ у больных с узловыми образованиями;
- цитологическое, морфометрическое и молекулярно-генетическое исследование полученного материала.

На основании проведенного клинического обследования группы ликвидаторов была установлена следующая структура заболеваний щитовидной железы:

- узловой нетоксический зоб – 16 случаев;
- диффузный нетоксический зоб – 11;
- аутоиммунный тиреоидит – 2;
- гипотиреоз- 1.

Двое из обследованных ранее были оперированы: один – по поводу узлового нетоксического зоба (произведена гемитиреоидэктомия). На момент обследования диагностирован рецидив узлового зоба.

Еще один пациент оперирован ранее по поводу диффузного токсического зоба. Произведена субтотальная резекция щитовидной железы. На момент обследования диагностированы узлы культи железы, эутиреоидное состояние.

Результаты клинико-лабораторного обследования ЛПА через 20 лет после катастрофы представлены в (табл.1.1.4)

Как следует из представленных выше данных, средние значения исследованных параметров были в пределах нормы.

Уровень антитиреоидных антител у 27 пациентов не превышал значений 20 и 10 МЕ/мл, соответственно, для антител к тиреоглобулину и к тиреопероксидазе. У троих ЛПА он был повышенным: у двух пациентов с аутоиммунным тиреоидитом и у одного с узловым зобом. Последний ранее был оперирован по поводу диффузного токсического зоба.

Уровень антител к рецептору ТТГ у всех обследованных был в пределах нормы.

На следующем этапе были проанализированы данные у больных с узловым зобом и диффузным нетоксическим зобом (табл.1.1.5).

Анализ представленных данных свидетельствует о том, что достоверных различий в уровнях ТТГ, свободных Т3 и Т4 в группе больных с диффузным нетоксическим и узловым зобом нет. В то же время

выявлены достоверные различия в уровне тиреоглобулина, содержание которого у больных с узловым зобом превышает в два с лишним раза по отношению к аналогичному показателю у больных с диффузным нетоксическим зобом, но средние показатели ТГ не выходят за пределы нормы. Объем щитовидной железы также больше у больных с узловым нетоксическим зобом.

Таблица 1.1.4

Показатели уровня тиреоидных гормонов, тиреоглобулина и объема щитовидной железы в группе обследованных ЛПА (n = 30) (M ± m)

ТТГ (мМЕ/л)	fT ₄ (пмоль/л)	fT ₃ (пмоль/л)	Тиреоглобулин (нг/мл)	Объем ЩЖ (мл)
1,26 ± 0,15	16,4 ± 0,53	5,19 ± 0,11	31,42 ± 5,93	20,2 ± 2,2

Таблица 1.1.5

Показатели уровня тиреоидных гормонов, тиреоглобулина и объема щитовидной железы у больных с диффузным нетоксическим зобом (ДНЗ) и узловым нетоксическим зобом (УНЗ) (M ± m)

Нозология	ТТГ (мМЕ/л)	fT ₄ (пмоль/л)	fT ₃ (пмоль/л)	ТГ (нг/мл)	Объем ЩЖ (мл)
ДНЗ (n = 11)	1,42 ± 0,31	16,5 ± 1,18	5,06 ± 0,21	16,7 ± 6,28	15,3 ± 1,5
УНЗ (n = 16)	1,01 ± 0,11	16,06 ± 0,59	5,27 ± 0,14	38,7 ± 8,7	23,2 ± 3,3

Индивидуальный анализ показателей тиреоглобулина у больных с узловым зобом позволил выделить группу больных, у которых его значения превысили нормальные показатели. В таблице 1.1.6 приведены данные по группе больных с узловым нетоксическим зобом с нормальными показателями тиреоглобулина и со значительным его превышением.

Полученные данные свидетельствуют о том, что достоверных различий в уровне тиреоидных гормонов (за исключением тенденции к снижению уровня ТТГ) в группе больных с повышенным уровнем тиреоглобулина не выявлено.

Таблица 1.1.6

Показатели уровня тиреоидных гормонов и объема щитовидной железы у ЛПА с узловым нетоксическим зобом с нормальным и повышенным уровнем тиреоглобулина ($M \pm m$)

ТГ (референтный диапазон 0-50 нг/мл)	ТТГ (мМЕ/л)	fT ₄ (пмоль/л)	fT ₃ (пмоль/л)	Объем ЩЖ (мл)
85,7 ± 15,3 (n = 7)	0,88 ± 0,17	16,7 ± 1,3	5,1 ± 0,2	37,8 ± 7,74
32,4 ± 7,8 (n = 4)	1,01 ± 0,11	16,06 ± 0,59	5,27 ± 0,14	23,2 ± 3,3

Повышенный уровень тиреоглобулина в этой группе обследованных сопровождался значительным увеличением объема железы – до 37,8 мл. Другой особенностью явилось то, что именно в группе больных с высоким уровнем тиреоглобулина и увеличенным объемом щитовидной железы преобладал зоб с множеством узлов (от 3 до 9).

Полученные результаты обследования дают основание полагать, что между выявленными данными имеется взаимосвязь, характер которой требует уточнения.

В настоящем исследовании изучены уровни жизненно-важных микроэлементов в крови ЛПА.

Состояние йоддефицита выявлено у 70 % обследованных ЛПА. Йоддефицит у больных с узловыми формами зоба установлен у 11 человек (69 %), и у 6 больных с диффузным нетоксическим зобом (54 %).

Уровень селена снижен у 70 % ЛПА. Каких-либо корреляций с уровнем тиреоидных гормонов, тиреоглобулином и объемом щитовидной железы во всех группах больных в зависимости от содержания йода и селена в крови не выявлено.

У значительного числа обследованных ЛПА выявлено снижение уровня кальция в крови, цинка, магния; превышение содержания свинца, алюминия.

Анализ этих данных свидетельствует о том, что превышение концентрации в крови солей тяжелых металлов у обследованных, в основном, связано с последующей после аварии производственной деятельностью, табакокурением.

9 пациентам была произведена тонкоигольная пункционная биопсия. По результатам цитологического заключения во всех препаратах выявлен коллоидный зоб, что является доброкачественным образованием.

Показанием к хирургическому лечению при подобных цитологических заключениях нет. 7 пациентам пункция не выполнена в связи с небольшими размерами узлов (0,7-0,5 см).

7 образцов, содержащих клеточный материал, полученный при тонкоигольной пункционной биопсии щитовидной железы были подвергнуты молекулярно-генетическому исследованию с использованием центромерной пробы к хромосоме 11 (FISH диагностика).

FISH диагностика - это метод молекулярной цитогенетики, который позволяет проводить диагностику злокачественных новообразований различной локализации. Так как в основе процесса малигнизации лежат генетические нарушения, регистрация первичных генетических изменений представляет собой способ самой ранней диагностики онкологических заболеваний и предраковых состояний. Методами молекулярной цитогенетики патологические клетки могут быть выявлены тогда, когда изменения еще не проявляются на цитологическом и гистологическом уровнях.

Применение данных методов представляется особенно важным при обследовании такой категории пациентов, как ЛПА. Эти лица подверглись облучению в диапазоне малых доз, последствия которого для состояния здоровья до настоящего времени окончательно не ясны.

Результаты исследования:

1. Б-ой П. – 50 клеток нет патологии FISH
2. Б-ой Е. – не менее 50 клеток – нет патологии FISH
3. Б-ной Ф. – 12 клеток с моносомией (9,76 % моносомий) и 111 нормальных клеток.
4. Б-ой Т. – 9 клеток с моносомией (2,7 %), 3 клетки с трисомией (0,9 %), 7 клеток с тетрасомией (2,1 %), 305 – нормальных
5. Б-ой З.- 1 клетка с тетрасомией (2,44 %), 3 клетки – трисомия (0,44 %), 9 клеток тетрасомия (1,97 %), 435 нормальных клеток
6. Б-ой Г. – 1- клеток моносомия (2,19 %), 4 клетки моносомия, 15 клеток нормальных
7. Б-ая Б. – 1 клетка трисомия, 4 клетки моносомия, 15 клеток – норма % аномалий не вычисляли из-за недостаточного числа клеток.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости динамического наблюдения за обследованными больными, у которых по данным цитологического исследования выявлен коллоидный зоб, а по данным молекулярно-генетических исследований выявлены хромосомные нарушения.

Лечение.

1. В связи с выявленными нарушениями по показаниям была назначена терапия- L-тироксином с целью нормализации функции щитовидной железы.
2. По результатам микроэлементного анализа крови каждому больному были даны соответствующие диетические рекомендации.
 - Больным с йоддефицитом назначен йодомарин в дозе 50-100 мкг в сутки.
 - Больным с выявленным дефицитом кальция, цинка, магния, меди был назначен кальцецин адванс;
 - Пациентам с избыточным содержанием солей тяжелых металлов был назначен натальгин.
3. В связи с полученными данными цитогенетического исследования пациенты с хромосомными нарушениями в щитовидной железе были консультированы хирургом-эндокринологом для решения вопроса о хирургическом лечении.

Адекватная оценка результатов проведенного лечения в настоящее время может касаться только уровня тиреоидных гормонов и ТТГ, метаболизм которых удастся наладить в течение 1-3 месяцев с момента назначения тиреоидных гормонов, йодомарина.

Что же касается выявленных нарушений микроэлементного анализа, то требуется более длительный период времени для оценки результатов его коррекции.

Анализ полученных первых результатов молекулярно-генетических исследований в клетках щитовидной железы требует дальнейшего осмысления, сравнения с гистологическими заключениями, полученными после оперативного вмешательства.

Показатели иммунитета у ЛПА на ЧАЭС с аутоиммунным тиреоидитом

У ликвидаторов с диагнозом аутоиммунный тиреоидит через 14 лет после аварии на ЧАЭС количество лейкоцитов периферической крови соответствовало норме ($5675,0 \pm 1108,0$), отсутствовали относительная и абсолютная лимфопения, так количество лимфоцитов составило $32,5 \pm 8,4$ % или в абсолютных значениях 1789 ± 346 в 1 мкл. Относительное количество зрелых Т-лимфоцитов и их фенотипических вариантов (Т-хелперов и специфических цитотоксических лимфоцитов) также не выходило за пределы нормативных значений, но прослеживалась тенденция к снижению этих показателей. Зрелые Т-лимфоциты (CD3+) составили $54,5 \pm 5,2$ %, Т-хелперы (CD4+) – $30,8 \pm 3,5$ %, Т-киллеры (CD8+) – $24,6 \pm 2,92$ %, в абсолютных значениях соответственно 1030 ± 350 , 596 ± 258 и 469 ± 202 . Иммунорегуляторный индекс равнялся $1,2 \pm$

0,3. Популяция В-клеток (CD20+) составила $17,6 \pm 3,15$ % или в абсолютных значениях 331 ± 150 в 1 мкл. Естественные киллеры (CD16+), осуществляющие неспецифическую цитотоксическую функцию, составили $18,25 \pm 1,9$ % или 348 ± 145 в 1 мкл. В периферической крови не были выявлены лимфоциты, характеризующиеся наличием или отсутствием двойных дифференцировочных антигенов (CD3+CD4+CD8+), (CD3+CD4-CD8-), к популяции которых, по данным литературы, относятся аутореактивные клоны Т-лимфоцитов, несущие специфический рецептор TCR к антигенам собственных тканей и наличие которых в периферической крови свидетельствует о нарушении дифференцировки Т-лимфоцитов, то есть срыве центрального механизма иммунологической толерантности при клональной селекции в тимусе. Количество лимфоцитов периферической крови, экспрессирующих низкоаффинный рецептор к интерлейкину-2 (ИЛ-2) – ростовому фактору, необходимому для пролиферации специфических клонов Т- и В-лимфоцитов, составило $20,9 \pm 4,35$ % или 390 ± 166 в 1 мкл, характеризовалось тенденцией к увеличению этой субпопуляции лимфоцитов. Количество лимфоцитов, экспрессирующих маркер активации – общий эпитоп антигенов HLA II класса, участвующих в представлении экзо- и эндоантигенов, составило $22,0 \pm 2,3$ % (431 ± 176 в абсолютных значениях) и значительно не превышало количество В-лимфоцитов крови, что косвенно свидетельствует об отсутствии на момент обследования активации иммунного ответа. Количество лимфоцитов, экспрессирующих маркер готовности к апоптозу CD95+ составило $27,72 \pm 3,92$ % или 422 ± 235 в 1мкл.

В обследованной группе пациентов не наблюдалось увеличения спонтанной продукции и повышенного содержания в сыворотке ИЛ-1 β , однако имело место увеличение спонтанной продукции антагониста рецептора интерлейкина-1 α , - β . Индуцированная продукция ростового фактора интерлейкина-2, продуцируемого Т-хелперами 1 типа, равнялась $10,17 \pm 5,02$ пг/мл и была ниже средних значений этого показателя в здоровой популяции ($27,7 \pm 6,4$). В исследуемой группе пациентов наблюдалась высокая спонтанная продукция интерферона γ ($181,4 \pm 87,5$). Интерферон-гамма, основными продуцентами которого являются Т-хелперы 1 типа и натуральные киллеры, способен усиливать экспрессию антигенов HLA и пептидотранспортных белков, необходимых для представления антигена, то есть способствует наиболее эффективному представлению антигена Т-лимфоцитам, несущим специфический TCR к аутоантигенам. У ЛПА с АИТ имела место высокая спонтанная продукция интерлейкина-6, гиперпродукция которого, по данным литературы, рассматривается как периферический механизм восстановления

иммунологической толерантности, обуславливающий феномен «конечной дифференцировки» - уменьшение аутореактивного клона В-лимфоцитов путем ускорения процесса дифференцировки их в плазматические клетки, и как следствие – снижение синтеза аутоантител. У ЛПА с АИТ через 14 лет после аварии сохраняется высокое содержание в сыворотке провоспалительного цитокина ФНО- α .

Выявленные изменения в иммунной системе можно рассматривать как неустойчивое равновесие факторов, поддерживающих аутоиммунный процесс (высокий уровень спонтанной продукции интерферона γ , высокое содержание в сыворотке ФНО- α) и факторов, направленных на восстановление иммунологической толерантности (высокий уровень спонтанной продукции ИЛ-6, ИЛ-1 α , β - рецепторного антагониста, низкая индуцированная продукция ИЛ-2).

Алгоритм исследования иммунологических показателей у ЛПА с АИТ должен включать следующие основные методы:

1. Определение субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с исследованием
 - активированных Т-лимфоцитов (CD3+ HLAII+),
 - активированных В-лимфоцитов (CD20+ HLAII+),
 - аутореактивных клонов Т-лимфоцитов (CD3+ CD8+ CD4+ или CD3+ CD8- CD4-) и В-лимфоцитов (CD20+ CD5+).
2. Определение спонтанной и индуцированной продукции и содержания в сыворотке ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α , интерферона- γ , антагониста рецептора ИЛ-1 α , β .

Из дополнительных методов целесообразно рекомендовать:

- Определение количества специфических клеток-эффекторов, несущих двойные маркеры (CD8+ CD95+ и CD8+ CD95L+),
- Определение количества неспецифических клеток-эффекторов (CD16+CD95+ и CD16+ CD95L+).

Заключение

Современные методы лабораторного анализа имеют важное значение для диагностики и оценки прогноза развития патологии щитовидной железы. Назначение и оценка результатов лабораторных исследований должна проводиться в строгом соответствии с предполагаемым диагнозом и данными тщательного клинического обследования больных. Комплексное исследование с применением гормональных, иммунологических и молекулярно-генетических исследований будет способствовать раннему выявлению рака щитовидной железы у пострадавших при ликвидации последствий аварии на ЧАЭС.

1.2. АЛГОРИТМЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИ СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ У ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧАЭС

Среди медицинских проблем, связанных с пострадавшими при ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС (ЧАЭС) диагностика, лечение и профилактика сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний занимает центральное место. Эпидемиологические исследования свидетельствуют о лидирующей роли патологии сердечно-сосудистой системы у ЛПА на ЧАЭС, которая была диагностирована за период с 1986 по 1997гг. у 58,1 % обследованных. В последние годы наблюдается постепенный рост числа лиц с хронической патологией сосудов и нарастание ИБС. Кроме того, заболевания сердечно-сосудистой системы (ССС) являются одной из основных причин смерти ЛПА. Патогенез сосудистых заболеваний у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС, подвергшихся воздействию малых доз радиации, остается спорным, что затрудняет выделение наиболее значимых диагностических критериев, которые позволили бы следить за динамикой процесса, проводить патогенетическую терапию и оценивать эффективность лечения. То, что ионизирующее излучение оказывает воздействие на состояние сосудов, у большинства исследователей не вызывает сомнений, однако, характер этого воздействия до сих пор является предметом дискуссии. Некоторые авторы пишут о повреждающем действии радиации на кровеносные сосуды, что приводит к развитию гипертонической болезни (ГБ) и ишемической болезни сердца (ИБС). Сообщается о раннем развитии атеросклероза сонных артерий и большой частоте ГБ и ИБС среди ликвидаторов. Доминирующей сопутствующей патологией при заболеваниях ССС у ЛПА является дисциркуляторная энцефалопатия (ДЭ), что дает основание предполагать общие механизмы развития патологии сосудов, как головного мозга, так и сердца. Предполагается, что важную роль в развитии сосудистой патологии играют малые дозы радиации. Многолетние исследования, проводимые во ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России, выявили у ликвидаторов последствий аварии специфические молекулярные механизмы воздействия малых доз радиации на эндотелий сосудов, который реализуются в его активации и повреждении и возникновении дисфункции эндотелия, а значит и в развитии сосудистой патологии. В то же время, недостаточно данных, позволяющих однозначно связать варианты сосудистой патологии с маркерами эндотелиальной дисфункции и повреждения эндотелия. Решение этой проблемы, которая является недостаточно разработанной как в нашей стране, так и за рубежом, позволит обосновать мероприятия по профилактике сосудистых заболеваний у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС.

В связи с тем, что нарушения коронарного и мозгового кровообращения развиваются либо на фоне атеросклеротического и гипертонического повреждения сосудов, либо вследствие изменения сосудистого тонуса выявление механизмов сосудистой патологии основывается на исследовании тех параметров обмена веществ, которые лежат в основе развития атеросклероза, нарушения проницаемости и интактности сосудистого эндотелия, регуляции тонуса сосудов. В связи с этим у ЛПА с сосудистой патологией – ишемической болезнью сердца (ИБС) и хроническими нарушениями мозгового кровообращения (ХНМК) были исследованы параметры системы гемостаза, фибринолиза, липидного обмена, обмена гомоцистеина, процессов свободнорадикального окисления, реакций воспаления, состояния эндотелия.

Оценка дислипидемии как фактора риска сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний у ЛПА

Одним из основных факторов развития патологии сосудов, бесспорно, считается атеросклероз, к формированию которого приводят нарушения липидного обмена. Диагностическая значимость показателей липидного обмена и определение их атерогенности, в основном, исследуются при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. В многочисленных эпидемиологических исследованиях убедительно была показана связь между уровнем холестерина в плазме крови и развитием ИБС. При цереброваскулярных заболеваниях таких исследований значительно меньше, однако, они также демонстрируют этиологическую роль атеросклероза и дислипидемий при сосудистых заболеваниях головного мозга. По современным представлениям оценка атерогенности не ограничивается определением общего холестерина, а включает определение содержания холестерина различных классов липопротеидов, триглицеридов, апобелков липопротеидов, окисленных форм липопротеидов, а также маркеров воспалительного процесса. Это связано с установленным самостоятельным значением этих параметров, как факторов риска развития атеросклероза. Риск атерогенности возрастает при низких уровнях липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), гипертриглицеридемии, увеличении содержания липопротеида (а)-ЛП(а). Особая роль в увеличении риска атеросклероза принадлежит окисленным липопротеидам-ЛП, которые подвергаются атаке свободными радикалами (Климов А.Н., Никольчева Н.Г., 1999; Робинс С.Дж., 2001).

С целью выяснения роли нарушений липидного обмена у ЛПА в развитии сосудистых заболеваний нами были исследованы следующие параметры липидного обмена: общий холестерин, холестерин липопротеидов высокой (ЛПВП), низкой (ЛПНП) и очень низкой плотности (ЛПОНП), триглицериды (ТГ), коэффициент атерогенности

(КА) , апобелок А (апоА) и апобелок В (апоВ). Все показатели были определены в сыворотке крови ЛПА с диагнозами ИБС – 53 человека и дисциркуляторная энцефалопатия (ДЭ) – 60 человек после 12-часового голодания на биохимическом анализаторе «Synchron CX9 PRO»

Характер изменений липидного обмена был аналогичным для обеих обследованных групп. В целом можно говорить об умеренно выраженных атерогенных сдвигах. У 68 % ЛПА была выявлена дислипидемия. Содержание холестерина, холестерина ЛПВП, ЛПНП и ЛПОНП, триглицеридов в среднем в обеих группах оставалось в пределах нормы. Распределение значений при этом показало, что у 40,5 % ЛПА содержание холестерина превышало верхнюю границу нормы, но только у 10,1 % этот показатель превышал 7,0 ммоль/л. Уровень холестерина ЛПВП был снижен у 29,8 % ЛПА. У половины пациентов обеих групп коэффициент атерогенности был выше 3,6, у остальных в пределах нормальных значений или повышен незначительно. Заметными оказались изменения в содержании и соотношении апобелков липопротеидов. Если в обеих группах уровень апоА, белка ЛПВП, был у всех обследованных в пределах нормальных величин, то апоВ, белок ЛПНП и ЛПОНП, уровень которого рассматривается как самостоятельный фактор риска атеросклероза, имел повышенные значения у 68 % больных в группе ЛПА. Вследствие этого отношение апоА к апоВ у большинства пациентов обеих групп было ниже 1,5. Содержание апоВ не во всех случаях сопровождалось достоверным увеличением содержания в сыворотке ЛПА ЛПНП и ЛПОНП – основных апоВ содержащих липопротеидов. Возможно, что увеличение уровня данного показателя обусловлено липопротеидами промежуточной плотности, ремнантами ЛПОНП или патологическими формами липопротеидов, образование которых формирует дополнительные пути развития атеросклероза сосудов. Достоверных различий между группами по показателям, характеризующим липидный обмен, выявлено не было.

Анализ данных исследования в группе ЛПА с ИБС в зависимости от наличия диастолической дисфункции показал, что липидный обмен у пациентов с диастолической дисфункцией характеризуется более выраженными атерогенными сдвигами, что также, как и в целом по группам выражалось в более высоком уровне апоВ и снижении отношения апоА/апоВ. Развитие у ЛПА с ИБС хронической сердечной недостаточности также сопровождалось существенным снижением отношения апоА/апоВ до $1,17 \pm 0,07$, в то время как у пациентов без признаков сердечной недостаточности он был $1,51 \pm 0,17$ ($p < 0,05$).

Аналогичные результаты были получены при анализе данных в зависимости от степени ДЭ (табл. 1.2.1). Оказалось, что группа со 2-й степенью ДЭ характеризуется выраженными атерогенными сдвигами по сравнению с группой без ДЭ. Соответственно, группа с 1-й степенью ДЭ

занимает промежуточное положение по степени развития атерогенных сдвигов. Следует отметить низкую информативность содержания общего холестерина, триглицеридов и холестерина ЛПОНП. Холестерин ЛПНП повышен достоверно только в группе с ДЭ 2-й степени, но это повышение не сильно отличается от нормы. В то же время, наиболее существенные различия обнаружены в содержании апоБелков А и В и их соотношении, которое значительно ниже нормы и значений в других группах у пациентов с ДЭ 2-й степени. Данный факт свидетельствует о роли других апоВ содержащих липопротеидов в генезе ДЭ.

Таблица 1.2.1

Параметры липидного обмена в зависимости от степени дисциркуляторной энцефалопатии

Показатели	Степень ДЭ			Достоверность различий между показателями (P)		
	0	1	2	0-1	0-2	1-2
Холестерин	5,47	5,48	6,10	0,97	0,19	0,06*
Триглицериды	1,47	1,67	1,88	0,61	0,32	0,53
Холестерин ЛПВП	1,35	1,32	1,1	0,84	0,1	0,11
Холестерин ЛПНП	3,45	3,40	4,13	0,88	0,11	0,02*
Холестерин ЛПОНП	0,68	0,77	0,87	0,61	0,32	0,53
Коэффициент атерогенности	3,22	3,57	4,98	0,51	0,02*	0,02*
АпоБелок А	1,69	1,84	1,57	0,16	0,48	0,02*
АпоБелок В	1,16	1,35	1,55	0,13	0,048*	0,09
АпоА/апоВ	1,60	1,48	1,06	0,48	0,01*	0,001*

Примечание: единицы измерения для триглицеридов и холестерина – ммоль/л, для апоБелков – г/л.

В заключение можно отметить, что изменения липидного обмена у ЛПА с сосудистой патологией не носят явно патологического характера, хотя более, чем у половины из них определяются те или иные изменения, которые могут быть интерпретированы как атерогенные. Важным выводом данного раздела является зависимость атерогенных сдвигов от клинических признаков заболевания, то есть чем глубже патологический процесс, тем более выражены изменения показателей липидного обмена. Характерной чертой именно ЛПА являются существенные изменения в составе апоБелков липопротеидов, увеличение апоБелка В, составляющего структуру наиболее атерогенных липопротеидов, и снижение отношения апоА/апоВ, которое рассматривается как самостоятельный и серьезный

маркер риска развития атеросклероза сосудов. Существенным представляется и то, что нарушения липидного обмена носят однотипный характер как в группе с сердечно-сосудистой, так и с цереброваскулярной патологией.

Диагностика нарушений плазменного и тромбоцитарного гемостаза при сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваниях у ЛПА

Наряду с нарушением липидного обмена в атеросклеротическом поражении сосудов большую роль играют расстройства системы гемостаза, которые могут иметь и самостоятельное значение для развития сосудистой патологии как факторы, способствующие уменьшению кровотока вследствие увеличения вязкости крови и образования тромбов.

Также, как и параметры липидного обмена, показатели гемостаза не различались у пациентов с ИБС и ДЭ.

Не было выявлено изменений параметров плазменного гемостаза у ЛПА. Среди параметров противосвертывающей системы у ЛПА также не было отмечено достоверных изменений по сравнению с нормой. Однако 30 % ЛПА имели низкие значения антитромбина III, а 25 % - низкие значения протеина С, важного компонента противосвертывающей системы, и более высокое содержание фибриногена, что в совокупности может стать условием повышенного тромбообразования и снижения тромборезистентности у каждого третьего ЛПА с сосудистой патологией. Параметры тромбоцитарного гемостаза в среднем также резко не отличались от нормы. Анализ распределения значений показал, что более 50 % ЛПА имели те или иные нарушения агрегации тромбоцитов. Чаще всего регистрировалась повышенная спонтанная агрегация тромбоцитов, что указывает на наличие в кровотоке активных тромбоцитов, способных к тромбообразованию. У 43 % пациентов отмечалась повышенная агрегация на низкие концентрации индукторов агрегации, и более чем у 60 % повышенная агрегация на коллаген, что косвенно указывает на повреждение сосудистого эндотелия.

Аналогично выявленным изменениям липидного обмена, сдвиги в системе гемостаза были однотипны для всех пациентов с сосудистой патологией независимо от ее локализации.

Параметры окислительного стресса при патологии сосудов у ЛПА

Активация процессов свободнорадикального окисления (СРО) у ЛПА приводит к повышенной окислительной деструкции макромолекул и клеточных структур, что усугубляет атерогенные и гемостазиологические сдвиги при сосудистой патологии. Кроме того, свободные радикалы

непосредственно участвуют в регуляции сосудистого тонуса и повреждении сосудистого эндотелия.

В связи с этими данными в комплекс нашего исследования был включен раздел по оценке состояния окислительного стресса у ЛПА с различной сосудистой патологией. Материалом для исследования служили сыворотка крови, эритроциты, тромбоциты и лейкоциты периферической крови. В сыворотке крови определяли содержание продуктов перекисного окисления липидов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП), базальный уровень и уровень после активации двухвалентным железом (Гаврилов В.Б. и др., 1987). Содержание ТБК-АП определяли в тромбоцитах выделенных из периферической крови на фиколл-верографиновом градиенте. В нейтрофилах и мононуклеарах периферической крови, выделенных на фиколл-верографиновом градиенте, определяли уровень генерации активных форм кислорода (АФК) – перекиси водорода и супероксид-анион радикала (Pick A., Keisari Y, 1981). Содержание в эритроцитах восстановленного и окисленного глутатиона определяли методом (Lee Kum-Tatt, Tan It-Koon, 1974), активность каталазы методом (Aebi H., 1984) и супероксиддисмутазы методом (Fried R., 1975).

У всех обследованных пациентов, независимо от вида сосудистой патологии, было выявлено повышенное содержание продуктов ПОЛ (ТБК-АП) в сыворотке крови и тромбоцитах, а также выраженный дефицит восстановленного глутатиона (таблица 1.2.2)

Группа ЛПА существенно отличалась от группы здоровых лиц по уровню продукции активных форм кислорода (АФК) – супероксид-анион радикала и перекиси водорода – нейтрофилами и мононуклеарами периферической крови. При этом группа ЛПА с ИБС отличалась более высоким уровнем генерации АФК лейкоцитами. Эти результаты согласуются с данными наших исследований полученных ранее, в которых показана достоверно большая активация лейкоцитов ЛПА, в большей мере мононуклеаров, по сравнению с пациентами контрольной группы, что в конечном счете обуславливает и большую степень окислительной деструкции белков и липидов клеточных структур. Это обстоятельство имеет очень большое значение в оценке степени развития атерогенных сдвигов. Общеизвестным, сегодня, считается, что только окисленные в результате реакций свободнорадикального окисления СРО липопротеиды активно поглощаются макрофагами, в результате чего и формируется насыщенная холестерином бляшка. С этой точки зрения, несмотря на отсутствие различий в липидном обмене между ЛПА и пациентами контрольной группы, можно считать повышенным риск развития атеросклероза у ЛПА. Достоверных различий по содержанию продуктов ПОЛ (ТБК-АП) и по уровню продукции активных форм атеросклероза у ЛПА.

Таблица 1.2.2

Показатели свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы
у ЛПА с ИБС и ДЭ, (M± SD)

Показатели, ед.изм.	Пределы нормальных значений	ЛПА с ИБС	ЛПА с ДЭ
ТБК-АП спонтанный сыворотки, мкмоль/л	2,62-3,58	4,29 ± 0,12*	4,08 ± 0,13*
ТБК-АП стимулированный сыворотки, мкмоль/л	0,58-2,40	2,61 ± 0,22	1,38 ± 0,12
ТБК-АП нейтрофилы, нмоль/10 ⁶ клеток	0,10-0,14	0,41 ± 0,03*	0,2 ± 0,05*
ТБК-АП мононуклеары, нмоль/10 ⁶ клеток	0,051-0,087	0,27 ± 0,02*	0,18 ± 0,08*
ТБК-АП тромбоцитов, нмоль/мг белка	0,34-0,52	0,82 ± 0,05*	0,74 ± 0,03*
Супероксид н. базальный, нмоль/10 ⁶ в час.	15,5-24,9	56,40 ± 5,42*	32,2 ± 1,9*
Супероксид м. базальный, нмоль/10 ⁶ в час.	8,0-15,8	40,95 ± 5,32*	26,6 ± 1,4*
Перекись н., нмоль/10 ⁶ в час.	24,6-39,8	61,58 ± 9,96*	26,7 ± 5,0
Перекись м., нмоль/10 ⁶ в час.	14,9-21,7	73,85 ± 13,66*	35,7 ± 6,6*
Глутатион восстановленный, мкмоль/л	2,10-3,30	1,73 ± 0,07*	1,87 ± 0,09*
Глутатион окисленный, мкмоль/л	0,20-0,50	0,37 ± 0,03*	0,34 ± 0,06
Супероксиддисмутаза эритроцитов, Ед./мг белка	4,10-6,80	4,80 ± 0,22	5,64 ± 0,18
Каталаза эритроцитов, Ед./мл	5,2-10,5	5,64 ± 0,26	6,4 ± 0,3

Примечание: ТБК-АП – продукты ПОЛ, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, спонтанный и стимулированный уровни; супероксид н. и м. – генерация супероксид-анион радикала нейтрофилами и мононуклеарами периферической крови; перекись н. и м. - генерация перекиси водорода нейтрофилами и мононуклеарами периферической крови; глутатион в. и о.- содержание восстановленного и окисленного глутатиона в эритроцитах; эр. – эритроциты. * - достоверные различия по сравнению с нормой.

Достоверных различий по содержанию продуктов ПОЛ (ТБК-АП) и по уровню продукции активных форм кислорода у пациентов с наличием диастолической дисфункции по сравнению с пациентами без диастолической дисфункции не было выявлено. Их содержание было

повышено у большинства пациентов обеих групп (от 60 % до 80 %) независимо от функционального состояния миокарда. Анализ состояния антиоксидантной системы показал, что содержание глутатиона и супероксиддисмутазы достоверно в подгруппах обеих групп не различалось. Уровень восстановленного глутатиона в обеих подгруппах ЛПА был ниже нормальных значений, недостоверно более выраженное снижение показателя отмечено в подгруппе с наличием диастолической дисфункции.. В этой же подгруппе снижение показателя встречалось у большего количества пациентов (76,6 % по сравнению с 58,3 % без диастолической дисфункции.). В нашем исследовании не было отмечено зависимости сдвигов процессов СРО в зависимости от наличия хронической сердечной недостаточности.

Анализ данных в зависимости от степени ДЭ показал различия только в уровне генерации АФК. У пациентов без ДЭ уровень генерации перекиси водорода мононуклеарами составил 19,8 нмоль/10⁶ кл. в час., при ДЭ 1-й степени – 28,6 нмоль/10⁶ кл. в час., а при ДЭ 2-й степени – 45,6 нмоль/10⁶ кл. в час., P<0,05. При этом, именно в группе пациентов со 2-й степенью ДЭ определялись самые низкие значения восстановленного глутатиона – 1,6 мкмоль/л (в группе без ДЭ – 1,75, P<0,05) с возрастанием содержания его окисленной формы.

Таким образом, при оценке окислительного стресса не было выявлено существенных различий в уровне продукции свободнорадикальных продуктов у ЛПА с различными сосудистыми заболеваниями. Для всех ЛПА с патологией сосудов была характерна гиперпродукция АФК лейкоцитами и тромбоцитами периферической крови, повышенное содержание продуктов ПОЛ в сыворотке крови и существенно сниженный уровень восстановленного глутатиона. При этом, только генерация АФК зависела от выраженности патологического процесса и больший ее уровень был ассоциирован с большей степенью ДЭ и развитием диастолической дисфункции миокарда.

Дисбаланс в иммунной системе и реакции воспаления в диагностике повреждения сосудов у ЛПА

Известно, что состояние окислительного стресса сопряжено с нарушением продукции цитокинов, а патогенез сосудистой патологии включает различные изменения иммунной системы.

Для установления роли этих процессов в развитии сосудистой патологии у ЛПА нами были проведены исследования клеточного и цитокинового звеньев иммунитета у ЛПА с ИБС и ДЭ. Параметры клеточного иммунитета исследовали на цитофлюориметре фирмы “Coulter-Backman” (США), а цитокины методом иммуноферментного анализа («Протеиновый контур»).

Иммунологические исследования показали, что для «ликвидаторов» с сосудистой патологией характерно формирование пограничного состояния нормы, при котором оказываются ограниченными возможности реагирования иммунной системы на биологическую агрессию. При этом наблюдается развитие сосудистых заболеваний в большем проценте случаев, чем в группах людей, не имеющих в анамнезе радиационного фактора. Например, среди лиц этой категории распространенность гипертонической болезни составляет 76,8 случаев против 24,9 в группе сравнения на тысячу наблюдаемых.

Было показано, что воздействие ионизирующей радиации изменяет уровень синтеза и продукции провоспалительных цитокинов. Воздействие факторов ликвидации аварии усиливает продукцию TNF- α и IL-6, но наблюдается значительное снижение способности клеток вырабатывать IFN- α и γ и IL-1 β . На основании анализа продукции цитокинов можно говорить о наличии смешанного T α 1/T α 2 ответа у пациентов обеих групп, причем нарушения выявлены в обоих типах реагирования (табл. 1.2.3).

Таблица 1.2.3

Показатели клеточного и цитокинового звеньев иммунитета у ЛПА с ИБС и ДЭ (M \pm m)

Параметры, ед.изм.	Пределы нормальных значений	ЛПА с ИБС	ЛПА с ДЭ
Лимфоциты, абс.число	4-9 x 10 ³	2441 \pm 242	2079 \pm 114
CD3+, абс.число, мм ³	950-1800	1591 \pm 164	1470 \pm 88
CD4+ абс.число, мм ³	570-1100	1025 \pm 119	878 \pm 54
CD16+ , абс.число, мм ³	180-420	293 \pm 36	273 \pm 35
CD25, абс.число, мм ³	60-245	119 \pm 21	47 \pm 7*
CD95, абс.число, мм ³	24-375	350 \pm 100	130 \pm 18
IL-1 β сыв., пг/мл	0-50	223 \pm 88	93 \pm 20
IL-6 спонтанная, пг/мл	0-50	204 \pm 44	217 \pm 26
TNF α сыв., пг/мл	0-50	87 \pm 22	120 \pm 33
TNF α индуц., пг/мл	500-1500	849 \pm 107	362 \pm 59*
IFN γ сыв., пг/мл	0-50	70 \pm 16	324 \pm 119
IFN γ спонт., пг/мл	0-50	60 \pm 13	140 \pm 37

У ЛПА с ИБС и ДЭ отмечено значительное повышение спонтанной продукции IL-1 β мононуклеарами периферической крови и высокий уровень IL-1 β в сыворотке крови. Индуцированная продукция IL-1 β была снижена в обеих группах, так у 44,2 % ЛПА уровень индуцированной

продукции IL-1 β был резко снижен и находился в пределах 10 - 100 пг/мл. Повышенная спонтанная продукция этого цитокина в группе ЛПА свидетельствует о наличии эндогенной активации мононуклеаров периферической крови. Такой механизм нарушения продукции цитокинов связан с длительной гиперпродукцией IL-1 β клетками периферической крови, последующим нарушением аутокринной регуляции цитокина и рефрактерностью клеток-продуцентов к антигенному стимулу. Сывороточный уровень TNF- α в обеих группах существенно превышал нормальные значения. Индуцированная продукция TNF- α в обеих группах находилась в пределах нормальных значений. Подавление функции провоспалительных цитокинов, в частности IL-1, являющегося индуктором “цитокинового каскада”, осуществляется с помощью антагониста рецептора IL-1. В норме соотношение между уровнем продукции антагониста рецептора IL-1 и IL-1 β должно приближаться к 5. В группе ЛПА соотношение концентраций этих цитокинов в периферической крови не превышает 1. Это позволяет говорить о том, что повреждающее действие провоспалительных цитокинов не нивелируется описанными физиологическими механизмами.

При сравнении показателей клеточного иммунитета в группе ЛПА с ИБС, у пациентов с диастолической дисфункцией миокарда было выявлено достоверно большее количество В-лимфоцитов (CD20) в периферической крови по сравнению с пациентами без диастолической дисфункции. Можно было бы предположить, что у ЛПА с диастолической дисфункцией миокарда причиной этих изменений является увеличение частоты сопутствующих заболеваний, при которых, в случае хронизации доминирует Th2 тип ответа, т.е. гуморальный. Однако анализ сопутствующей патологии не выявил различий в частоте аутоиммунного тиреоидита, хронической патологии бронхолегочной системы и желудочно-кишечного тракта в подгруппах.

В группе ЛПА с ИБС независимо от наличия дисфункции миокарда были повышены спонтанная продукция и содержание в сыворотке IL-1, индуцированная продукция этого цитокина была снижена. При сравнении пациентов с диастолической дисфункцией (ДД) и без диастолической дисфункции миокарда было отмечено менее выраженное повышение спонтанной продукции и содержания в сыворотке IL-1 у пациентов с ДД в группе ЛПА, однако, различия не были достоверными.

Содержание IL-6 в сыворотке было повышено только у пациентов с диастолической дисфункцией. Независимо от наличия дисфункции миокарда была увеличена спонтанная продукция IL-6 и снижена его индуцированная продукция, однако, у пациентов с дисфункцией миокарда эти изменения выражены в большей степени. Достоверных различий

между пациентами с наличием и отсутствием дисфункции миокарда, а также между пациентами обеих групп с ДД выявлено не было. Содержание TNF- α в сыворотке было повышено в обеих группах, однако, у пациентов с наличием ДД это повышение было недостоверно менее выраженным. Спонтанная продукция TNF- α была существенно повышена независимо от наличия дисфункции миокарда. Особенностью группы ЛПА является достоверно большее повышение спонтанной продукции этого цитокина у пациентов с диастолической дисфункцией миокарда (321 ± 56 пг/мл) по сравнению с больными, имеющими нарушения диастолической функции в контрольной группе (134 ± 43 пг/мл), $p < 0,01$. Индуцированная продукция TNF- α была нормальной в обеих группах независимо от наличия диастолической дисфункции миокарда.

В дальнейшем анализ проводился в группе ЛПА в зависимости от наличия и выраженности дисциркуляторной энцефалопатии.

При сравнении групп по мере нарастания ДЭ (0 группа – НПНМК (начальные проявления нарушений мозгового кровообращения), 1 группа – ДЭ1 степени, 2 группа – ДЭII-III) отмечалось снижение абсолютного количества CD4+лимфоцитов, выраженное при сопоставлении значений 0 и 1 групп ($p < 0,05$), (1096 против 860), тенденция к понижению количества CD8 клеток. Отмечалось снижение относительного и абсолютного количества CD95 клеток, особенно значимое при сравнении 0 и 2 группы ($p < 0,05$).

Изменения в цитокиновом звене иммунитета были менее выражены. По сравнению с 0 группой в 1 группе отмечается тенденция к снижению спонтанной продукции TNF- α , в 1 и 2 группе – индуцированной продукции IL-1 β , во 2 группе – к повышению спонтанной продукции IL-6. Отличий в продукции цитокинов между 1 и 2 группой не было выявлено.

Таким образом, наибольшая степень выраженности признаков ДЭ (2 группа) сопровождалась следующими изменениями в иммунной системе: уменьшением количества лимфоцитов периферической крови, экспрессирующих маркер готовности к апоптозу - антиген CD95; снижением индуцированной продукции IL-1 β и спонтанной TNF- α , которое сочеталось с увеличением уровня спонтанной продукции IL-6.

IL-6 – мультифункциональный цитокин - регулирует преимущественно гуморальную составляющую иммунного ответа, острофазный воспалительный ответ и гемопоэз. Синтез острофазовых белков гепатоцитами регулируется всей группой провоспалительных цитокинов, но IL-6 отводится особая роль гепатоцитактивирующего фактора, так как этот цитокин индуцирует синтез фибриногена, С-

реактивного белка, альфа1-кислого гликопротеина и др.

Наряду с целым рядом общеизвестных факторов риска развития ИБС и ДЭ: гиперлипидемией, гипертонией, избыточной массой тела, курением доказывается независимая роль в формировании коронарного риска такого биохимического маркера воспаления как высокий уровень С-реактивного белка.

Оказалось, что 6 % ЛПА с сосудистой патологией имели уровень С-реактивного белка выше 14 мг/л, что свидетельствовало о наличии выраженных воспалительных процессов на момент обследования. 32 % обследованных лиц имели уровень С-реактивного белка выше 2,5 мг/л. По литературным данным такой уровень этого острофазового белка свидетельствует о риске осложнений сосудистой патологии.

Клинически выраженные стадии ДЭ по сравнению с НПНМК характеризуются более высокими значениями С-реактивного белка, превышающими дискриминантный уровень 2,5 мг/л, что свидетельствует о важной роли воспаления стенки сосудов в патогенезе сосудистых расстройств при цереброваскулярной патологии у ликвидаторов.

У ЛПА с ИБС не было выявлено различий в уровне С-реактивного белка в зависимости от клинических проявлений заболевания. Однако анализ уровня С-реактивного белка в зависимости от наличия атеросклеротических бляшек, морфологического признака ИБС, показал достоверные различия (табл. 1.2.4).

Таблица 1.2.4

Средние значения С-реактивного белка у ЛПА с отсутствием и наличием атеросклеротических бляшек

Показатели (средние значения), ед.изм.	При отсутствии бляшек	При наличии бляшек
С-реактивный белок, мг/л	2,69 ± 0,31	7,97 ± 0,43*

*-р < 0,05;

Наличие атеросклеротических бляшек сопровождается значимым возрастанием в сыворотке крови С-реактивного белка, явного признака воспаления в стенке сосуда.

Результаты иммунологического исследования убедительно указывают на важную роль воспаления в повреждении сосудов при заболеваниях сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваниях у ЛПА.

Лабораторная оценка нейро-эндокринной дисфункции у ЛПА с сосудистой патологией

Нашей целью было определить связь уровня андрогенов и надпочечниковых стероидных гормонов, участвующих в биосинтезе

тестостерона, у ЛПА с цереброваскулярной и сердечно-сосудистой патологией. Были исследованы: тестостерон общий, лютеинизирующий гормон (ЛГ), β -глобулин, связывающий половые гормоны (SHBG), 5 α -дигидротестостерон (5 α -ДГТ) и дегидроэпиандростерон-сульфат (DHEAS) в сыворотке крови ЛПА с сосудистой патологией. Все исследования проводились методом высокочувствительного иммунохимического анализа на иммунохемилюминесцентном анализаторе “Immulite 2000”.

При оценке гормональных показателей было отмечено, что у пациентов с установленным диагнозом дисциркуляторная энцефалопатия по сравнению с рабочей нормой (в качестве нормы показателя приняты референтные значения для использованных диагностических тест-систем) показаны достоверно низкие концентрации общего тестостерона, высокие концентрации SHBG, DHEAS и как следствие, низкий индекс свободных андрогенов –FAI.

Установлено достоверное повышение концентрации SHBG у ЛПА с сосудистой патологией ($p < 0,001$), что свидетельствует о понижении концентрации биологически активного тестостерона. Таким образом, выявлено, что частичный андрогенный дефицит у ЛПА опосредован повышенным связыванием половых гормонов-андрогенов с β -глобулином.

Было проведено сравнение результатов гормональных исследований у пациентов в зависимости от степени дисциркуляторной энцефалопатии и наличия атеросклеротических бляшек.

При сравнении результатов гормональных исследований у пациентов с ДЭ I и II стадии ($n = 38$) не было обнаружено статистически достоверной связи величин показателей гормонального статуса с тяжестью клинических проявлений болезни. У пациентов без атеросклеротических бляшек концентрация тестостерона равна 13,44 нмоль/л, соответствует физиологической норме и достоверно выше, чем у пациентов с наличием бляшек кровеносных сосудов ($n = 18$) ($P < 0,02$).

В результате проведенного нами исследования показано, что у ЛПА с сосудистой патологией уровень андрогенов значительно ниже, чем в здоровой популяции. Эти данные подкрепляют появившуюся в последнее время гипотезу, что андрогены у мужчин репродуктивного возраста не являются патогенетическим фактором для формирования патологии сосудистой системы.

Возможности лабораторной диагностики повреждения эндотелия сосудов у ЛПА

Основной причиной возникновения и развития сердечно-сосудистой и цереброваскулярной патологии является снижение локального кровотока, уменьшение кровоснабжения сердца или мозга с последующим функциональным или органическим поражением органа. Процесс тромбообразования, который является ведущим фактором уменьшения

просвета сосуда, тесно связан с повреждением внутренней оболочки сосуда. Нарушение целостности эндотелия, который в норме выполняет важные гомеостатические функции, может стать отправной точкой в цепи патофизиологических реакций, приводящих к окклюзии мелких сосудов, что наблюдается, в том числе, у ЛПА.

У ЛПА с сосудистой патологией развивается целый комплекс патохимических сдвигов, свидетельствующих о ключевой роли повреждения эндотелия как важного патогенетического фактора этой патологии у ЛПА.

Свободные радикалы кислорода и некоторые цитокины, гиперпродукция которых постоянно определяется у ЛПА с сосудистой патологией, обладают способностью напрямую взаимодействовать с клетками эндотелия, повреждая его и изменяя тонус сосудов. Воспаление, признаком которого являются повышенные уровни С-реактивного белка и провоспалительных цитокинов у ЛПА, также является мощным фактором повреждения эндотелия. Нарушение обмена апобелков липопротеидов, характерное для ЛПА, проявляет свои атерогенные свойства также посредством влияния на эндотелий сосудов. Мощным фактором поражения эндотелия является нарушение обмена гомоцистеина, которое было отмечено нами у 24 % ЛПА.

Фактор Виллебранда является наиболее известным маркером повреждения сосудов. Он относится к числу молекул секретируемых эндотелием и опосредует начальный этап адгезии тромбоцитов. Существенное повышение фактора Виллебранда в сыворотке крови определяется при заболеваниях, сопровождающихся острым и хроническим повреждением эндотелия (например, сахарный диабет, атеросклероз). Увеличение его содержания свидетельствует о дисфункции эндотелия.

По нашим данным только у 23,5 % ЛПА с сосудистой патологией была повышена активность фактора Виллебранда. Следует учесть, что в эту группу были включены пациенты с начальными проявлениями нарушений мозгового кровообращения. Поэтому этот результат может рассматриваться как указание на высокий риск повреждения эндотелия при сосудистых заболеваниях с более выраженными клиническими признаками заболевания. На это указывает высокая активность фактора Виллебранда у одного пациента из этой группы – 476,0 % (норма 60-180 %) с гемодинамически значимыми нарушениями мозгового кровотока. Кроме того, корреляционный анализ показал достоверную положительную связь активности фактора Виллебранда с АДФ-индуцированной агрегацией тромбоцитов ($r = 0,67$), с содержанием продуктов ПОЛ в сыворотке крови ($r = 0,47$), продукцией АФК нейтрофилами и мононуклеарами периферической крови ($r = 0,49$ и $r = 0,37$ соответственно), а также с коэффициентом атерогенности ($r = 0,32$).

Эти данные подтверждают предположение, что возрастание атерогенных сдвигов, увеличение функциональной активности тромбоцитов и гиперпродукция АФК лейкоцитами периферической крови у ЛПА с сосудистой патологией служат реальными причинами повреждения эндотелия сосудов, которое в свою очередь формирует морфологическую основу уменьшения коронарного и церебрального кровотока и в конечном итоге приводит к развитию сердечно-сосудистой и цереброваскулярной патологии.

Об этом же свидетельствуют выявленные корреляционные зависимости изученных метаболических параметров с уровнем депрессии, нарушением мышления и когнитивных функций, ухудшением зрительной памяти, снижением мозговых функций. Так, например, достоверная обратно-пропорциональная зависимость была выявлена между уровнем ЛПВП, апоБелкаВ, общего холестерина, продуктов ПОЛ и коэффициента атерогенности с уровнем депрессии, нарушением мышления, функциональной активности мозга. То есть, усугубление атерогенных сдвигов и активация процессов СРО приводит к развитию депрессивных состояний, ухудшению когнитивных функций, памяти, снижению электрической активности головного мозга.

Эти данные подтверждают участие изученных механизмов в развитии сосудистой патологии и позволяют разрабатывать патогенетические способы профилактики и медикаментозной коррекции сердечно-сосудистой и цереброваскулярной патологии.

Представляется очевидным, что диагностика, лечение и профилактика сосудистой патологии у ЛПА должна проводиться с учетом выявленных механизмов ее развития. Проведенное нами исследование позволило расшифровать далеко не все механизмы развития патологического процесса в сосудах у ЛПА. Тем не менее, уже сегодня мы имеем достаточно информации для того, чтобы сформулировать общие принципы лабораторной диагностики сосудистых заболеваний у ЛПА, на основе которой становится возможным проведение патогенетически обоснованных лечебных и профилактических мероприятий.

Прежде всего, следует учитывать общность патогенеза сосудистых заболеваний у ЛПА как при сердечно-сосудистой, так и при цереброваскулярной патологии, что подтверждают результаты наших исследований. Об этом же свидетельствует и большой процент ЛПА, у которых одновременно диагностируются ИБС и ДЭ. Все это дает основание в дальнейшем говорить о механизмах и профилактике сосудистых заболеваний без указания системной принадлежности.

Важным этапом, предшествующим проведению мероприятий по лечению и профилактике сосудистых заболеваний должен стать анализ патогенетического варианта вида сосудистой патологии у каждого конкретного пациента. Как демонстрируют результаты нашей работы,

только примерно у 60 % ЛПА формируются выраженные атерогенные сдвиги и состояние окислительного стресса, у 43 % - нарушения в системе гемостаза, только 25 % - имеют гипергомоцистеинемию и признаки повреждения эндотелия. В связи с этим выбор профилактического комплекса должен быть основан как на общих представлениях о механизмах развития сосудистой патологии у ЛПА, так и на индивидуальном анализе клинических и патофизиологических признаков патологии сосудов, психофизиологического состояния пациента, лабораторных маркерах, свидетельствующих о том или ином преобладающем варианте метаболических сдвигов.

Второе важное положение, вытекающее из результатов работы, заключается в комплексном участии всех выявленных молекулярных механизмов в развитии патологического процесса в сосудистом русле ЛПА, основой которого является повреждение сосудистого эндотелия. Свободные радикалы кислорода модифицируют химическую структуру липопротеидов, которые увеличивают свои атерогенные свойства в окисленном виде и приобретают способность влиять на функцию эндотелия. Химически модифицированные липопротеиды (окисленные, гликозилированные и др.) способны инициировать аутоиммунный ответ. Это сопровождается формированием ЛППП-содержащих аутоиммунных комплексов, которые, в свою очередь, активируют макрофаги и повреждают эндотелиальные клетки. Цитокины индуцируют адгезию лейкоцитов к эндотелиальным клеткам, способствуют синтезу и секреции эндотелием соединений, обладающих прокоагулянтными свойствами, а также факторов роста, способствующих пролиферации гладкомышечных клеток (ГМК). Кроме этого одним из эффектов ФНО- α является активация тромбоцитов в сосудах. Взаимное повреждающее действие свободных радикалов, цитокинов и апоВ-содержащих липопротеидов приводит к возрастанию адгезивных свойств тромбоцитов, прилипание которых к сосудистой стенке запускает процесс образования тромба, который может идти неограниченно при снижении антитромботического потенциала эндотелия, вследствие его повреждения теми или иными факторами.

В результате наших многолетних исследований можно с уверенностью утверждать, что в алгоритмы лабораторной диагностики при сосудистой патологии у ЛПА необходимо включать:

- исследование параметров обмена липопротеидов с обязательным определением соотношения апоА/апоВ;
- оценку системы гемостаза как плазменного, так и тромбоцитарного;
- определение параметров, характеризующих выраженность окислительного стресса;

- выявление маркеров воспалительной реакции – определение высокочувствительного С-реактивного белка, провоспалительных цитокинов;
- оценку дисфункции или повреждения эндотелия.

Основными направлениями программы профилактики заболеваний сосудов у ЛПА, видимо, должны стать меры предупреждающие появление дислипидемий, ограничивающие процессы свободнорадикального окисления, подавляющие реакции воспаления, в том числе избыточный синтез и секрецию провоспалительных цитокинов, снижающие функциональную активность тромбоцитов, поддерживающие структурную целостность и функциональную активность сосудистого эндотелия.

Важным условием успешности такого рода мероприятий является использование адекватным методов лабораторной диагностики, позволяющих определять для каждого конкретного пациента необходимый патогенетически обоснованный план лечебных и профилактических мероприятий, а также получать объективную информацию об эффективности проводимой терапии..

Роль лабораторной диагностики в оценке эффективности патогенетической терапии хронической сосудисто-мозговой недостаточности у участников ЛПА на ЧАЭС

Современная концепция о гетерогенности ишемических повреждений мозга обуславливает необходимость уточнения патогенетического варианта сосудисто-мозговой недостаточности в каждом конкретном случае, так как только при таком подходе к диагностике возможно назначение эффективной терапии, направленной на лечение и профилактику прогрессирования заболевания. Кроме того подбор терапии с учетом воздействия на превалирующие факторы прогрессирования ХНМК позволяет ограничиться минимальным набором лекарственных средств и избежать полипрагмазии.

В ходе выполнения работы нами были определены наиболее важные клинические, инструментальные и лабораторные показатели, позволяющий определить особенности патогенеза в каждом отдельном случае и индивидуально подобрать минимальный набор лекарственных средств, необходимый для эффективного лечения и профилактики заболевания.

При гипертонической энцефалопатии основное внимание должно быть направлено на нормализацию уровня АД. При атеросклеротической энцефалопатии на первое место выступает коррекция метаболических нарушений (липидный обмен, сахар крови, режим питания и физических нагрузок). В случаях венозной дисциркуляции в комплексную терапию включаются венотоники и препараты, снижающие внутричерепное

давление. При всех патогенетических вариантах сосудистой энцефалопатии может наблюдаться дисфункция эндотелия и нарушения микроциркуляции, что требует включение в схему лечения антиагрегантов, антиоксидантов и ангиопротекторов. Определяющее значение для течения заболевания, социальной и профессиональной дезадаптации имеет психопатологический дефект, что требует подбора терапии в зависимости от его варианта.

Как правило, у каждого пациента выявляется целый комплекс нарушений, требующих коррекции. В то же время одномоментное назначение нескольких препаратов может изменять действие каждого из них и усиливать побочные эффекты. Поэтому предпочтение отдается препаратам, имеющим несколько механизмов действия или курсовому лечению с поэтапным назначением 1-2 лекарственных средств, последовательно влияющих на разные стороны патогенеза. Особую роль приобретают препараты, оказывающие сочетанное действие на кровоснабжение и метаболизм мозга, а также на центральную гемодинамику и реологические свойства крови.

Использование комплексного метода диагностики ДЭ, позволило нам выявить особенности патогенеза у 100 % обследованных участников ЛПА на ЧАЭС, что явилось основанием для подбора индивидуальных схем лечения с минимальным количеством используемых лекарственных средств. При этом клиническая эффективность терапии составила 87 %. В целом по группе, отмечено значимое улучшение когнитивных функций, снижение тревожности и депрессии, улучшение показателей когнитивных потенциалов Р300, уменьшение выраженности патологических тета-бета волн в ЭЭГ, увеличение церебрального кровотока и улучшение цереброваскулярной реактивности, что отражало адекватность предложенной патогенетической терапии.

Алгоритм комплексной диагностики и контроля за лечением позволил нам не только подтвердить хорошо известные механизмы действия используемых при лечении ДЭ препаратов, но и выявить новые положительные и побочные эффекты.

Использование нами антиагреганта курантила (в сочетании с милдронатом или триовитом) при лечении пациентов с атеросклеротической энцефалопатией и выраженным повышением агрегации тромбоцитов, показало что значительное улучшение клинической картины, отмеченное в 100 % случаев, сопровождалось не только антиагрегантным эффектом, но и снижением уровня фибриногена, снижением коэффициента атерогенности, и повышением уровня восстановленного глутатиона. Достоверно значимое влияние курантила на эти показатели подтверждено результатами дисперсионного анализа (рис.1.2.1, 1.2.2, 1.2.3).

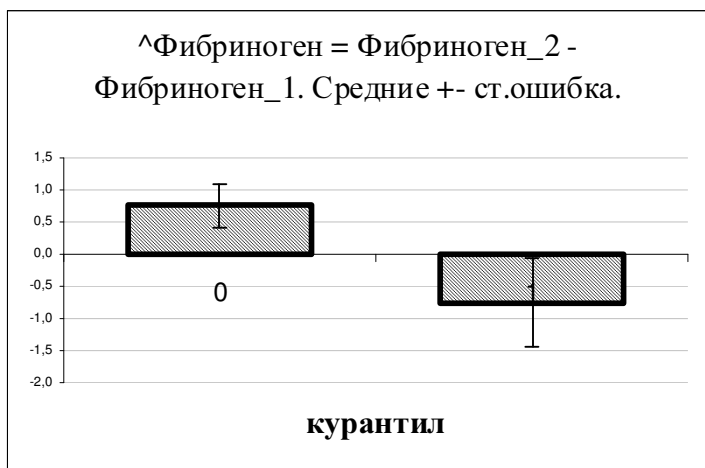


Рис. 1.2.1 Динамика уровня фибриногена в зависимости от терапии

0 – повышение уровня фибриногена при отсутствии курантила в схеме лечения (терапия стимулотоном в сочетании с триовитом или милдронатом);

1 – снижение уровня фибриногена при наличии курантила в схеме лечения (курантил в сочетании с триовитом или милдронатом).

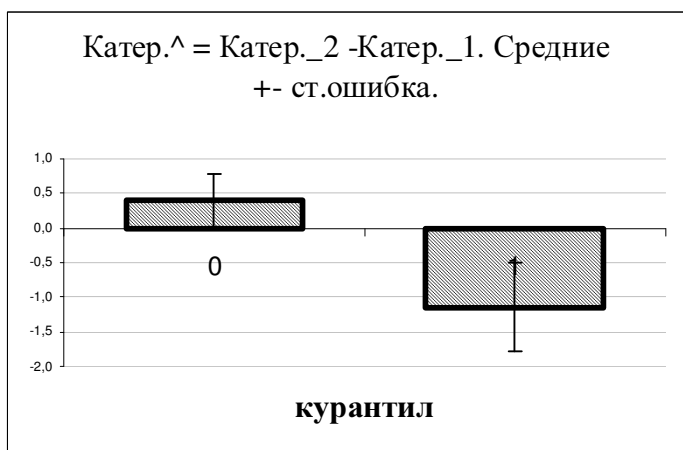


Рис.1.2.2. Динамика коэффициента атерогенности в зависимости от терапии

0 – повышение коэффициента атерогенности при отсутствии курантила в схеме лечения (терапия стимулотоном в сочетании с триовитом или милдронатом);

1 –снижение коэффициента атерогенности при наличии курантила в схеме лечения (курантил в сочетании с триовитом или милдронатом).

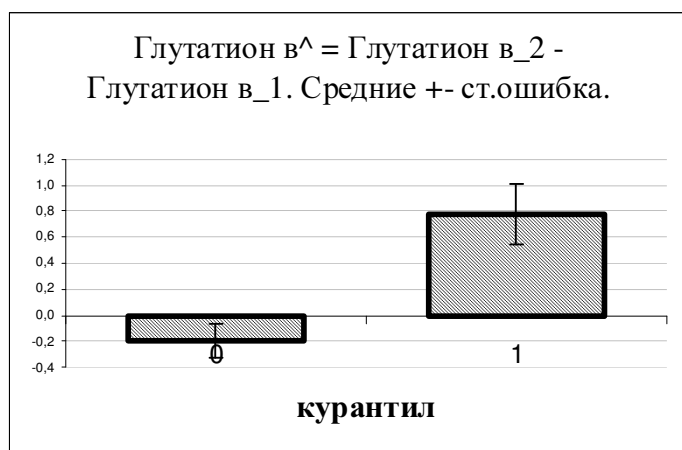


Рис.1.2.3. Динамика уровня восстановленного глутатиона в зависимости от терапии:

0 – снижение уровня восстановленного глутатиона при отсутствии курантила в схеме лечения (терапия стимулотоном в сочетании с триовитом или милдронатом);

1 –повышение уровня восстановленного глутатиона при наличии курантила в схеме лечения (курантил в сочетании с триовитом или милдронатом).

Назначение пациентам с выраженными аффективными расстройствами антидепрессанта стимулотона (в сочетании с триовитом или милдронатом) определило значимое улучшение когнитивных функций и снижение тревожно-депрессивных расстройств в 71 % случаев. Следует отметить, что часть положительных психотропных эффектов были связаны именно с действием стимулотона. В первую очередь это касалось улучшения памяти и снижения депрессии. В то же время, улучшение параметров когнитивных потенциалов Р300, некоторым параметром биоэлектрической активности головного мозга, снижение личностной тревожности отмечено при всех назначенных комбинациях препаратов в равной степени. Таким образом, не только психотропные препараты, но и лечение, направленное на улучшение микроциркуляции, привело к значительному улучшению когнитивных функций и психического статуса. В то же время обращала на себя внимание значимая активация перекисного окисления липидов (ПОЛ), которая была отмечена в 100 % случаев назначения стимулотона (рис. 1.2.4). Эти данные, не опровергая выраженного положительного влияния стимулотона, требуют дальнейшего наблюдения за пациентами, и свидетельствует о необходимости подбора адекватной антиоксидантной терапии, пациентам принимающим стимулотон.

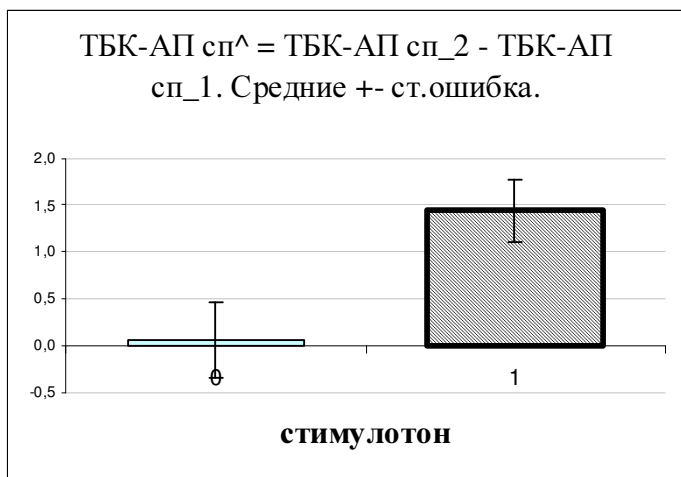


Рис. 1.2.4. Сравнительная оценка динамики перекисного окисления липидов в зависимости от терапии

0 – отсутствие стимулотона в схеме лечения (курантил в сочетании с триовитом или милдронатом);

1 - наличие стимулотона в схеме лечения (стимулотон в сочетании с триовитом или милдронатом)

2



Рис. 1.2.5. Изменения уровня общей антиоксидантной активности плазмы в зависимости от терапии

0 –повышение уровня антиоксидантной активности плазмы при отсутствие триовита в схеме лечения (стимулотон+ милдронат и курантил+ милдронат);

1 – снижение уровня антиоксидантной активности плазмы при наличие триовита в схеме лечения (триовит + стимулотон и триовит+курантил).

Оценка клинической эффективности триовита, по предложенному алгоритму обследования, не подтвердила его антиоксидантное действие, а напротив, выявила наличие у этого препарата неизвестного, и обычно не контролируемого побочного эффекта в

виде выраженного снижения уровня общей антиоксидантной активности плазмы, которое было отмечено у всех пациентов принимавших триовит (рис. 1.2.5) и повышения уровня апоВ (рис. 1.2.6), что отражает нарастание окислительного стресса и атерогенных сдвигов. Это послужило основанием для отказа от использования данного препарата при лечении ДЭ. В литературе приводятся сведения о высокой антиоксидантной активности многих препаратов (мексидол, эспа- липон, кавинтон, и др.), что требует дальнейшего изучения.

Не было получено ожидаемого от применения милдроната гиполипидемического и антигипоксантного эффекта, что определяет необходимость дальнейших исследований для подбора эффективных препаратов, нормализующих обменные процессы.

В целом, можно говорить о высокой эффективности лечения ДЭ, основанного на подборе патогенетической терапии, однако оценка механизма воздействия большинства используемых при лечении ДЭ препаратов требует дальнейшего изучения.

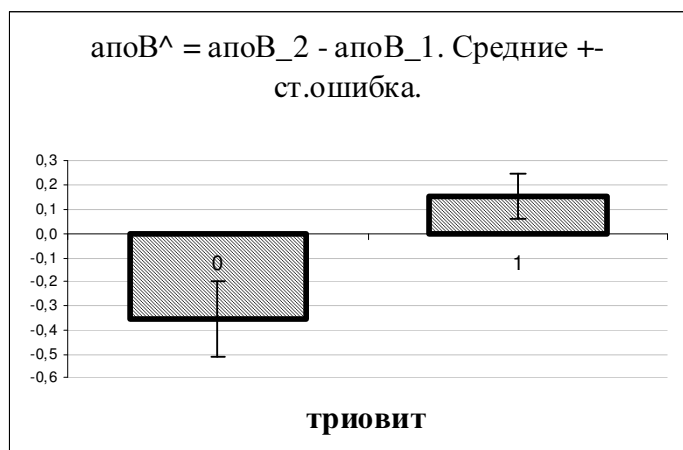


Рис. 1.2.6. Изменения уровня апоВ в зависимости от терапии

0 – снижение уровня АпоВ при отсутствие триовита в схеме лечения (стимулотон+ милдронат и курантил+ милдронат).

1 – повышение уровня апоВ при наличие триовита в схеме лечения (триовит + стимулотон и триовит+курантил)

Результаты данного раздела работы свидетельствуют о целесообразности использования методов лабораторной диагностики с целью оценки эффективности проводимой терапии, особенно при сочетании нескольких препаратов с различными механизмами действия, а также об актуальности проведения научных исследований в данном направлении.

1.3. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА У ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧАЭС

По данным многолетних исследований, проводимых в ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России (Ликвидаторы последствий аварии на Чернобыльской АЭС..., 2008), установлено, что в структуре соматической патологии ликвидаторов последствий аварии (ЛПА) на ЧАЭС ведущей патологией, наравне с болезнями системы кровообращения, остаются болезни системы пищеварения. Углубленное обследование позволяет выявлять патологию органов пищеварения практически в 100 % случаев, при этом у большинства пациентов имеет место сочетание двух и более заболеваний пищеварительной системы. Распространенность заболеваний органов пищеварения среди ЛПА на ЧАЭС представлена в таблице 1.3.1.

Таблица 1.3.1

Частота выявления заболеваний органов пищеварения у ЛПА на ЧАЭС (в книге Ликвидаторы последствий аварии..., 2008)

Нозологическая форма	Частота встречаемости (%)
Язвенная болезнь	23
Хронический гастрит	60
Заболевания пищевода	23
Гепатобилиарная патология	43
Хронический панкреатит	37
Болезни кишечника	20

Анализ эпидемиологических данных показывает, что значительную долю заболеваний органов желудочно-кишечного тракта составляет гастродуоденальная патология. Наиболее часто встречаются хронические гастриты и язвенная болезнь. Ведущая роль в патогенезе хронического гастрита, язвенной болезни у ЛПА, так же как и в популяции, отводится *Helicobacter pylori* (Hр). Доля хеликобактерного гастрита у ЛПА составляет от 70 до 80 % (Михайлова И.А., 2006; Дрыгина Л.Б., 2009).

Частота хеликобактериоза у ликвидаторов несколько ниже, чем в популяции (Ильчишина Т.А., 2008). Данный факт обусловлен тем, что у этой категории больных имеет место сочетанная патология, приводящая к выраженным метаболическим изменениям, что требует значительной медикаментозной терапии. В свою очередь лечение сопутствующих

заболеваний часто усугубляет состояние измененной слизистой оболочки гастродуоденальной зоны, в связи с чем, снижается эффективность лечебных мероприятий, а также увеличиваются сроки и стоимость курсов лечения.

Что касается злокачественных новообразований, прежде всего, рака желудка (РЖ), то его уровень у ликвидаторов высок и соответствует общепопуляционному. Несмотря на снижение заболеваемости и смертности от РЖ, наблюдаемые в последнее десятилетие во многих странах и в России, РЖ находится на четвертом месте по частоте и на втором месте среди причин смерти от злокачественных опухолей. Более чем в 80 % случаев РЖ первично диагностируется на стадии тяжелой опухолевой прогрессии (Мерабишвили В.М., 2004). Это удерживает РЖ в группе низкокурабельных заболеваний (Симонов Н.Н. и др., 2001).

Одной из причин развития РЖ, особенно его дистальной, кишечной формы, является заражение пациентов инфекцией *Helicobacter pylori* (Hр). Согласно современным представлениям, опухоль в желудке исключительно редко возникает на фоне неизменной слизистой оболочки желудка (СОЖ). Гораздо чаще развитию РЖ предшествуют определенные патологические изменения, триггерную роль в развитии которых играет Hр. Колонизация Hр вызывает воспаление слизистой оболочки желудка практически у всех инфицированных людей, но клинически проявляемые заболевания (язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, неатрофический и атрофический гастрит, аденокарцинома и В-клеточная лимфома желудка) возникают у 10-20 % инфицированных. Инфекция Hр признана ВОЗ канцерогеном первой группы для человека, поскольку в большом количестве исследований была доказана четкая связь между инфицированием Hр и развитием аденокарциномы и лимфомы желудка. Взаимосвязь между атрофическими и предопухолевыми изменениями СОЖ основана на том факте, что Hр приводит к воспалительно-дистрофическим изменениям в слизистой оболочке желудка с нарушением процессов клеточного обновления с формированием очаговой или диффузной атрофии, метаплазии и дисплазии (Correa P., 1988, 1992). Хронический атрофический гастрит является наиболее значимым предраковым заболеванием желудка. Риск развития рака желудка повышается параллельно степени тяжести атрофического гастрита (Sipponen P., 2002). В целом, атрофический гастрит повышает риск РЖ по сравнению со здоровыми людьми в 3-5 раз. Наиболее опасным в плане малигнизации является тяжелый атрофический гастрит с Hр-инфекцией и распространенной кишечной метаплазией (Беспалов В.Г. и др., 2009). Установлена выраженная причинная связь между инфекцией Hр и хроническим атрофическим гастритом (Fox J.G. et al., 2007).

Как известно, лучевые воздействия приводят к повышению риска малигнизации, особенно в отдаленные сроки после облучения. Высокое психоэмоциональное напряжение, которое сопровождает работу лиц опасных профессий, также приводит к ослаблению адаптационно-приспособительных механизмов и развитию заболеваний органов пищеварения. По этой причине проблема скрининга и ранней диагностики предраковых состояний СОЖ у участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС и спасателей МЧС России представляется актуальной и своевременной.

В настоящее время гистологический метод является единственным способом диагностики атрофических и пренеопластических изменений слизистой оболочки желудка. Однако, учитывая неравномерность и очаговость распространения данных изменений в желудке, гистологическим методом зачастую бывает очень сложно оценить характер патологии слизистой оболочки желудка. В силу инвазивного характера исследования, необходимости высокого профессионализма морфолога, гистологический анализ гастробиоптата не может быть скрининговым методом диагностики и профилактики рака желудка. Другую проблему составляют сложности в установлении гистологического диагноза в связи с отсутствием единого подхода к верификации предопухолевых изменений желудка (Hermanek P. et al., 1994).

Для предотвращения развития рака желудка необходима ранняя диагностика предопухолевых изменений. Одним из путей решения данной проблемы может быть индикация биохимических маркеров поражения фундального и антрального отделов желудка.

Определение гастрин-пепсиногенов при серологическом исследовании сыворотки крови

В настоящее время предложена методика неинвазивной диагностики функционального состояния слизистой оболочки желудка и хеликобактериоза, основанная на определении в сыворотке крови пепсиногена I, пепсиногена II, гастрин-17 и антител к *Helicobacter pylori* (Hр). Этот комплекс показателей получил коммерческое название – тест «ГастроПанель» (GastroPanel).

Определение пепсиногена I, пепсиногена II, гастрин-17 основано на сэндвич-методе ELISA – твердофазном иммуноферментном анализе. Принцип ELISA заключается в следующем. На первом этапе анализа, свободные формы пепсиногена I (пепсиногена II или гастрин-17), присутствующие в исследуемом образце сыворотке крови пациента за счет двухвалентного взаимодействия образуют специфические иммунные комплексы с моноклональными антителами, адсорбированными на поверхности лунок полистироловых планшетов и вторыми антителами. Далее, биотинилированный IgG присоединяется ко вторым антителам.

Авидин, меченый пероксидазой хрена, обеспечивает усиление реакции определения ферментативной активности и биохимическое выявление образованного иммунного комплекса за счет авидин-биотинового взаимодействия.

Н. Vaananen и соавт. (2003) провели мультицентровое исследование по использованию «ГастроПанели» для неинвазивной диагностики заболеваний желудка. В исследование было включено 404 пациента с диспепсией. Результаты, полученные с помощью теста «Гастропанель», сравнивались с результатами гистологического метода (табл.1.3.2).

Таблица 1.3.2

Достоверность результатов диагностики атрофического гастрита с помощью теста «ГастроПанель» в сравнении с гистологическим методом исследования (Vaananen H. et al., 2003)

Метод	«ГастроПанель»	Гистологическое исследование
Общая достоверность	81 %	77 – 85 %
Чувствительность	79 %	69 – 89 %
Специфичность	91 %	88 – 94 %
Положительное прогностическое значение (PPV)	64 %	54 – 75 %
Отрицательное прогностическое значение (NPV)	93 %	90 – 96 %

Авторами показана высокая достоверность верификации атрофического гастрита как при серологическом исследовании крови с помощью теста «ГастроПанель», так и при проведении гастроскопии с гистологическим исследованием биоптатов. Так же были получены сопоставимые результаты по определению здоровой СОЖ. Эти фундаментальные исследования финских ученых послужили отправной точкой к широкому использованию теста «ГастроПанель» в клинической практике при скрининге пациентов.

Семейство «гастринов» и пепсиногены

В 1905 г. Джон Сидней Эдкинс (J.S. Edkins), из Лондонского университетского колледжа, впервые выделил из вытяжки антрального отдела желудка млекопитающих гормон «гастрин». Гормон стимулировал секрецию соляной кислоты. Позднее было доказано существование целого семейства гастринов, обладающих сходным биологическим действием. В настоящее время это хорошо изученная группа гормонов, имеющих одинаковую пентапептидную структуру.

Семейство гастринов не претерпело существенных изменений в процессе эволюции. Так гормоны млекопитающих – гастрин,

холецистокинин обладают высокой степенью гомологии с нейропептидом прехордовых – хионином и пептидом, выделенным из кожи лягушки – церулеином. Рецепторы гастрин связывают холецистокинин и другие пептиды, имеющие похожие биологически активные участки.

Синтез гастрин стимулируется как белками, поступающими с пищей, так и растяжением желудка. В результате чего образуются α -амидированные биоактивные гастрины, имеющие одинаковые участки на С-конце полипептидной последовательности, состоящие из четырех аминокислотных остатков: –Trp–Met–Asp–PheNH₂. Пятую позицию от С-концевого фенилаланиламида (–PheNH₂) занимает глицин (–Gly), а шестую – тирозин (–Tyr).

Основная часть (90 %) амидированных гастринов представлена амидом 17-членного пептида, его также называют *маленьким гастрином* (G17); 5 % - *большим гастрином* G34 (34 остатка); остальные 5 % – смесью *большого-большого гастрин* (71 и 52 остатка), *минигастрин* (14 остатков) и короткого гепта- и гексапептидного аминного фрагмента.

Амидированные гастрины, в основном, вырабатываются антральными G-клетками. Они обладают в 100 раз большей активностью в отношении высвобождения гистамина по сравнению с гастринами, заканчивающимися глицином. Амидированные гастрины могут существовать в двух формах – несulfатированной и O-sulfатированной по тирозиновому остатку. Исключение составляет гастрин G6, который полностью sulfатирован. Sulfатированная форма G17 в 1000 раз более эффективно стимулирует секрецию соляной кислоты слизистой желудка, чем гистамин. В экстрактах слизистой антрального отдела желудка преобладают более короткие формы гастринов, а в сыворотке – более длинные. В слизистой антрального отдела желудка в основном (90 %) представлен амидированный гастрин-17, а в тонком кишечнике – гастрин-34.

Синтез и высвобождение амидированных гастринов в кровеносное русло происходит максимально через 20 мин. после белковой нагрузки, в этот момент G17 стимулирует секрецию соляной кислоты. Высокая кислотность (pH < 2,5) угнетает дальнейшую секрецию G17 по механизму отрицательной обратной связи.

В процессе биосинтеза гастринов образуется около 5–10 % неамидированных гормонов, аминокислотная последовательность этих соединений заканчивается глицином. Неамидированные формы гастринов не обладают биологической активностью и поступают преимущественно в кровь. Местом синтеза неамидированных гастринов могут быть клетки дистального отдела тонкого кишечника, клетки толстого кишечника, EС-клетки фетальной и неонатальной поджелудочной железы, клетки гипофиза, мозжечковые нейроны и нейроны блуждающего нерва, яичники

в постменопаузальный период, сперматогенные клетки. Из клеток или тканей, которые в норме экспрессируют ген гастрина, образуются опухоли.

При гастриноме или синдроме Золлингера-Эллисона развивается гипергастринемия, обусловленная гиперпродукцией гастрина G-клетками опухоли. Гастронома может локализоваться в области поджелудочной железы или других органов и тканей.

Биоактивные продукты имеют разное время выведения из организма, что отражается на их гормональной значимости. Чем больше молекула, тем больше время ее выведения из организма.

Гастроины регулируют регенерацию слизистой желудка, стимулируют пролиферацию ECL-клеток, моторику желудка, секрецию холецистокинина, секрецию поджелудочной железы. При стрессорном воздействии G-клетки увеличивают секрецию гастрина с измененной молекулярной структурой: преимущественно синтезируются неамидированные гастроины; меньше образуется сульфатированных форм амидированных гастроинов.

Гастрин-17 оказывает выраженное влияние на кислотную продукцию в теле желудка, причем его активность наивысшая из всех известных гастроинов. Это доминирующая и сильнодействующая форма гастрина в здоровой СОЖ. Было предложено использовать данный показатель в качестве биологического маркера атрофии антрального отдела желудка, поскольку при атрофии слизистой антрального отдела секреция G17 снижается. Для этого компанией «Biohit», (Финляндия) был разработан метод количественного определения гастрина-17 в доступном биологическом материале – сыворотке крови. Биоактивные гастроины более иммуногены чем неактивные (заканчивающиеся глицином) за счет присутствия ароматического кольца PheNH_2 в молекулярной структуре соединения. Однако моноклональные антитела к биоактивным гастроинам могут вступать в перекрестные реакции не только с G17, но и с другими гастроинами присутствующими в сыворотке крови. Эта проблема была успешно решена финскими исследователями. Чувствительность разработанного метода анализа позволила определять базальный гастрин-17. Показано отсутствие перекрестных реакций со структурными аналогами биоактивного G17 (табл.1.3.3).

Американский гастроэнтеролог М. Samloff с соавт. (1975) стал основоположником определения пепсиногенов в сыворотке крови серологическим методом. В начале 80-х годов им была выявлена корреляционная зависимость между концентрацией в сыворотке крови пепсиногенов, определяемых методом иммунодиффузии, и степенью тяжести поражения желудка по результатам гистологического исследования биоптатов СОЖ. Иммунологический метод определения пепсиногенов получил название «серологической биопсии» и является малоинвазивным способом оценки пептической секреции желудка.

Таблица 1.3.3

Специфичность ИФА тест-системы «ВІОНІТ» для количественного определения G17 в сыворотке крови

Пептид	Гастрин-17 ELISA Biohit (% от результата радиоиммунологического исследования)
Несульфатированный гастрин 2-17	0
Гастрин 1-13	0
Несульфатированный гастрин-17	104.3 ± 4.1
Сульфатированный гастрин-17	37.8 ± 4.6
Несульфатированный гастрин-34	0

Из слизистой желудка человека выделены два пепсиногена – пепсиноген I (PGI) и пепсиноген II (PGII). Пепсиноген I или пепсиноген А является предшественником (зимогеном) фермента пепсина. Пепсиноген II или пепсиноген С относится к группе аспарагиновых протеаз, которые превращаются в пепсин под действием кислой среды желудочного сока. В процессе активации с N-конца пепсиногенов (неактивных форм) отщепляются аминокислотные остатки в виде смеси пептидов, некоторые из этих пептидов могут действовать как ингибиторы пепсина. PGI. Уровень пепсиногена I достоверно коррелирует с количеством главных клеток в слизистой тела желудка. В случае тяжелого атрофического гастрита происходит потеря главных клеток, что приводит к снижению PGI. Клетки, секретирующие PGII, представлены практически в каждой железе желудка и Бруннеровых железах двенадцатиперстной кишки (ДПК). Сывороточный уровень пепсиногена II отражает состояние СОЖ. В таблице 1.3.4 показано распределение пепсиногенов у человека.

Таблица 1.3.4

Распределение пепсиногенов в организме человека

	Пепсиноген I	Пепсиноген II
Тело и дно желудка	+	+
Антральный отдел желудка	-	+
Двенадцатиперстная кишка	-	+
Сыворотка	+	+
Моча	+	-
Семенная жидкость	-	+

Таким образом, PGI секретируется исключительно в области тела и дна, а PGII – во всех отделах желудка. Поэтому определение уровней PGI и PGII, а также их соотношение может дать важную информацию о гистологическом и функциональном состоянии слизистой желудка.

Секреция G17 регулируется с помощью отрицательной обратной связи между рН в просвете желудка и уровнем пепсиногенов. Наличие высокого уровня G17 при низком уровне PGI подтверждает диагноз атрофического гастрита с поражением тела желудка. С другой стороны, высокая концентрация G17 может свидетельствовать о гипо- и ахлоргидрии. Напротив, низкий уровень сывороточного G17 отмечается у пациентов с атрофическим гастритом в антральном отделе желудка, чаще всего такие пациенты инфицированы Hр. Низкие концентрации G17 и PGI могут подтверждать распространенное поражение стенки желудка. При аномально низком уровне сывороточного G17 повышается риск развития рака и язвенной болезни желудка.

Определение уровня гастрин-17 в сыворотке или плазме крови может использоваться при верификации диагноза гипергастринемий неопухолевой или опухолевой природы. При последних – уровень G17 не увеличивается, в отличие от форм гастрин с высокой молекулярной массой. Определение G17 также может быть использовано для наблюдения за пациентами, подвергшимися хирургическому лечению. После успешной антрумэктомии секреция G17 в общий кровоток практически равна нулю.

Наблюдается четкая положительная зависимость между уровнями PGI в сыворотке крови и выработкой соляной кислоты. Большинство заболеваний верхних отделов желудочно-кишечного тракта являются кислотозависимой патологией и адекватное лечение состоит в назначении препаратов, ингибирующих желудочную секрецию. Таким образом, определение PGI дает информацию об эффективности лечения этих заболеваний. Большое количество исследований показало значительное повышение уровня PGI у пациентов с неатрофическим Hр-ассоциированным гастритом. Тем не менее, для объективной оценки уровня PGI важно исключить факторы, способные влиять на его секрецию, например, ингибиторы протонной помпы. Согласно некоторым сообщениям, уровень PGI повышен у курящих и потребляющих алкоголь, особенно у людей не инфицированных Hр.

В настоящее время серологический метод «ГастроПанель» уже используется в клинической практике для выявления групп высокого риска развития хронического атрофического гастрита (ХАГ), но, до настоящего момента, остаются не изученными взаимосвязи изменения данных показателей с пренеопластическими изменениями СОЖ (метаплазией, дисплазией), а также гистологическими критериями и тканевой экспрессией онкопротеинов (Ki-67, Vcl-2, p16, HER-2/neu).

Выявление *Helicobacter pylori*

Многочисленными исследованиями в последние два десятилетия доказана и общепризнанна роль хеликобактерной инфекции в патогенезе кислотозависимых заболеваний и рака желудка. Международное агентство

по изучению рака (МАИР) отнесло *Helicobacter pylori* (Hр) к канцерогенам первой группы (IARC, 1994).

В таблице 1.3.5 представлены результаты выявления Hр-инфекции у участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС, госпитализированных в клинику ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова в 2007-2008 гг. с диагнозом хронический гастрит. Возраст обследованных больных варьировал от 41 до 76 лет. Средний возраст пациентов составил $56,7 \pm 0,7$ лет.

Были использованы иммуноцитохимический (ИЦХ), гистологический, серологический метод и ПЦР. Результат считался положительным при условии выявления антител IgG к Саg А антигену Hр (серологическое исследование) и положительных результатов в любых двух методах прямого определения Hр.

Таблица 1.3.5

Частота выявления Hр по данным лабораторного анализа (n=113)

Антитела IgG к Саg А антигену Hр	Гистологическое исследование	ИЦХ	ПЦР	%
хеликобактерный гастрит				
+	+	+	+	64,6
+	+	+	-	3,0
+	-	+	+	10,6
нехеликобактерный гастрит				
+	-	-	-	7,1
-	-	-	-	14,7

В результате такого подхода к диагностике Hр-инфекции было установлено, что хронический хеликобактерный гастрит встречается у 78,2 % участников ЛПА на ЧАЭС.

Нехеликобактерный гастрит установлен у 21,8 % пациентов, при этом у 14,7 % пациентов Hр не был идентифицирован ни одним из методов анализа, а у 7,1 % – выявлялись только антитела к Hр, что может быть связано с внежелудочной локализацией микроорганизма. Известно, что желудочно-кишечный тракт начинается с ротовой полости и миграция микроорганизмов, особенно при высоком титре антител, является доказанным фактом. Согласно современным представлениям, Hр отводится роль в развитии негастродуоденальной патологии, ассоциированной с обнаружением очагов колонизации, например, в небных миндалинах, слюне, мягком налете (Kusano K., 2007) и десневых карманах (Кравцов В.Ю. и др., 2008).

Из представленных данных следует, что серологическое исследование уровня антител не дает ложноотрицательных результатов.

Для исключения ложноположительных результатов выявления Hp-инфекции совместно с серологическим определением уровня антител методом выбора следует считать иммуноцитохимический анализ Hp.

Бактериальные клетки Hp существуют в двух вариантах – в виде спиралевидных форм и в виде кокковых форм. Иммуноцитохимический анализ используется для подтверждения кокко-бациллярного диморфизма Hp. Кокковые формы Hp по сравнению со спиралевидными формами переносят более широкий диапазон pH (Nilsson H. et al., 2002) и более устойчивы к неблагоприятным факторам и антибиотикам (Axon A. et al., 1996; Brenniaglia M. et al., 2000), при этом они не утрачивают вирулентность (Sisto F. et al., 2000; She F. et al., 2003).

Концентрация антител IgG к CagA антигену Hp при хеликобактерном гастрите составила $109,1 \pm 5,9$ EIU (EIU – иммуноферментные единицы) и достоверно отличалась от группы не инфицированных Hp пациентов ($42,9 \pm 5,8$ EIU, $p < 0,05$).

Среди всех тестов особого внимания заслуживает метод количественного определения антител к Hp в сыворотке крови, поскольку только этот метод позволяет провести интегральную оценку инфицированности организма. Показано, что данный способ диагностики Hp имеет наилучшее сочетание показателей клинической чувствительности и клинической специфичности (97,5 и 80,0 % соответственно), что отражает его высокую диагностическую информативность наравне с иммуноцитохимическим методом в случаях первичной диагностики инфекции (Ильчишина Т.А., 2008).

Проведенный анализ данных определения IgG к Hp показал, что у пациентов с преобладанием кокковых и бациллярных форм Hp титр антител выше, чем в случае обнаружения только бациллярных форм Hp (рис. 1.3.1).

Степень обсемененности спиралевидными формами Hp была сопоставима с обсемененностью гастробиоптатов при обнаружении кокко-бациллярного диморфизма. Возможно, что кокки сохраняют антигенный профиль Hp.

Поскольку сочетание кокковых и бациллярных форм выявлено у пациентов до назначения эрадикационной терапии, можно считать кокковые формы одной из фаз жизненного цикла бактерии. Известно, что трансформация Hp в кокковые формы наблюдается в поздних фазах существования микроорганизмов.

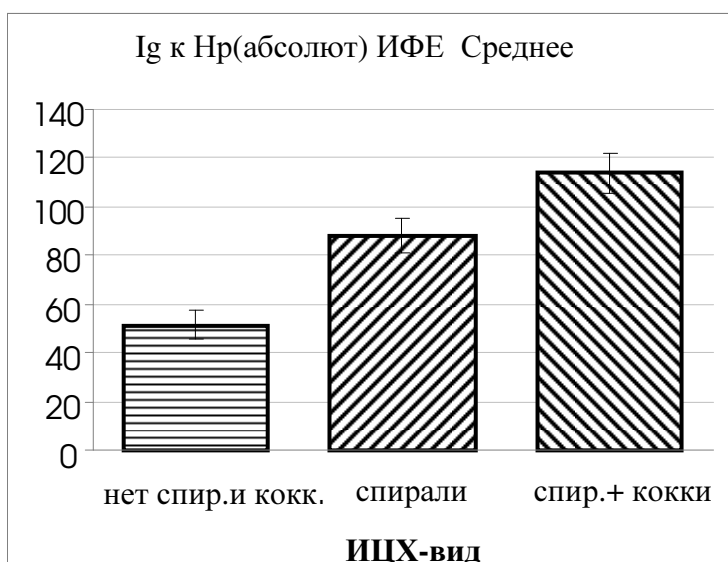


Рис.1.3.1. Изменение уровня IgG в зависимости от морфологической формы Нр

Гистологическое и иммуногистохимическое исследование слизистой желудка

При гистологическом исследовании невозможно определить ранние проявления опухолевой трансформации клетки, которые еще не привели к видимым структурным изменениям. Тогда как, применение иммуногистохимического метода исследования тканей позволяет выявить нарушения в клетке, происходящие уже на молекулярном уровне. К основным молекулярно-биологическим маркерам прогноза опухолевой трансформации относятся регуляторы клеточного цикла, апоптоза и пролиферации.

Комплексное гистологическое исследование гастробиопсий у ЛПА на ЧАЭС включало использование рутинной гистологической окраски гематоксилином и эозином, гистохимических окрасок (окраска альциановым синим при рН 2,5 и рН 1, окраска по Гимза) и иммуногистохимической реакции (определение Ki-67, Bcl-2, p16, HER-2/neu).

На основании гистохимической окраски по Гимза, позволявшей идентифицировать вегетативные формы бактерий *H.pylori*, хронический хеликобактерный гастрит был диагностирован в 62,7 % случаев (106 пациентов), что несколько ниже, чем при использовании нескольких диагностических методов. Полученные разногласия в выявлении Нр в биоптатах могут быть связаны с особенностью получения гистологических срезов, когда часть хеликобактерий неадгезированных на поверхности слизистой оболочки, в процессе приготовления вымывается и теряется. Второй возможной причиной расхождения результатов может являться учет гистологом только характерных («крыло чайки») форм, а также

сложностями в интерпретации кокковых форм, которые могут не относиться к Нр (Garcia-Amado M. et al., 2007).

Дисрегенераторные изменения эпителия слизистой желудка, проявившиеся различными типами кишечной метаплазии и атрофии слизистой желудка, были выявлены в 49 % случаев (108 пациентов).

Дисплазия желудка умеренной степени (гастральная интраэпителиальная неоплазия высокой степени) была выявлена в 0,37 % случаев (1 пациент). Рак желудка был выявлен в 0,9 % случаев (1 пациент).

Наиболее распространенным типом кишечной метаплазии в группе обследованных лиц (n=109) была тонкокишечная (полная) метаплазия, которая выявлялась при окраске альциановым синим при рН 2,5 в 36,6 % случаев.

Чаще всего тонкокишечная метаплазия выявлялась в антральном отделе желудка, также широко была представлена сочетанная локализация тело-антрум (табл. 1.3.6).

Таблица 1.3.6
Локализация тонкокишечной метаплазии в СОЖ

Локализация в СОЖ	Кол-во пациентов	Частота выявления, %
Тело желудка	7	6,4
Антрум желудка	19	17,4
Сочетанная локализация	14	12,8

Толстокишечная (неполная) метаплазия с позиций современных взглядов является следствием нарушения процессов дифференцировки, пролиферации и апоптоза в данной клеточной линии, что позволяет клеткам под влиянием различных мутагенов подвергаться злокачественной трансформации.

Этот тип метаплазии был диагностирован в 6,9 % случаев (7 пациентов). Чаще всего кишечная метаплазия выявлялась в антральном отделе желудка – 52,5 % всех случаев кишечной метаплазии. Тогда как фундальный отдел был поражен только в 16 % случаев. Распространенная диффузная кишечная метаплазия с поражением антрума и тела выявлялась в 31,5 % случаев.

По результатам гистологического исследования ХАГ выявлен в 27,8 % случаев (31 человек из 109). Преимущественно наблюдались атрофические изменения в антральном отделе и сочетанные – в теле и антруме.

Большое значение в ранней диагностике злокачественных заболеваний желудка имеет иммуногистохимическое исследование Ki-67 – маркера пролиферативной активности, белка p16, онкобелков Vcl-2 и HER-

2/neu. Маркер пролиферативной активности. Антиген Ki-67 является ядерным регуляторным белком. Антитела к антигену Ki-67 реагируют с пролиферирующими клетками (G1, S, G2 и M стадии клеточного цикла). Антиген Ki-67 не выявляется в покоящихся клетках (стадия G0). Имеющиеся на сегодняшний день результаты свидетельствуют о том, что антиген Ki-67 может быть успешно использован как в оценке пролиферативной активности новообразований, так и в изучении механизмов канцерогенеза.

Белок P16INK4A (CDKN2/MTS1). Ингибитор циклин-зависимой киназы, которая действует как регулятор G1 фазы клеточного цикла, вызывая высвобождение транскрипционных факторов из комплекса с белком ретинобластомы pRb и их активацию (Копнин Б.П., 2008 г.).

Предполагается, что метилирование – главный механизм инактивации белка p16, который может играть важную роль в раннем канцерогенезе желудка. На сегодняшний день известно, что метилированный белок p16 достаточно часто (до 42 %) встречается в различных злокачественных опухолях человека.

Онкобелок Bcl-2 является протоонкогеном человека, локализованным в 18 хромосоме. Роль онкобелка Bcl-2 в развитии злокачественных опухолей до конца неясна. Однако некоторые авторы рассматривают сверхэкспрессию онкобелка Bcl-2 как ранний маркер развития рака желудка (Anagnostopoulos G.K., Stefanou D. et al., 2005). Прогностическая роль обнаружения экспрессии Bcl-2 в раке желудка не ясна. В то же время известно, что обнаружена положительная корреляция между хорошим прогнозом рака молочной железы и легкого и экспрессией онкобелка Bcl-2 (Muller W., Schneiders A. et al, 1998).

Рецептор HER-2/neu является уникальным представителем семейства трансмембранных тирозинкиназных белков. Рецепторы HER-2/neu, связываясь с факторами роста, являются важнейшим звеном регуляторной системы передачи митогенного сигнала. Для раков различных локализаций повышенное содержание этого онкобелка на мембранах опухолевых клеток коррелирует с короткой продолжительностью жизни и является маркером лекарственной резистентности (Weiner D.B., Nordberg J. et al., 1990; Летьгин В.П., 2004).

В слизистой желудка обследованных ЛПА на ЧАЭС Ki-67 был обнаружен в ядрах эпителиоцитов шеечного отдела желез, нижней части желудочных ямок и единичных эпителиальных клеток дна желез желудка. Во всех случаях обследованной группы наблюдался высокий уровень пролиферативной активности – среднее значение Ki-67 составило 78,5 %. Пролиферативная активность эпителиоцитов нарастала с увеличением степени активности хронического хеликобактерного гастрита, а также в случаях с наличием лимфофолликулярной гиперплазии и кишечной метаплазии. В единичных случаях высокая экспрессия Ki-67 была

обнаружена во всех клетках центра фолликула и в диффузно расположенных клетках мантии.

Vcl-2-позитивные клетки представляли собой иммунокомпетентные клетки мононуклеарной инфильтрации и располагались в строме собственной пластинки слизистой, в области желудочных ямок и вдоль верхних отделов желез. Обращает внимание тот факт, что Vcl-2-экспрессия наблюдалась в лимфоцитах мантийной зоны лимфоидного фолликула и в единичных случаях экспрессия была выявлена в центральной зоне фолликула. Степень экспрессии Vcl-2 коррелировала со степенью активности хронического воспаления в слизистой желудка и снижалась с уменьшением количества мононуклеаров в строме.

Экспрессии Vcl-2 в эпителиоцитах слизистой желудка не было обнаружено ни в одном случае из группы обследованных ликвидаторов.

Результаты нашего исследования показали, что экспрессия p16 была обнаружена в 30 % случаев хронического хеликобактерного гастрита с кишечной метаплазией, по 1 случаю у пациентов с наличием дисплазии и рака желудка. Антиген p16 был обнаружен в ядрах и цитоплазме эпителиоцитов метаплазированного и диспластического эпителиев, что, возможно, связано с участием белка в ранних этапах молекулярных нарушений в клетках с опухолевой трансформацией.

Во всех случаях наблюдалась слабая экспрессия онкопротеина, что свидетельствовало о нормальных процессах роста клеток. Очаговое повышение экспрессии на мембране эпителиоцитов наблюдалось в единичных клетках метаплазированного эпителия, что не исключало наличия нарушений процессов пролиферации и клеточного обновления в этой клеточной линии. Сверхэкспрессии онкопротеина в слизистой желудка в нашем исследовании не наблюдалось.

Таким образом, на основании проведенного в 2008 году комплексного исследования гастробиоптатов у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС установлено, что при гистологическом и гистохимическом исследовании для диагностики хеликобактерной инфекции, активности воспаления, выраженности и распространенности атрофии, а также дисрегенераторных изменений (кишечная метаплазия, дисплазия) при хроническом гастрите, помимо «золотого стандарта», требуется применение окрашивания альциановым синим при pH 2,5 для диагностики тонкокишечной метаплазии эпителия и альциановым синим при pH 1,0 для диагностики толстокишечной метаплазии эпителия.

Учитывая данные иммуногистохимического исследования, для диагностики ранних этапов канцерогенеза в желудке на молекулярном уровне целесообразно исследование таких маркеров, как Ki-67 и p16.

Для дифференциальной диагностики лимфофолликулярной гиперплазии при хронических гастритах и MALT-лимфом на ранних этапах целесообразно исследование онкобелка Vcl-2.

Функциональная характеристика кишечной метаплазии при хроническом атрофическом гастрите

В зависимости от инфицированности Нр и выраженности атрофии СОЖ оценивали концентрацию гастрина-17 (G17), пепсиногена I (PGI) и пепсиногена II (PGII).

У пациентов с хроническим гастритом (ХГ) Нр-положительных обнаружены значимые изменения PGI ($p < 0,01$), PGII ($p < 0,001$) и G17 ($p < 0,01$) по сравнению с Нр-отрицательными лицами (рис.1.3.2-1.3.4).

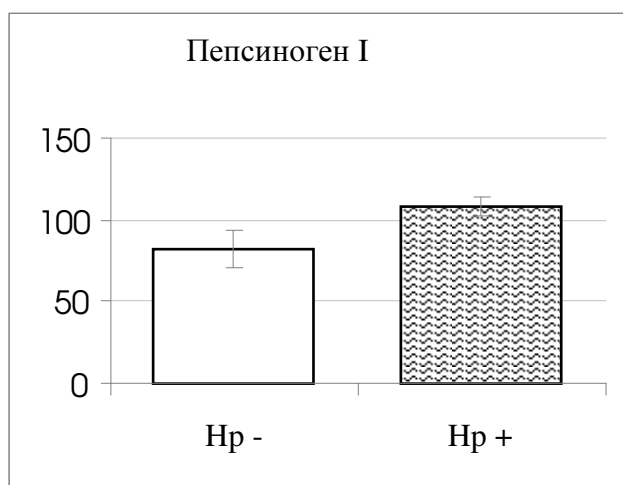


Рис. 1.3.2 Уровень PGI в сыворотке в зависимости от статуса Нр CagA

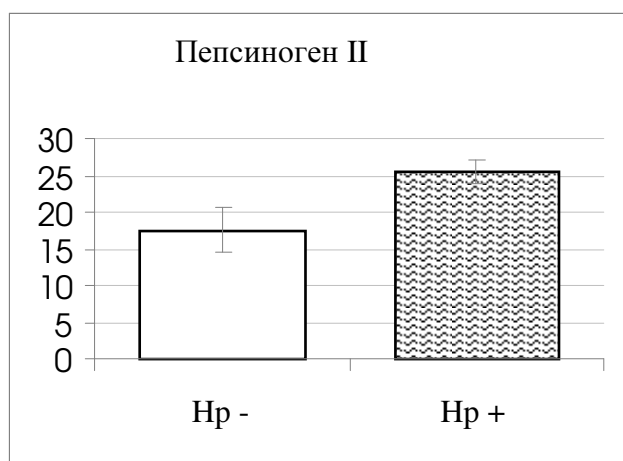


Рис. 1.3.3 Уровень PGII в сыворотке в зависимости от статуса Нр CagA

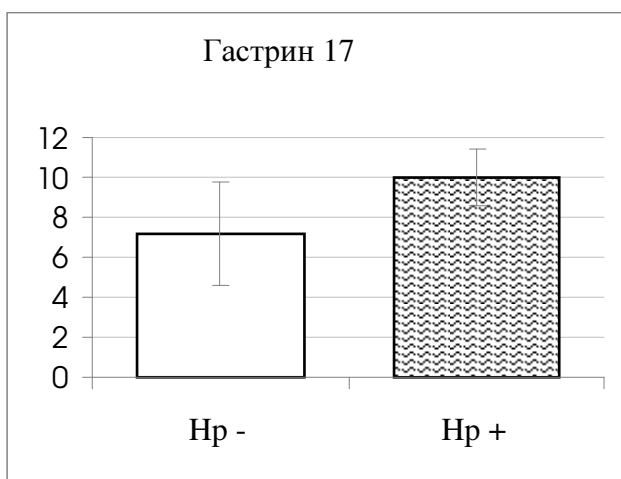


Рис. 1.3.4 Уровень G17 в сыворотке в зависимости от статуса Hр CagA

Значения концентраций PGI, PGII, G17 были достоверно выше у инфицированных Hр CagA.

У Hр-положительных пациентов были выявлены значимые ранговые корреляции Спирмена и γ PGI, PGII, G17 и онкопротеина Ki 67с уровнем IgG (табл. 1.3.7).

Таблица 1.3.7
Ранговые корреляции Спирмена и γ с уровнем IgG у Hр-положительных пациентов

Показатель	Спирмена	γ
PGI	0,230	0,152
PGII	0,229	0,166
G17	0,221	0,149
Ki 67	0,282	0,305

У Hр-отрицательных пациентов ранговые корреляции Спирмена и γ были не значимыми.

При гистологическом исследовании гастробиоптатов показано, что воспалительно-дистрофические изменения СОЖ у ликвидаторов преимущественно локализуются в антральном отделе. Тело желудка поражается реже и в меньшей степени. Воспаление и атрофия не затрагивают зону главных и обкладочных клеток, синтезирующих пепсиноген и соляную кислоту. Выявленное нами усиление образования пепсиногенов может быть опосредовано усилением секреции гастрина при хеликобактерной инфекции. Под воздействием высоких концентраций гастрина усиливается секреция соляной кислоты париетальными клетками, что приводит к повышению концентрации PGII, выделяемого мукоидными клетками, а стимуляция главных клеток – к повышенному выделению PGI.

Влияние Нр на внутрижелудочное рН двойное. С одной стороны, секретируемая им уреазой щелачивает содержимое желудка, с другой – хроническое воспаление в антруме (основное место колонизации Нр) через гастрин-опосредованный механизм стимулирует выработку HCl париетальными клетками. По мере прогрессирования атрофии париетальных клеток рН внутри желудка закономерно повышается.

Имеются веские доказательства того, что Нр непосредственно участвует в управлении сигнальными путями желудочного эпителия и служит триггером процесса гиперпролиферации. Это приводит к нарушению физиологии эпителиоцитов желудка с появлением признаков злокачественной трансформации: активация рецепторов факторов роста; подавление апоптоза; неограниченный репликационный потенциал; усиление ангиогенеза; клеточная диссоциация и тканевая инвазия. Так у Нр-положительных пациентов достоверно повышена продукция онкопротеина Кi 67 – маркера пролиферативной активности (табл. 1.3.8).

Таблица 1.3.8

Продукция онкопротеина Кi 67 в зависимости от Нр статуса

Кi 67, %	Нр-положительные	Нр-отрицательные	Р
покровный эпителий	17,65 ± 3,87 (n=66)	5,00 ± 3,66 (n=24)	0,028
желудочные ямки	78,3 ± 3,05 (n=56)	68,9 ± 3,57 (n=22)	0,003
донные отделы желез	5,36 ± 1,94 (n=56)	0,46 ± 0,31 (n=22)	0,022

Показано достоверное повышение частоты выявления онкопротеина HER-2/neu у Нр-позитивных пациентов, который, по мнению некоторых авторов, принимает участие в передаче митогенного сигнала (рис. 1.3.5).

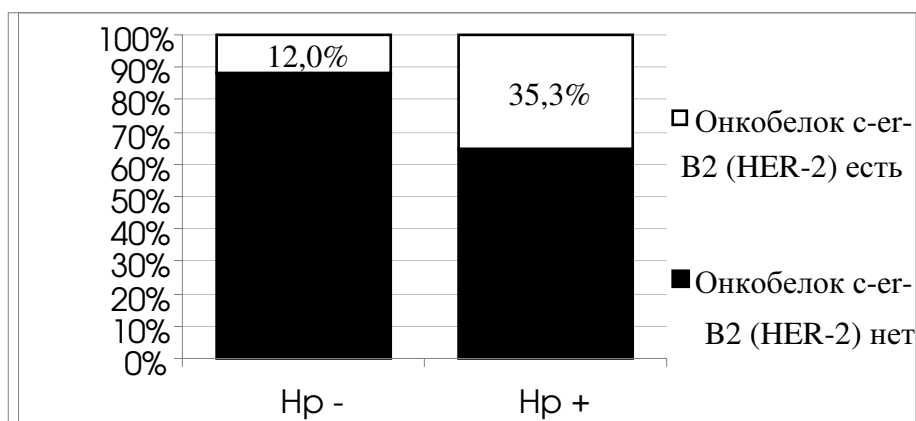


Рис. 1.3.5 Частота выявления HER-2/neu в зависимости от статуса Нр

Значимых отличий между группами Нр-положительных и Нр-отрицательных пациентов по p21 и маркеру апоптоза Bcl-2 не установлено.

На следующем этапе исследования нами были определены концентрации пепсиногена I и II, гастрин-17 методом иммуноферментного анализа у пациентов, колонизированных Нр в зависимости от топографии поражения СОЖ.

Пепсиногены I и II секретируются в просвет желудка, частично всасываются в кровь и могут быть количественно определены в сыворотке крови. Известно, что PGI синтезируется клетками главных желез в теле желудка и является основным маркером изменений СОЖ в этом отделе. Пепсиноген II синтезируется во всех отделах желудка и является показателем воспаления любой этиологии. Гастрин-17 служит тканеспецифическим маркером антрального отдела желудка.

Уровни пепсиногенов (I и II) и гастрин-17 в сыворотке крови количественно отражают состояние всей слизистой оболочки желудка, ее функциональную активность и тяжесть атрофических изменений. Для выявления атрофических изменений СОЖ и нормы использовали критерии, представленные в таблице 1.3.9.

Таблица 1.3.9

Референтные интервалы биохимических показателей в сыворотке крови по данным производителя тест-систем на 2008 г.

Показатель	Референтный интервал, ед.изм.
Пепсиноген I	30 -120 мкг/л
Пепсиноген II	3 – 10 мкг/л
Пепсиноген I/II	3 – 20
Гастрин-17	2 – 10 пмоль/л

Атрофические изменения в теле желудка по результатам гистологического исследования были выявлены у 3-х человек (2,7 %), в антральном отделе – у 19 (16,8 %), мультифокальная атрофия (тело и антрум)– у 9 человек (8,3 %) из 109 ликвидаторов.

Данные по содержанию в сыворотке крови пепсиногена I и II, их соотношения и базального гастрин-17 при опухолевой и неопухолевой патологии СОЖ представлены в таблице 1.3.10.

Среди обследованных нами ликвидаторов (n=109) уровень G17 изменялся от 0,1 до 70,8 пмоль/л и составлял в среднем $10,2 \pm 1,4$ пмоль/л. С увеличением тяжести атрофических изменений в антральном отделе желудка (подгруппа 3), снижается концентрация гастрин-17 (исключая гиперхлоргидрию или другие состояния, способные ингибировать G-клетки). У пациентов с атрофией антрального отдела СОЖ уровень G17

был ниже нормы - 2,0 пмоль/л. Известно, что при высокой кислотности и отсутствии НР-инфекции G17 может не определяться. Нами показана положительная корреляция между уровнем антител к НР и концентрацией G17 в сыворотке крови мужчин-ликвидаторов ($r = 0,221$).

Таблица 1.3.10

Изменение биохимических параметров в сыворотке крови
при опухолевой и неопухолевой патологии СОЖ
у НР-положительных ЛПА (n = 109)

Изменения СОЖ	Число больных	PG I, мкг/л	PG II, мкг/л	PG I/II	G17, пмоль/л
Перстневидноклеточный рак (1)	1	5,5 ***	7,2	0,73 ***	30,3
Атрофия тела (2)	3	13,4 ± 1,8 ***	12,9 ± 0,9	0,99 ± 0,8 ***	25,3 ± 1,3 ***
Атрофия антрума (3)	19	86,3 ± 0,0	2,8 ± 0,0	30,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0**
Атрофия тела и антрума (4)	9	26,4 ± 2,0 ***	16,0 ± 1,6	1,5 ± 0,7 ***	4,4 ± 0,9
Кишечная метаплазия (без атрофии) (5)	30	88,9 ± 2,8	26,1 ± 1,5*	3,4 ± 1,1	11,9 ± 1,4
Нет атрофии и кишечной метаплазии (6)	47	137,7 ± 2,8	24,9 ± 1,5*	5,4 ± 1,1	4,9 ± 1,4

*- различия с подгруппами 1, 2, 3, 4 достоверны, $p < 0,05$;

** - различия с подгруппами 1, 2, 4, 5, 6 достоверны, $p < 0,05$;

*** - различия с подгруппами 3, 5, 6 достоверны, $p < 0,05$.

Концентрации PGII в среднем по группе ликвидаторов (n=109) составляла $24,7 \pm 1,6$ мкг/л. Поскольку PGII вырабатывается во всех отделах желудка, его уровень при наличии инфекции НР повышается независимо от топографии воспалительных изменений в желудке. Повышение концентрации PGII в сыворотке более 10 мкг/л связано с воспалительным процессом любой этиологии в СОЖ. Как следует из данных, представленных в таблице 10, PGII достоверно повышается при кишечной метаплазии (подгруппа 5) и неатрофическом гастрите (подгруппа 6).

Уровень PGI зависит от количества главных клеток тела желудка и является первым маркером атрофии тела желудка. У обследованных нами

пациентов уровень PGI колебался от 1,9 до 269,8 мкг/л (в среднем - $101,4 \pm 5,8$ мкг/л). С увеличением тяжести атрофического гастрита в теле желудка (подгруппа 2) и при мультифокальной атрофии (подгруппа 4), снижаются концентрации не только пепсиногена I, но и соотношения пепсиногена I/II. На основании расчета ROC-характеристик (receiver operating characteristic), приведенных Т. Tiusanen (2006), было показано, что соотношение PGI/II является вторым важным маркером при диагностике атрофии тела желудка. Снижение концентрации PGI менее 30,0 мкг/л и PGI/II менее 3,0 свидетельствуют о выраженной атрофии тела желудка. Третьим диагностическим маркером при атрофическом гастрите тела желудка можно считать G17. Гастрин играет ключевую роль в регуляции кислотопродукции. Уровень гастрин-17 по механизму отрицательной обратной связи зависит от кислотности. Поскольку при атрофическом гастрите тела желудка теряются обкладочные клетки то, чем ниже уровень соляной кислоты, тем выше концентрация G17, что мы и наблюдаем у пациентов подгруппы 2.

Таким образом, определение в сыворотке крови гастрин-17, пепсиногенов I и II и антител к Hp является безопасным способом наблюдения за возможными изменениями в СОЖ. Исходя из полученных результатов, снижение содержания в сыворотке крови пепсиногена I и соотношения пепсиноген I к пепсиногену II, гастрин-17 свидетельствует о наличии у пациентов атрофических изменений СОЖ, что является показанием для назначения эндоскопического исследования. Подобный подход позволит оптимизировать эндоскопическое исследование и забирать биопсийный материал с критических участков СОЖ, первоначально выявленных с помощью лабораторных методов.

Нами установлено, что дополнительный анализ изменения уровня PGIII позволит более эффективно проводить диагностику кишечной метаплазии, а также выявлять пациентов с высоким риском развития пренеопластических изменений СОЖ.

Существует четкая положительная зависимость между уровнями сывороточного PGI и вероятностью выявления язвенной болезни (выработкой соляной кислоты).

Наличие высокого уровня G17 при низком уровне PGI подтверждает диагноз атрофического гастрита с поражением тела желудка. С другой стороны, высокая концентрация G17 может свидетельствовать о гипо- и ахлоргидрии. Напротив, низкий уровень сывороточного G17 отмечается у пациентов с атрофическим гастритом в антральном отделе желудка, чаще всего такие пациенты инфицированы Hp.

Важным методом раннего выявления РЖ и снижения количества «запущенного» РЖ является разработка программы скрининга пациентов. Значимую роль в разработке подобных программ можно отвести иммунохимическим методам, направленным на исследования

функциональной активности СОЖ по результатам анализа показателей периферической крови. Определение уровней PGI и PGI₂, а также их соотношение дает важную информацию о гистологическом и функциональном состоянии слизистой желудка. Исходя из полученных результатов, снижение в сыворотке крови PGI и соотношения PGI к PGI₂ в сочетании с изменением G17 свидетельствует о наличии у пациента атрофических изменений СОЖ; увеличение концентрации PGI₂ выше 20 мкг/л может сочетаться с кишечной метаплазией того или иного типа, что является показанием для проведения эндоскопического исследования с целью исключения опухолевой трансформации слизистой.

Учитывая неравномерность и очаговость распространения пренеопластических изменений в желудке, гистологу зачастую невозможно по нескольким фрагментам СОЖ оценить характер и топографию изменений. Поэтому для постановки морфологического диагноза гастрита патолог должен получить предварительное заключение об изменении биохимических показателей гастрина-пепсиногенов и наличия антител к H_p, что является интегральной оценкой функциональной активности СОЖ.

Функциональная активность слизистой оболочки желудка, как критерий эффективности эрадикационной терапии

Путь развития H_p-инфекции в СОЖ достаточно специфичен, поскольку подобный каскад патологических реакций не свойственен другим возбудителям. Основными компонентами этого воспаления являются лимфоплазмоцитарная инфильтрация СОЖ и эпителия желудка, формирование лимфоидных фолликулов в желудке и повреждение эпителиоцитов. Очаги воспалительной инфильтрации из антрального отдела желудка могут распространяться на тело желудка, атрофия станет мультифокальной и начнется опухолевый рост.

Известно, что исход гастроудоденальных заболеваний, ассоциированных с H_p, зависит от результатов эрадикационной терапии. Однако эрадикация H_p не всегда бывает успешной в связи с генетической предрасположенностью индивидуума, определяющей метаболизм лекарственных средств (Исаков В.А. и др., 2003; Захарова Н.В., 2006), расширением показаний для антибиотикотерапии и ростом антимикробной резистентности (Абдулхаков Р.А. и др., 2002). По этой причине поиск новых лабораторных методов, направленных на скрининг предраковых состояний СОЖ и оценку эффективности эрадикационной терапии H_p у участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС представляется актуальной и своевременной.

В последнее время получила развитие гипотеза (Мироджов Г.К. и др., 2008), согласно которой H_p непосредственно или через цитокины, приводит к нарушению соотношения G-клеток, продуцирующих гастрин, и

D-клеток, продуцирующих соматостатин, играющих важную роль в регуляции функционирования париетальных клеток. Гипергастринемия, обусловленная H_p-инфекцией, вызывает нарастание массы париетальных клеток и повышение кислотной продукции, а также влияет на секрецию пепсиногенов. Успешное проведение антимикробного лечения приводит к нормализации этих показателей.

Под нашим наблюдением находилось 76 мужчин участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС с диагнозом хронический гастрит, проходивших обследование и лечение в клинике №1 ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России в 2007-2008 гг. Возраст обследованных больных варьировал от 41 до 76 лет (средний возраст – $56,7 \pm 0,7$).

Всем пациентам, наряду с общеклиническим обследованием, проводилось эндоскопическое исследование с биопсией из антрального отдела и тела желудка, а также определение в сыворотке крови гастрин-17 (G17), пепсиногена I и II (PGI, PGI₂) («BIOHIT» GastroPanel®, Финляндия). Диагноз хронического гастрита верифицировался морфологически. Антитела класса IgG к Cag A H_p определяли в сыворотке крови методом ELISA («BIOHIT», Финляндия).

Присутствие антител к H_p свидетельствует об инфицированности организма бактериями. Содержание антител IgG к H_p выше 42 EIU (EIU – иммуноферментные единицы) расценивалось как положительный результат (референтная норма по данным производителя GastroPanel®).

70 больным с хроническим H_p-ассоциированным гастритом проводилась эрадикационная терапия по стандартной схеме I линии, включающая применение омепразола (20 мг 2 раза в сутки), кларитромицина (500 мг 2 раза в сутки) и амоксициллина (500 мг 4 раза в сутки) в течение 14 дней. 6 пациентов без H_p-инфекции получали монотерапию омепразолом (20 мг 2 раза в сутки). Обследование пациентов проводилось в динамике лечения – при поступлении в стационар, через 2 и 12 месяцев после окончания терапии.

Через 2 месяца после окончания лечения все пациенты были разделены на четыре группы. В первую группу (H_p0, n=6) вошли H_p-отрицательные пациенты с хроническим гастритом. Во вторую (Э+, n=31) – пациенты, у которых произошла эрадикация H_p. У пациентов третьей группы (Э+/-, n=19) инфекция выявлялась только ПЦР методом. Четвертую группу (Э-, n=20) составили пациенты, у которых не произошла эрадикация H_p.

С учетом большой роли H_p в отношении развития морфологических и функциональных изменений СОЖ, важно знать о наличии инфекции H_p при обследовании пациентов с хроническим гастритом. Обычно, уровень антител выше у пациентов с хеликобактерным гастритом.

Как следует из данных, представленных в таблице 1.3.11, до лечения в группах пациентов с хеликобактерным гастритом уровень IgG к Hp составлял $109,1 \pm 5,9$ EIU и достоверно отличался от значений в группе Hp-отрицательных пациентов ($p < 0,05$).

Таблица 1.3.11

Динамика изменения уровня IgG Hp (EIU) в сыворотке крови
у пациентов с неязвенной диспепсией до и после лечения
(медианы значений)

Группы	До лечения	Через 2 месяца после лечения	Через 12 месяцев после лечения
HP0	32,5 ^a	25,4 ⁿ	31,6 ^m
Э+	84,7 ^{a1}	66,4 ⁿ¹	49,1 ^{m1}
Э+/-	78,4 ^{a2}	68,1 ⁿ²	31,9 ^{m2}
Э-	115,2 ^{a3}	132,8 ⁿ³	89,7 ^{m3}

Примечание: различия между a3 и a, достоверны ($p < 0,05$); различия между n3 и n, n1, n2, достоверны ($p < 0,05$); различия между m3 и m, m1, m2, достоверны ($p < 0,05$).

Через 2 месяца после лечения в группах (Э+, Э+/-) произошло достоверное снижение уровня антител на 21,6 и 13 %, а через 12 месяцев – на 42 и 59 %, соответственно. Известно, что после успешного лечения инфекции уровень антител к Hp снижается в течение года (приближается к референтной норме), однако граница снижения уровня IgG в настоящее время не установлена. Нами показано, что через год у пациентов (HP0, Э+, Э+/-) уровень IgG был близок к значению 42 EIU. В группе (Э-) уровень антител к *H.pylori* незначительно изменялся в течение всего периода наблюдения, но в целом оставался достоверно высоким по отношению к Hp-отрицательным пациентам. При эффективном лечении Hp-инфекции иммунологический порог IgG не превысил значение 60 EIU (превышение референтной нормы составляло около 20 EIU).

Таким образом, определение антител к Hp представляет собой специфический иммунный ответ микроорганизма. Уровень антител медленно убывает после эрадикации Hp. Минимальные значения обычно достигаются через 12 месяцев после эрадикации Hp. Антитела на минимальном уровне могут сохраняться в течение многих лет, образуя иммунологический рубец, поэтому только один показатель – уровень IgG к HP нельзя рассматривать в качестве надежного маркера эрадикации.

Определение PGI позволяет оценить пептическую секрецию желудка. PGI вырабатывается исключительно секреторными

клетками, локализованными в теле и дне желудка, и его уровень связан с продукцией желудком соляной кислоты. Большинство заболеваний верхних отделов желудочно-кишечного тракта, в том числе, хронический гастрит является кислотозависимой патологией и адекватное лечение состоит в назначении препаратов, ингибирующих желудочную секрецию. Серологическое определение PGI, как малоинвазивный тест, может быть полезно в эффективном лечении этого заболевания.

На рис.1.3.6 показана динамика изменения концентрации PGI в зависимости от результатов лечения Hр инфекции.

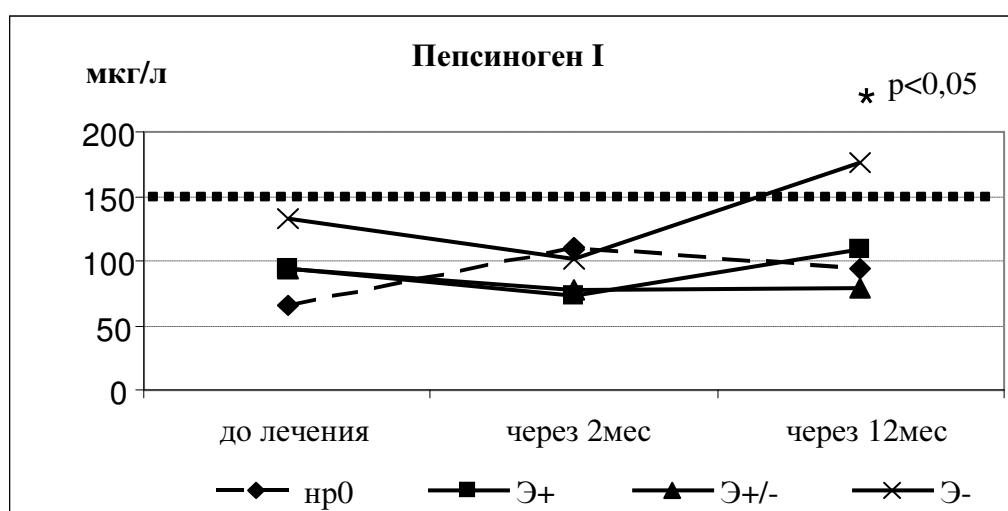


Рис.1.3.6. Уровень пепсиногена I в сыворотке крови у пациентов с хроническим гастритом до и после лечения

Примечание: пунктиром обозначен пороговый уровень пепсиногена I

До лечения уровень PGI в группе Hр0 составлял $66,0 \pm 17,5$ мкг/л и был достоверно ниже, чем у Hр-положительных пациентов (Э+, Э+/-, Э-) – $107,1 \pm 12,9$ мкг/л ($p < 0,05$).

Установлено, что через 2 месяца лечения повышение концентрации PGI сохранилось только в группе Hр0, где проводилась монотерапия ингибитором протонной помпы (ИПП). В группах пациентов с положительными результатами лечения (Э+, Э+/-) и при неэффективной терапии (Э-) к этому моменту отмечалось снижение концентрации PGI в среднем на 20 - 30 % по отношению к базовым значениям.

Через 12 месяцев в группах Hр-отрицательных пациентов и с успешной терапией (Э+ и Э+/-) значения PGI стали соответствовать базовому уровню и не превышали верхний референтный предел 120 мкг/л. У пациентов с персистирующей инфекцией (Э-) через 12 месяцев концентрация PGI значительно повышалась по сравнению с предыдущим периодом наблюдения и составляла $175,8 \pm 18,3$ мкг/л, превышая верхнюю границу референтного диапазона 30 – 120 мкг/л.

Таким образом, нами показано значительное повышение уровня PGI у пациентов с неатрофическим Hр-ассоциированным гастритом. Определение концентрации PGI в отдаленный период (через год наблюдения) является одним из критериев эффективности эрадикации и лечения хронического гастрита. При эффективном лечении значения PGI нормализуются уже через два месяца от начала терапии и остаются на постоянно низком уровне в течение года наблюдения. При неэффективной эрадикации, наоборот, наблюдается кратковременное снижение показателя к двум месяцам наблюдения и резкое повышение в течение года наблюдения. Пороговый уровень для PGI составляет 150 мкг/л, при персистирующей инфекции Hр значения PGI остаются значительно выше этой границы.

Другим серологическим показателем функциональной активности СОЖ является PGI, он вырабатывается во всех отделах желудка и Бруннеровых железах двенадцатиперстной кишки и служит маркером воспаления.

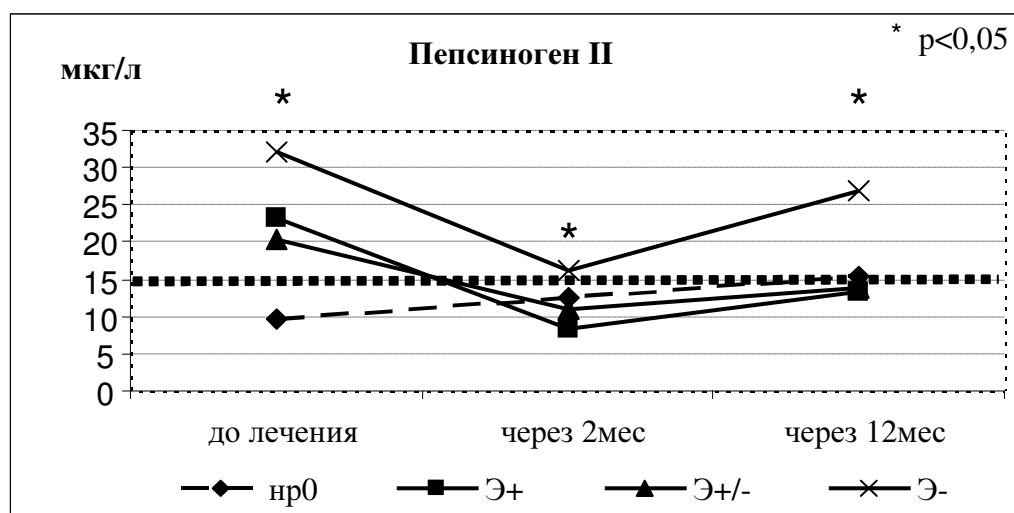


Рис.1.3.7 Уровень пепсиногена II в сыворотке крови у пациентов хроническим гастритом до и после лечения

Примечание: пунктиром обозначен пороговый уровень пепсиногена II

До лечения концентрация PGI так же была достоверно ниже у Hр-отрицательных пациентов (Hр0), чем у Hр-положительных ($p < 0,05$) (рис.1.3.7). На фоне лечения ИПП у Hр-отрицательных пациентов отмечалось незначимое повышение концентрация PGI в течение всего периода наблюдения ($p > 0,05$).

В группах Hр-положительных пациентов (Э+, Э+/-, Э-) концентрация PGI до лечения более чем в два раза превышала референтные значения – 10 мкг/л, а через 2 месяца лечения уровень PGI уменьшался в 1,5–2 раза.

Концентрация PGI₂ в группах (Э+, Э+/-) через 12 месяцев оставалась на уровне нормы и составляла $13,3 \pm 3,52$ мкг/л и $13,9 \pm 8,12$ мкг/л, соответственно, что может свидетельствовать о регрессии воспалительного процесса, а в группе (Э-) увеличивалась до $26,8 \pm 0,56$ мкг/л значительно превышая верхнюю границу референтного интервала 10 мкг/л.

Через год наблюдения при эффективной эрадикации уровень PGI₂ не превышал порогового значения 15 мкг/л. Это значение может быть рекомендовано в качестве критерия оценки лечения в отдаленные сроки.

Таким образом, при наличии H_p-ассоциированного гастрита повышаются уровни пепсиногена обеих групп – PGI₁ и PGI₂. При этом уровень PGI₂ повышается в большей степени (в два и более раз), чем уровень PGI₁. Поскольку PGI₂ вырабатывается во всех отделах желудка, его уровень при наличии H_p инфекции повышается независимо от топографии воспалительных изменений в желудке. У пациентов с успешной эрадикацией H_p инфекции уровень PGI₂ возвращается к референтному уровню через два месяца после лечения. Показана высокая степень корреляции снижения уровня антител к H_p и PGI₂ ($r=+0,89$), поэтому определение PGI₂ целесообразно использовать для верификации эффективности эрадикации H_p.

Следует также отметить, что PGI₂ вырабатывается и при наличии метаплазии, которая часто сочетается с атрофией. У таких пациентов значения PGI₂ остаются в пределах нормы, а уровень PGI₁ снижается, что свидетельствует о повреждении слизистой оболочки тела желудка. Таким образом, атрофический гастрит с поражением тела желудка будет сопровождаться низким соотношением PGI₁/PGI₂. За повышенными значениями PGI₂ часто скрываются предопухольные процессы, что требует назначения дополнительного инструментального обследования пациентов.

Секреция гастрина-17 регулируется с помощью отрицательной обратной связи между рН в просвете желудка и уровнем пепсиногенов. Уровень гастрина изменяется под фармакологическим воздействием ингибиторов протонной помпы, что и продемонстрировано ниже.

Данные изменения уровня гастрина-17 представлены на рис.1.3.8.

Концентрация гастрина выше при неатрофическом гастрите, связанном с H_p-инфекцией. Концентрации гастрина-17 в группах H_p-отрицательных и H_p-положительных пациентов повышались, но значительно не отличались в динамике наблюдения. В группах (Э+, Э+/-) динамические изменения G-17 происходили в диапазоне референтных значений от 2 до 10 пмоль/л.

Через 2 месяца после лечения в группах (H_p0, Э-) наблюдалась тенденция повышения концентрации G17, через год концентрация гастрина-17 стала соответствовать норме. Таким образом, об эффективности эрадикационной терапии H_p по результатам определения

гастрина мы можем судить только в отдаленный период – через год наблюдения.

Наличие высокого уровня гастрин при низком уровне PGI подтверждает диагноз атрофического гастрита с поражением тела желудка. Низкие уровни циркулирующего гастрита, исключая гиперхлоргидрию, могут подтверждать наличие атрофического гастрита в антральном отделе желудка, особенно при наличии активной Hp-инфекции.

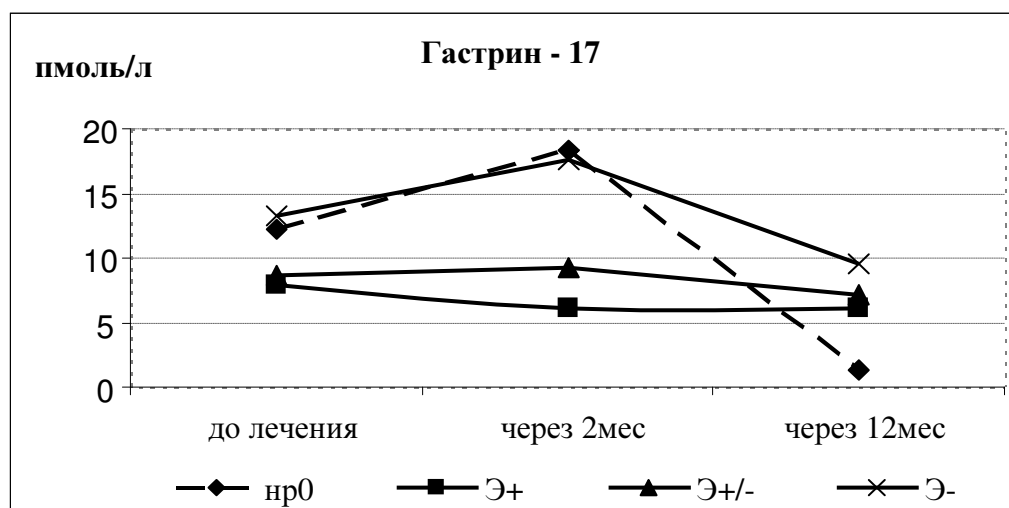


Рис. 1.3.8. Уровень гастрин-17 в сыворотке крови у пациентов с хроническим гастритом до и после лечения

Таким образом, при успешной эрадикации Hp все показатели GastroPanel, а именно, PGI и II, G17 и антитела к Hp существенно снижаются у всех пациентов, что может служить критерием эффективности эрадикационной терапии Hp в отдаленный период. При эффективной эрадикации Hp пороговые значения для уровня IgG к Hp составляют менее 60 ЕIU. Пороговый уровень антител после эрадикации Hp превышает референтную норму на 20 ЕIU и представляет собой «иммунологический рубец», который может сохраняться у пациентов в течение нескольких лет. Пороговый уровень для пепсиногена I равен 150 мкг/л, а пепсиногена II – 15 мкг/л. Наиболее чувствительным и специфичным среди всех параметров в отношении эффективности эрадикации Hp является нормализация уровня PGI.

Динамика изменения сывороточных показателей PGI, PGI и антител к Hp у пациентов, у которых Hp-инфекция после лечения была выявлена только методом ПЦР, наблюдалась аналогичная динамика изменения этих показателей как и для пациентов у которых произошла эрадикация Hp (Э-). Результаты GastroPanel позволяют клиницистам определить тактику дальнейшего обследования и лечения пациентов с хроническим гастритом.

1.4. ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ КАК ОДИН ИЗ МЕХАНИЗМОВ ФОРМИРОВАНИЯ СОСУДИСТЫХ РЕАКЦИЙ У ЛИЦ ОПАСНЫХ ПРОФЕССИЙ

Лица опасных профессий, прежде всего спасатели и пожарные, часто оказываются в условиях высокого психоэмоционального напряжения, их труд при ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций (ЧС) относится к категории опасных и характеризуется высоким риском потери здоровья и жизни.

Известно, что длительные физические и нервно-психические нагрузки в процессе профессиональной деятельности могут приводить к существенному изменению функционального состояния и работоспособности человека. Имеется большое количество исследований, подтверждающих высокую распространенность дезадаптивных расстройств у спасателей МЧС России (Никифоров А.М. и др., 1999; Мордвицкая И.Ю., 2000; Михайлова Т.В., 2002; Шойгу Ю.С., 2003).

Психоэмоциональный стресс ведет к истощению адаптационных резервов организма и оказывает существенное влияние на состояние сердечно-сосудистой системы, одновременно являясь и независимым фактором риска, и усиливая традиционные факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. (Rugulies R., 2002; Rosengren A. et al., 2004; Brooks B. et al., 2005).

Профессиональная деятельность лиц опасных профессий в условиях психоэмоционального напряжения вызывает целый ряд функциональных и структурных изменений в сердечно-сосудистой системе человека. При этом механизмы такого воздействия еще не достаточно изучены.

Согласно современных воззрений, эндотелий сосудов является одной из главных и наиболее уязвимых мишеней патологического воздействия психоэмоционального стресса, приводящего к развитию и прогрессированию сердечно-сосудистой патологии. В связи с этим, изменение состояния эндотелия сосудов является чувствительным индикатором этого воздействия, позволяющим судить об уровне сердечно-сосудистого риска человека.

В последние годы представления о функциях эндотелия значительно расширились. Дисфункция эндотелия рассматривается как важное звено в патогенезе сосудистых заболеваний. Нарушение функции эндотелия является одним из универсальных механизмов в развитии атеросклероза, ишемической болезни сердца, гипертонической болезни и цереброваскулярной патологии.

Эндотелий сосудов участвует в регуляции сосудистого тонуса, гемостаза, ангиогенеза, иммунного ответа, адгезии лейкоцитов и осуществляет барьерную функцию.

Согласно современным представлениям, нарушение определенных функций эндотелия зависит от характера локализации патологических процессов, преобладания определенных медиаторов воспаления и наличия гемодинамических сдвигов. При различных сосудистых заболеваниях способность эндотелиальных клеток высвобождать сосудорасширяющие факторы уменьшается, тогда как образование сосудосуживающих факторов сохраняется или увеличивается, то есть формируется состояние, определяемое как дисфункция эндотелия (Петрищев Н.Н., 2003).

Исследования последних лет показали наличие многих факторов риска, способствующих развитию дисфункции эндотелия: гиперхолестеринемия, гипергомоцистеинемия, курение, диабет и др., которые реализуют свое повреждающее действие главным образом через усиление воспаления и окислительных процессов. При этом также нарушается баланс между факторами, оказывающими потенциально ангиопротекторное, вазодилатирующее, антипролиферативное действие и вазоконстриктивными, тромботическими, пролиферативными факторами (Пушкарева Т.А. и др., 2008).

Эндотелий является наиболее функционально активным компонентом сосудистой стенки не только вследствие стратегического расположения между ней и кровотоком, но и благодаря способности вырабатывать различные медиаторы, регулирующие тонус сосудов, процессы роста сосудов, функцию тромбоцитов и процессы коагуляции (Berkenboom G. et al., 1998). Эндотелий является одновременно мишенью и медиатором сердечно-сосудистых болезней, изменения его функций наблюдают уже на ранних стадиях заболевания (Garcia-Palmieri M., 1997).

Взаимосвязь между состоянием эндотелия и сердечно-сосудистыми заболеваниями комплексная. На ранних стадиях заболевания нарушения функции эндотелия умеренно выражены и избирательны, касаются в основном базального уровня или рецептор-опосредованного высвобождения эндотелиальных медиаторов. Высвобождение же медиаторов в ответ на изменение напряжения стенки сосуда происходит уже на более поздних этапах болезни (Anderson T. et al., 1998).

Медиаторы эндотелиального происхождения можно разделить на группы (Петрищев Н.Н., 2003):

- факторы, постоянно образующиеся в эндотелии и выделяющиеся из клеток в базолатеральном направлении или в кровь (NO, простаглицлин);

- факторы, накапливающиеся в эндотелии и выделяющиеся из него при стимуляции (фактор Виллебранда, Р-селектин, тканевой активатор плазминогена);
- факторы, синтез которых в нормальных условиях практически не происходит, но резко увеличивается при активации эндотелия (эндотелин-1, молекулы клеточной адгезии, Е-селектин);
- факторы, синтезируемые и накапливающиеся в эндотелии либо являющиеся мембранными белками (рецепторами) эндотелия (тромбомодулин, рецептор протеина С, тканевой фактор).

Как правило, в конкретной клинической ситуации имеет место уменьшение синтеза или повышение содержания в крови самых разных эндотелиальных факторов. Все эти изменения принято называть как дисфункция эндотелия.

При наиболее распространенных сердечно-сосудистых заболеваниях, в частности, ИБС, выявляют функциональные и структурные изменения взаимодействия между кровью и стенкой сосуда. Вследствие этого возникает вазоконстрикция, повышается взаимодействие клеток крови со стенкой сосуда, активируются механизмы коагуляции, миграции и пролиферации гладкомышечных клеток сосудов.

По своему действию все вазоактивные вещества, вырабатываемые эндотелием, делят на вазоконстрикторы и вазодилататоры (табл.1.4.1).

Таблица 1.4.1

Основные эндотелиальные факторы, влияющие на тонус сосудов (Петрищев Н.Н., 2003)

Вазоконстрикторы	Вазодилататоры
Эндотелин-1 Тромбоксан А ₂ 20-НЕТЕ Ангиотензин II	Оксид азота (NO) Эндотелиальный гиперполяризующий фактор Простаглицлин Адренормедуллин Моноксид углерода Натрийуретический пептид Анандамид АТФ, АДФ Кинины

Суммарный эффект (вазоконстрикторный или вазодилатирующий) для многих веществ зависит либо от их дозы, либо от типа и локализации сосудов, на которые эти вещества

действуют. Эндотелий-зависимая вазодилатация связана с синтезом в эндотелии преимущественно трех основных веществ: оксида азота (NO), эндотелиального гиперполяризующего фактора (EDHF) и простаглицлина. Эндотелий-зависимая вазоконстрикция связана с синтезом в эндотелии эндотелина-1(ЭТ-1) и 20-НЕТЕ.

В широком смысле, эндотелиальная дисфункция может быть определена как неадекватное (увеличенное или сниженное) образование в эндотелии вазоактивных веществ. Ее причинами могут быть разные факторы: ишемия/гипоксия тканей, возрастные изменения, свободнорадикальное повреждение, гиперхолестеринемия, гипергомоцистеинемия, действие цитокинов, эндогенная и экзогенная интоксикация, гипергликемия, гипертензия (Петрищев Н.Н., 2003). Поскольку оксид азота - NO принимает участие в регуляции практически всех функций эндотелия, в последнее время сложилось более узкое представление о дисфункции эндотелия как о состоянии эндотелия, при котором имеется недостаточная продукция NO. Важнейшим фактором нарушения образования и/или биодоступности NO является избыточное образование свободных радикалов, что наблюдается при многих заболеваниях.

После открытия роли эндотелия в регуляции сосудистой функции возникла необходимость в разработке клинико-лабораторных критериев для оценки эндотелиальной вазомоторной функции и выраженности эндотелиальной дисфункции. В настоящее время описаны методы определения практически всех вазоактивных веществ, однако не все показатели имеют одинаковую диагностическую ценность, поскольку значительная часть маркеров дисфункции эндотелия образуется не только в эндотелии, но и в других клетках. Выявление клинически значимых показателей дисфункции эндотелия и установление взаимосвязи с соматической патологией является перспективным направлением исследований.

Гомоцистеин как критерий оценки дисфункции эндотелия

Наряду с гиперхолестеринемией в качестве важного фактора, повреждающего эндотелий, выступает гипергомоцистеинемия. Высокие концентрации гомоцистеина в крови способны изменять структуру эндотелия.

Гомоцистеин (ГЦ) – серосодержащая аминокислота, промежуточный продукт реакций, ведущих к альтернативному образованию метионина и цистеина. Уникальность гомоцистеина заключается в том, что эта аминокислота является единственным источником метильных групп в организме человека.

Содержание ГЦ в плазме крови здорового человека находится в интервале от 5 до 15 мкмоль/л. Veland P. и соавт.(2000) выявлены вариации в уровнях ГЦ в плазме крови в зависимости от возраста и пола пациентов. Установлено, что уровень ГЦ натошак у женщин ниже, чем у мужчин. Отмечена положительная корреляция уровня ГЦ с возрастом, как у женщин, так и у мужчин (Verhoev P. et al., 1999). Это может быть объяснено большей мышечной массой у мужчин, так как известно, преобладающая часть ГЦ формируется при участии креатин-креатинина. Гипергомоцистеинемия диагностируется при уровне ГЦ более 15 мкмоль/л. Согласно рекомендациям Американской ассоциации кардиологов, уровень гомоцистеина 10 мкмоль/л следует считать пограничным у лиц с наличием факторов риска сосудистых заболеваний или принимающих лекарственные препараты, влияющие на метаболизм ГЦ (метотрексат, карбамазепин, противосудорожные препараты и др.).

Повреждающее действие ГЦ на эндотелий сосудов, по данным исследований *in vitro* и экспериментах на лабораторных животных, может проявляться в виде прямого подавления их роста, за счет усиления пролиферации гладкомышечных клеток, увеличения синтеза коллагена при индукции гомоцистеином металлопротеиназы-1, усиления окисления липопротеидов низкой плотности.

В клинических исследованиях были выявлены следующие проатерогенные эффекты повышенного уровня гомоцистеина (Хубутя М.Ш., 2004):

- развитие дисфункции эндотелия – ухудшение эндотелий зависимой вазодилатации;
- повышение уровня циркулирующих молекул адгезии;
- влияние на процесс тромбообразования;
- усиление синтеза холестерина в клетках печени;
- усиление перекисного окисления липидов.

В условиях гипергомоцистеинемии наиболее признанной является гипотеза окислительного повреждения сосудов. При высоких уровнях ГЦ нарушается сосудорасширяющая функция эндотелия. Установлены два механизма влияния гипергомоцистеинемии на биодоступность NO в стенке сосудов: за счет нарушения синтеза оксида азота и нарушения его активности. ГЦ, как и другие тиоловые соединения, обладает прооксидантной активностью, благодаря наличию в их составе SH – групп. Природа окислительного стресса при гипергомоцистеинемии – это аутоокислительные реакции, приводящие к образованию окисленных форм NO - пероксинитритов, не обладающих вазодилатирующими свойствами. Пероксинитриты способствуют окислению апоВ-100 в

липопротеинах низкой плотности (ЛПНП). ГЦ также нарушает нормальную продукцию NO эндотелиальными клетками.

При окислительном стрессе, инициированном гипергомоцистеинемией, происходит активация ядерного фактора NFκB. В результате активации NFκB в плазме крови повышается уровень провоспалительных цитокинов, увеличивается экспрессия молекул адгезии, тканевого фактора, металлопротеиназы-9.

ГЦ усиливает образование дисульфидных производных белков; в мембранах клеток и межклеточном пространстве накапливаются ЛПНП и липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП); уменьшается продукция серосодержащих гликозаминогликанов, что приводит к снижению эластичности стенки сосудов, активируются процессы пролиферации гладкомышечных клеток (Шевченко О.П., 2004).

Таким образом, гипергомоцистеинемия оказывает повреждающее действие как на стенку сосудов, понижая ее эластичность, так и на систему свертывания крови, создавая условия для атеросклеротических изменений в сосудах и повышенного тромбообразования.

Многочисленные исследования показали, что высокий уровень ГЦ тесно связан с рядом сердечно-сосудистых заболеваний. Известно, что распространенность заболеваний сердечно-сосудистой системы у участников ЛПА на ЧАЭС в 2-4 раза превышает показатели контрольной группы той же возрастной категории.

Нами обследовано 75 мужчин ЛПА на ЧАЭС с метаболическим синдромом. Метаболический синдром, отличавший этих больных, является важным фактором прогрессирования и течения сердечно-сосудистых заболеваний у пострадавших от воздействия комплекса факторов радиационной катастрофы людей. Средний возраст пациентов был $59,68 \pm 0,92$ лет. Концентрация ГЦ в плазме крови ЛПА составляла $15,5 \pm 0,98$ мкмоль/л, медиана (Me) – 13,35 мкмоль/л, что превышало установленную дискриминационную норму для данного показателя. Динамическое исследование через 2 месяца после назначения патогенетической терапии гипотензивным препаратом микардисом (антагонистом рецепторов ангиотензина II) существенно не повлияло на метаболизм ГЦ и его концентрация достигла $16,45 \pm 1,03$ мкмоль/л при Me – 14,4 мкмоль/л.

Вторую группу ЛПА составили 65 человек, у которых ГБ и ИБС были осложнены дисциркуляторной энцефалопатией (ДЭ). Концентрация ГЦ в этой группе также превышала 10 мкмоль/л. Нельзя исключать, что к повышению уровня ГЦ у мужчин-ликвидаторов приводит курение, поскольку никотин снижает содержание в крови пиридоксальфосфата (витамина B6). Поскольку

гипергомоцистеинемия поддается коррекции с помощью приема фолиевой кислоты и витаминов группы В, своевременное выявление повышенного содержания ГЦ в плазме крови ликвидаторов может способствовать снижению риска осложнений от сосудистых заболеваний.

Эндотелин-1 и его клиничко-прогностическое значение в оценке эндотелиальной дисфункции

Одними из наиболее мощных вазоактивных веществ являются эндотелиальные пептиды эндотелины. Все эндотелины составляют семейство пептидов, включающих в себя 3 представителя (эндотелин-1,2,3), каждый из которых представляет собой пептид, состоящий из 18 аминокислот. Эндотелины изначально синтезируются в виде пептида предшественника - пре-эндотелина, подвергаясь затем превращению в Big-эндотелин. Big-эндотелин превращается в активную форму под действием эндотелин-превращающего фермента.

Эндотелин вызывает вазоконстрикцию, действуя на эндотелиновые рецепторы типа А. Меньшая часть эндотелина, взаимодействуя с эндотелиновыми рецепторами типа В, стимулирует синтез NO и вызывает вазодилатацию. Таким образом, один и тот же медиатор регулирует две противоположные сосудистые реакции (сокращение и расслабление) в результате взаимодействия с разными типами рецепторов.

Биологические эффекты эндотелина-1 в организме человека представлены в таблице 1.4.2 . (Ergul A., 2002).

Эндотелин-1 оказывает действие через фосфоинозитольный механизм, а также повышая чувствительность сократительного белка гладкомышечных клеток сосудов к кальцию цитоплазмы. Эндотелин-1 также является потенциальным фактором роста гладкомышечных клеток, хемоаттрактантом для моноцитов и играет роль в выработке толерантности к нитроглицерину. Кроме того, было показано, что ангиотензин-2 стимулирует выработку эндотелина-1 *in vitro* и *in vivo*, что позволяет говорить о роли эндотелина как посредника в реализации гипертензивного эффекта ангиотензина-2. Кроме того, важно отметить, что эндотелин-1 потенцирует эффекты таких вазоконстрикторов, как серотонин и норадреналин в человеческих артериях (коронарные и внутренние грудные артерии). (Volta S. et al., 1999).

Эндотелин-1 относится к тем эндотелиальным факторам, синтез которых в нормальных условиях практически не происходит, однако резко увеличивается при активации эндотелия, что в свою очередь служит показателем дисфункции эндотелия (Петрищев Н.Н., Власов Т.Д., 2003).

Таблица 1.4.2

Биологические эффекты эндотелина-1
(Ergul A., 2002)

Органы/системы	Эффект
Кровеносные сосуды	Стойкая вазоконстрикция
	Клеточный рост
	Ремоделирование и отложение коллагена
	Стимуляция выброса NO и простаглицлина через ET _B R
Сердце	Положительный ино- и хронотропный эффект в физиологических условиях
	Увеличение потенциала действия
	Гипертрофия
	Снижение сердечного выброса in vivo
Легкие	Бронхоконстрикция
	Выведение эндотелина-1
Почки	Повышение сосудистого сопротивления
	Снижение скорости клубочковой фильтрации и почечного кровотока
	Натрийурез и диурез через тубулярные ET _B R
Нейроэндокринные эффекты	Стимуляция секреции предсердного натрийуретического пептида, ренина, альдостерона, катехоламинов

Синтез ЭТ-1 регулируется рядом факторов, которые имеют важное значение в функционировании сердечно-сосудистой системы. Например, такие факторы как пульсовое растяжение стенки сосуда, ее повреждение и рН усиливают выработку эндотелина-1. Физическая нагрузка и гипоксия повышают его миокардиальную экспрессию. Окисленные ЛПОНП, глюкоза, инсулин и тромбин стимулируют синтез эндотелина-1. Также синтез ЭТ-1 стимулируют такие вазоконстрикторы, как ангиотензин-2, катехоламины, факторы роста и цитокины. Оксид азота, простаглицлин, эстрогены и предсердный натрийуретический пептид ингибируют синтез эндотелина-1.

Уровень эндотелина-1 в сыворотке повышается при ряде заболеваний, таких как застойная сердечная недостаточность и инфаркт миокарда, а секреция эндотелина усиливается под действием гипоксии и ангиотензина-2. Обнаружено, что эндотелиальные и миокардиальные уровни ЭТ-1 повышаются при состояниях, связанных с ростом клеток данного типа. Имеющиеся на сегодняшний день данные позволяют предположить, что одной из патофизиологических ролей ЭТ-1 может быть местная вазоконстрикция в ответ на повреждение, в то время как возможна и общая вазоконстрикторная роль при ряде заболеваний.

В целом ряде исследований показано, что активация эндотелина-1 приводит к гипертрофии мелких артерий и фиброзу сосудов. Пролиферация гладкомышечных клеток и миграция клеток, стимулируемые ЭТ-1, могут также вносить вклад в активацию медиаторов воспаления, молекул адгезии (межклеточная молекула адгезии-1 и сосудистая молекула адгезии-1) и хемокинов (моноцитарный протеин-хемоаттрактант-1). Макрофаги продуцируют цитокины в ответ на активацию эндотелина-1, и последующая воспалительная реакция является следствием дисфункции эндотелия. В аорте и магистральных артериях стимуляция продукции ЭТ-1 отчасти происходит под действием повреждения эндотелия, гипертензии, окисленных ЛПНП и окислительного стресса. Все эти процессы ведут к прогрессированию сосудистых заболеваний и атеросклероза (Izzo J. et al., 2003).

В настоящее время ЭТ-1 рассматривается как маркер ИБС, острого инфаркта миокарда, атеросклеротического повреждения сосудов, АГ, преэклампсии и эклампсии, почечной сосудистой патологии, ишемических повреждений мозга, неинфекционных легочных заболеваний, сахарного диабета (Романовская Г.А. и др., 2005). ЭТ-1 играет важную роль в патологических процессах, возникающих после острой ишемии и реперфузии миокарда. У пациентов с развившимся инфарктом миокарда уровень циркулирующего в крови ЭТ-1 возрастает с течением времени после начала инфаркта, что имеет плохое прогностическое значение.

В одном из исследований проводилось определение взаимосвязей между уровнем ЭТ-1, изменениями липидного обмена и маркерами «окислительного стресса», которые в комплексе могут характеризовать функциональное состояние эндотелия. Проведенные исследования больных стенокардией напряжения разного функционального класса позволили выявить прямую корреляцию между уровнем эндотелина-1, общим холестерином, триглицеридами, ЛПНП и показателями перекисного окисления липидов (ПОЛ). Обратная корреляция установлена с ЛПВП (Суворов А.В., Горева В.В., 2002).

Особенно важен тот факт, что экспрессия гена ЭТ-1 и его синтез стимулируются повышенным содержанием липопротеидов низкой плотности. Повышенные концентрации эндотелина-1 обнаружены в атеросклеротических бляшках сосудов человека, что говорит о том, что ЭТ-1 может играть важную роль в патогенезе атеросклероза и ишемической болезни сердца (Volta S. et al., 1999).

Таким образом, имеющиеся на сегодняшний день клинические данные убедительно свидетельствуют о том, что эндотелиновая система активируется при ряде сердечно-сосудистых заболеваний, демонстрируя, таким образом, важную роль эндотелина-1 в механизмах развития дисфункции эндотелия, а, следовательно, и его высокую прогностическую значимость в клинической практике. В то же время, очевидно, что механизмы формирования дисфункции эндотелия еще далеки от полного понимания и требуют дальнейшего изучения.

Активность симпатической нервной системы и уровни норадреналина и ЭТ-1 в плазме в ответ на психоэмоциональный стресс исследовались у лиц с семейным анамнезом артериальной гипертензии. Было показано, что эти параметры повышались в ответ на стресс в большей степени у лиц с отягощенным семейным анамнезом по артериальной гипертензии, по сравнению с лицами с неотягощенным анамнезом (Noll G., Wenzel R. et al., 1996).

В связи с этим ряд исследователей высказали гипотезу о том, что эндотелин-1, или так называемый “стресс-протеин”, выбрасывается в кровь в период стресса, вызывая вазоконстрикцию, повышение артериального давления и возможное снижение притока крови к миокарду (Петрищев, 2003).

Кроме того, было показано, что лица мужского пола имеют более высокие уровни эндотелина-1 как в нормальных условиях, так и после стрессорного воздействия по сравнению с лицами женского пола. Так же были выявлены этнические различия – у афроамериканцев, по сравнению с европейцами, наблюдались более высокие концентрации эндотелина-1 (Treiber F. et al., 2002)

Эти данные могут играть важную роль в объяснении половых и этнических различий в распространенности сердечно-сосудистых заболеваний. Кроме того, приведенные в данном разделе обзора результаты исследований позволяют сделать предположение о том, что лица, имеющие повышенный уровень ЭТ-1 в крови, как в нормальных условиях, так и в стрессовых ситуациях, более склонны к развитию артериальной гипертензии, причем в более раннем возрасте по сравнению с лицами с нормальным содержанием ЭТ-1. И, наоборот, лица, подвергающиеся частым эпизодам психоэмоционального стресса, сопровождающимся целым рядом

функциональных изменений в организме, в том числе повышением уровня эндотелина-1, подвержены большому риску развития сердечно-сосудистых заболеваний. Спасатели МЧС относятся именно к такой группе лиц, что обуславливает необходимость проведения у них исследований в данном направлении.

Результаты определения содержания эндотелина-1 в плазме крови у спасателей МЧС и ЛПА на ЧАЭС

Использование в клинко-диагностической практике методов, включающих в себя оценку состояния эндотелия сосудов путем исследования способности артерий к вазодилатации, а также содержания в крови ряда эндотелиальных факторов, может играть важную роль в донозологической диагностике сердечно-сосудистых заболеваний. Это особенно актуально у лиц, чья профессиональная деятельность связана с повышенным психоэмоциональным и физическим напряжением. Одной из таких категорий лиц являются спасатели МЧС России. Их профессиональная деятельность, сопряженная с высоким риском для жизни и более выраженным воздействием факторов стресса по сравнению с представителями других профессий, предъявляет повышенные требования к состоянию организма, в том числе к функционированию сердечно-сосудистой системы, а также усиливает влияние других факторов сердечно-сосудистого риска.

При этом на сегодняшний день спектр лабораторных методов, используемых при обследовании спасателей, в основном включает в себя показатели, направленные на диагностику уже сформировавшейся патологии, что не позволяет эффективно проводить первичную профилактику сердечно-сосудистых заболеваний.

Было обследовано 67 человек личного состава поисково-спасательных формирований МЧС России, из них 49 человек (73 %) личного состава Северо-Западного регионального поисково-спасательного отряда (СЗРПСО), проживающих на территории Санкт-Петербурга и Ленинградской области и 18 (27 %) спасателей центрального аэромобильного отряда (ЦАМО) (г. Москва). Все обследованные были мужчины в возрасте от 18 до 55 лет. Средний возраст составил $32,9 \pm 1,23$ года. Средний стаж обследованных составил $5,55 \pm 0,4$ лет.

Принимая во внимание тот факт, что спасатели МЧС подвергаются регулярному воздействию эпизодов острого психоэмоционального стресса в ходе выполнения своих профессиональных задач, а также их частое нахождение в режиме ожидания и в условиях повышенной опасности для жизни, можно

говорить о том, что воздействие психоэмоционального стресса на их организм носит хронический характер.

Обобщенные данные о содержании эндотелина-1 в плазме крови у спасателей представлены в таблице 1.4.3 и на рис. 1.4.1.

Таблица 1.4.3

Содержание эндотелина-1 в плазме крови у спасателей

Группы спасателей	Количество спасателей абс. (%)	
	с уровнем эндотелина-1 $\leq 0.63 \pm 0.14$ фмоль/мл (норма)	с уровнем эндотелина-1 – (выше нормы)
ЦАМО	16 (88 %)	2 (12 %)
СЗРПСО	10 (77 %)	3 (23 %)
Всего	26 (84 %)	5 (16 %)

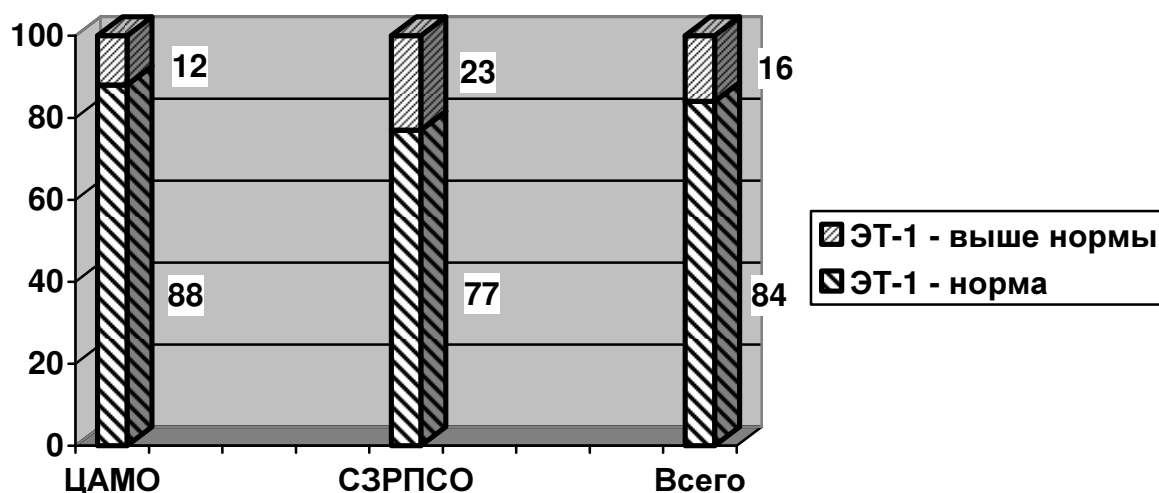


Рис. 1.4.1. Распределение спасателей в зависимости от уровня эндотелина-1 в плазме крови

Как видно из полученных данных, у 16 % спасателей выявлено повышенное содержание эндотелина-1 в плазме крови. При этом, хотя среди спасателей СЗРПСО повышенный уровень эндотелина-1 встречается почти в 2 раза чаще в % соотношении, чем в группе спасателей ЦАМО, статистический анализ не показал достоверных различий по данному показателю между двумя группами ($p > 0.05$) (рис. 1.4.2).

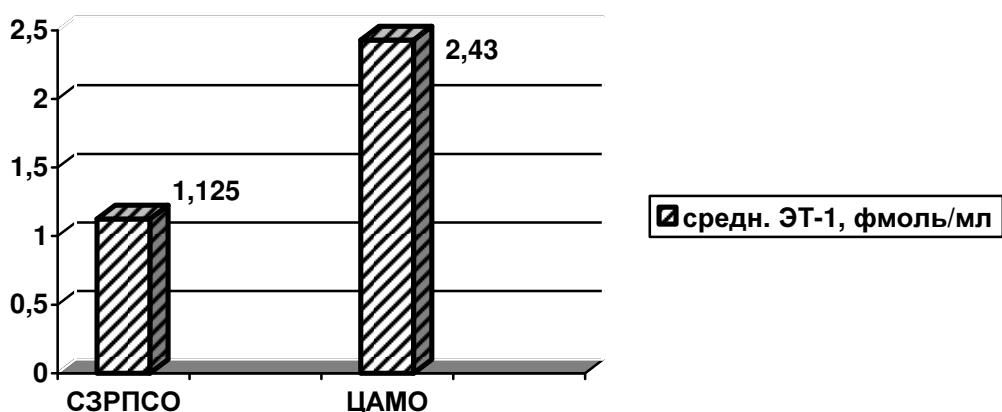


Рис. 1.4.2. Средние значения уровня эндотелина-1 (фмоль/мл) в плазме крови у спасателей СЗРПСО и ЦАМО

Однако, в то же время, среднее значение содержания эндотелина-1 у спасателей оказалось существенно выше, чем в группе сравнения (рис. 1.4.3).

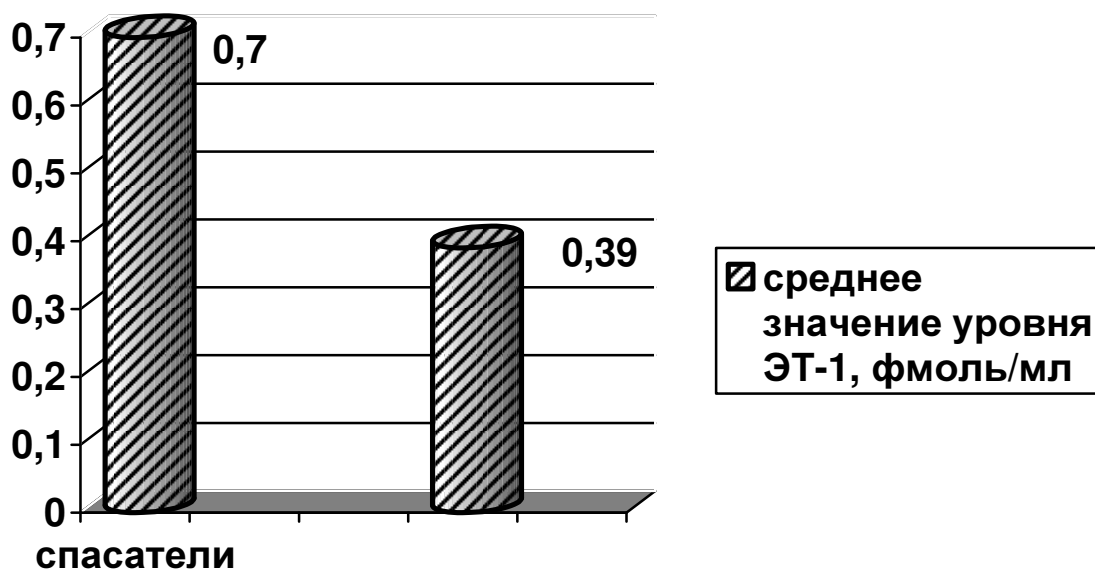


Рис. 1.4.3. Средние значения уровня эндотелина-1 в плазме крови у спасателей и в группе сравнения ($p < 0.05$)

В группе сравнения среднее значение содержания эндотелина-1 в плазме крови составило $0,39 \pm 0,1$ фмоль/мл, в то время как у обследованных спасателей $0,7 \pm 0,28$ фмоль/мл.

При проведении статистического анализа зависимости между степенью прироста диаметра плечевой артерии в ответ на реактивную

гиперемии и содержанием эндотелина-1 в плазме крови у спасателей выявлена статистически значимая корреляция, носящая отрицательный характер ($p < 0.05$, коэфф. корреляции Пирсона $r = -0.3445$, коэфф. ранговой корреляции Спирмена $s = -0.35$, коэфф. ранговой корреляции $\gamma = -0.25$), что отражает тенденцию к более высокому содержанию эндотелина-1 в плазме у спасателей со сниженной вазомоторной функцией.

Выявленная зависимость между двумя измеряемыми показателями характеризует достаточно высокий уровень их достоверности в качестве выбранных методик для оценки функционального состояния эндотелия сосудов у спасателей.

Статистический анализ корреляционных связей между уровнем эндотелина-1 в плазме и исследуемыми факторами сердечно-сосудистого риска выявил статистически значимую зависимость между уровнем эндотелина-1 и индексом массы тела, а также наличием факта курения и количеством выкуриваемых в день сигарет.

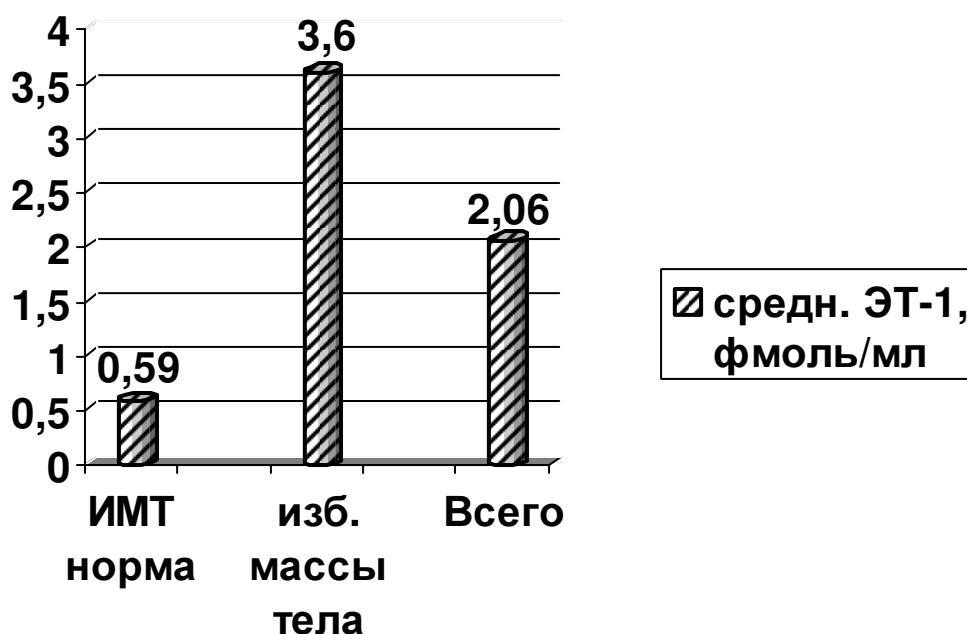


Рис. 1.4.4. Распределение спасателей по среднему значению уровня эндотелина-1 в плазме в зависимости от индекса массы тела ($p < 0.05$).

Зависимость между уровнем эндотелина-1 и индексом массы тела носит положительный характер и отражает тенденцию к повышению уровня эндотелина-1 в плазме крови у спасателей с

избыточной массой тела (и ожирением) по сравнению со спасателями с нормальной массой тела ($p < 0.05$, критерий Хи-квадрат Пирсона, M-L, Фишера). Полученные данные представлены на рис.1.4.4.

Анализ полученных данных у обследованных нами спасателей показал не только высокую частоту встречаемости нарушений функционального состояния эндотелия сосудов (по результатам исследования вазомоторной функции плечевой артерии, содержания эндотелина-1 и молекул адгезии сосудистого эндотелия в плазме крови) у спасателей, но и ее прямую зависимость от стажа работы в поисково-спасательных формированиях и ряда факторов сердечно-сосудистого риска. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей, показавших важную роль дисфункции эндотелия в формировании повышенного сердечно-сосудистого риска и в механизмах патологического воздействия психоэмоционального стресса на сердечно-сосудистую систему человека.

Следует отметить, что по результатам обзора отечественной и зарубежной литературы, на сегодняшний день практически не выполнялось исследований подобного рода, связанных с изучением состояния эндотелия сосудов у спасателей наряду с оценкой факторов сердечно-сосудистого риска, что обуславливает отсутствие возможности сравнить полученные нами данные с результатами других исследований. Интересно, что выявленные нами нарушения функционального состояния эндотелия сосудов у спасателей встречаются с наибольшей частотой в группе со стажем работы более 7 лет, что согласуется с данными другого исследования у спасателей (Бигунец В.Д., 2004), где было показано, что наибольшее напряжение адаптационных механизмов и снижение резервных возможностей сердечно-сосудистой системы встречается именно у спасателей со стажем работы более 7 лет.

Выявленная прямая зависимость показателей функционального состояния эндотелия сосудов от ИМТ, демонстрирует, что у спасателей с избыточной массой тела дисфункция эндотелия встречается достоверно чаще, чем у спасателей с нормальной массой тела, что согласуется с концепцией о традиционных факторах сердечно-сосудистого риска, где избыточной массе тела и ожирению отводится ведущая роль, и подтверждается результатами больших рандомизированных клинических исследований. (Leiter L.A., Abbott D., 1999; Neter J., Stam B., 2003; et al.).

Установленная обратная корреляция между такими показателями состояния эндотелия сосудов как вазомоторная функция плечевой артерии и уровень эндотелина-1 в плазме крови является логичным и закономерным подтверждением наличия эндотелиальной дисфункции у обследованных спасателей, а также

свидетельствует о правильности и точности выбранных критериев в оценке состояния эндотелия, поскольку по мере снижения степени прироста диаметра плечевой артерии в ответ на реактивную гиперемия (ухудшение вазомоторной функции) закономерно возрастает содержание эндотелина-1 в плазме крови.

При этом отсутствие корреляции исследованных показателей эндотелиальной дисфункции, наряду с наличием их корреляции с ИМТ, признаками гипертрофии левого желудочка и стажем работы спасателем, может говорить о более высокой чувствительности данных показателей по сравнению с уровнем холестерина, традиционно назначаемым при проведении диспансеризации у данной категории лиц.

Отсутствие достоверных различий по уровню эндотелина-1 между двумя группами спасателей – СЗРПСО и ЦАМО – может свидетельствовать об одинаковом уровне сердечно-сосудистого риска среди спасателей этих групп.

Таким образом, на основе полученных данных можно заключить, что использование методов оценки функционального состояния эндотелия сосудов у спасателей, и, в частности, содержания эндотелина-1 в плазме крови, является достаточно перспективным и целесообразным при определении уровня сердечно-сосудистого риска в интересах донозологической диагностики сердечно-сосудистых заболеваний.

Приведем некоторые лабораторные данные, полученные нами при обследовании в отдаленный период после аварии мужчин – ЛПА с сосудистой патологией, проходивших углубленное обследование в клинике ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России в 2008 г. (табл.1.4.4).

Использование широкого спектра лабораторных методов позволило выявить эндотелиальную дисфункцию на разных патогенетических стадиях развития процесса повреждения сосудистой стенки. У 70-75 % обследованных наблюдалась гипергомоцистеинемия ($ГЦ > 10$ мкмоль/л), которая способна инициировать и повреждать эндотелий, формируя окислительный стресс. Подтверждением вовлечения такого механизма в патогенез сердечно-сосудистой патологии у мужчин – ЛПА служат данные о содержании hsCRB в сыворотке крови. Для коронарного риска принят дискриминационный уровень его содержания до 2,5 мг/л. В обследованных нами группах ЛПА содержание hsCRB у 42-55 % пациентов превышало этот уровень, а у 22-25 % он был выше верхней границы референтного интервала (5,0 мг/л). hsCRB служит маркером воспаления, в том числе и воспаления в сосудистой стенке, что способствует нарушению ее целостности и повышению ее адгезивных свойств.

Таблица 1.4.4

Показатели дисфункции эндотелия у ЛПА
с сосудистой патологией и в контрольной группе

Показатель	Контрольная группа (n=42)	ГБ и ИБС (n=76)	ДЭ (n=71)
Возраст, лет	44,0 ± 1,62	59,68 ± 0,92	57,26 ± 1,06
ГЦ, мкмоль/л	9,92 ± 0,84	15,53 ± 0,98*	14,24 ± 0,63*
hsCRB, мг/л	2,52 ± 0,82	4,01 ± 0,55*	4,23 ± 1,03*
ЭТ-1, пмоль/л	1,62 ± 0,75	5,46 ± 0,37*	5,61 ± 1,63*

Примечание: * - различия с группой контроля достоверны, ($p < 0,05$); hsCRB – высокочувствительный С-реактивный белок; ДЭ – дисциркуляторная энцефалопатия.

Наиболее важным вазоконстрикторным пептидом является ЭТ-1. В физиологических концентрациях он вызывает высвобождение факторов релаксации, а в более высоких – активирует рецепторы на гладкомышечных клетках, стимулируя стойкую вазоконстрикцию. В норме медиана (Me) эндотелина-1 составляет 0,86 фмоль/мл. У 80-85 % обследованных наблюдалась незначительная экспрессия ЭТ-1 и только у 5 % - концентрация ЭТ-1 была повышена и лежала в интервале 25 – 30 фмоль/мл. Выраженная митогенная активность ЭТ-1 в отношении клеток эндотелия и гладкомышечных клеток подтверждается выявлением высоких концентраций молекул клеточной адгезии у 23-27 % ликвидаторов с сосудистой патологией. Показано, что при нарушении эндотелийзависимой вазодилатации, по данным проведения УЗИ плечевой артерии (проба с реактивной гиперемией), уровень ЭТ-1 в сыворотке крови коррелирует со степенью поражения сосудов и тяжестью клинической симптоматики у пациентов.

Для лиц опасных профессий особое значение имеет не только диагноз, но и прогноз состояния здоровья, то есть диагностика профессионального состояния здоровья должна носить донологический характер.

Таким образом, определение лабораторных критериев дисфункции эндотелия (эндотелина-1, гомоцистеина, высокочувствительного С-реактивного белка) в алгоритме обследования пациентов должно занимать важное место.

1.5. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ АДАПТАЦИОННО-РЕГУЛЯТОРНЫХ СИСТЕМ У ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧАЭС В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ .

Авария на 4-ом энергоблоке Чернобыльской АЭС в 1986 г. обусловила необходимость внедрения в практическую медицину новых направлений лабораторной диагностики для оценки факторов риска развития общесоматической патологии после экстремальных экологических воздействий. В решении данной проблемы важное место занимают исследования на системном уровне, связанные, в первую очередь, с изучением гормонально-метаболических показателей ведущей адаптационно-регуляторной системы организма - эндокринной. Известно, что нарушение взаимодействия между центральными и периферическими осями гормональной регуляции может стать причиной формирования болезни (Коваленко А.Н., 1997; Иванов В.К. и др., 1999; Марова Е.И., 1999; Руднев М.И., 1999).

На сегодняшний момент медицинское обеспечение участников ликвидации последствий аварии (ЛПА) на ЧАЭС остается одной из общегосударственных задач (Никифоров А.М., 1996; Цыб А.Ф., 1998; Лушников Е.Ф. и др., 1999). Общая численность ЛПА в России составляет более 300 тыс. человек. По данным Российского государственного медико-дозиметрического регистра (РГМДР) у ликвидаторов зарегистрировано эпидемиологически значимое увеличение таких классов заболеваний, как болезни системы кровообращения, органов пищеварения, эндокриной системы, болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани (Шантырь И.И. и др., 1996, 2008). Среди эндокринных заболеваний преобладают болезни щитовидной железы (Дедов И.И., 1990). В отдаленные сроки после аварии на ЧАЭС возможно увеличение риска развития деструктивных аутоиммунных процессов (Естинбеева М.Ж., 1994) и солидных неоплазий (Иванов В.К. и др., 1999).

Опыт специалистов клиники №1 ФГУЗ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России, далее ВЦЭРМ) (более 15 тыс. обследованных в стационарных условиях в 1992-1999 годах) показал, что структура заболеваний у ЛПА за последние годы изменилась. У ЛПА преобладает полиорганная патология. При этом не решенными остаются вопросы дифференциальной лабораторной диагностики многих из них, поскольку не учитываются особенности формирования патологии у ЛПА, в период, когда

клинические проявления болезни минимальны, нет общепринятой схемы обследования таких пациентов, не сформированы алгоритмы клинико-лабораторного исследования с учетом информативности тестов. В качестве критериев оценки изменений метаболических показателей при сочетанных заболеваниях были использованы общепринятые унифицированные биохимические методы. Однако, этот подход не всегда позволял выявлять нарушения отдельных звеньев адаптационно-регуляторных систем организма.

В настоящее время мало изученными оказались изменения параметров нейроэндокринной системы, которые могли стать основой для формирования соматической патологии у ЛПА; не определялись некоторые физиологически активные вещества (остеокальцин, диоксипиридинолин, паратгормон, опухолеассоциированные антигены), являющиеся специфическими маркерами изменения метаболизма и регуляции организма.

Следовательно, проблема лабораторной верификации соматической патологии у ликвидаторов в отдаленные сроки после аварии на ЧАЭС актуальна для клинической практики.

Успехи клинической лабораторной аналитики, основанные на последних достижениях молекулярной биологии, генной инженерии и биотехнологии, расширили методологические возможности по количественному определению гормонально-метаболических показателей в биологических жидкостях организма. К числу современных лабораторных методов относится иммунохимический анализ, в котором сочетается высокая специфичность и чувствительность определения аналитов.

В настоящее время иммунохимический вид исследований является приоритетно развивающимся направлением клинической лабораторной диагностики, как в нашей стране, так и за рубежом.

Можно выделить два основных направления применения методов иммунохимического анализа в лабораторной медицине: серодиагностика бактериальных и вирусных инфекций и диагностика соматических заболеваний. Второе направление позволяет проводить дифференциальную диагностику, в том числе полиорганной патологии, которая, как правило, развивается у пострадавших в результате воздействия экстремальных факторов техногенных аварий (Дедов В.И. и др., 1993; Коваленко А.Н., 1997).

Применение современных методов иммунохимического анализа позволит разработать критерии оценки функционального состояния

адаптационно-защитных систем организма после воздействия комплекса факторов радиационной катастрофы (КФРК) и дополнит знания о причинно-следственных связях их влияния на здоровье людей.

Известно, что в механизмах адаптационных реакций организма важная роль принадлежит гормонам. Благодаря способности вызывать ответную реакцию и повышать активность имеющихся в тканях ферментов, гормоны регулируют интенсивность процессов обмена и являются наиболее чувствительным индикатором действия на организм факторов внешней среды (экологических, социальных и др.). Нарушение молекулярных механизмов регуляции процессов обмена при недостаточном или избыточном синтезе соответствующих гормонов часто является причиной формирования общесоматической патологии, поэтому на первом этапе исследования мы провели определение гормональных показателей центральной и периферической оси гормональной регуляции среди ЛПА на ЧАЭС в динамике в отдаленные сроки после катастрофы.

Обследуемую группу составили 950 мужчин, принимавших участие в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, средний возраст которых был $41,40 \pm 0,75$ год. На момент аварии возраст 73,1 % ЛПА составлял более 30 лет; 36 % ЛПА - до 30 лет.

Все ЛПА работали на загрязненных радионуклидами территориях с мая 1986 г. по декабрь 1987 г. Доза внешнего облучения у этих лиц колебалась от 2 до 30 сГр., а у 15,1 % ликвидаторов 1986-1987 годов доза облучения не установлена.

В различные сроки после аварии на ЧАЭС обследовано: 570 ЛПА в 1994 г. (7-8 лет после аварии), 295 - в 1995 г. (8-9 лет после аварии), 85 - в 1998 г. (11-12 лет после аварии).

Группу сравнения составили 89 мужчин спасателей ПСО СЗРЦ и «Центроспасс» МЧС России, средний возраст которых был $33,10 \pm 0,69$ года, профессиональный стаж до 13 лет. Они многократно подвергались стрессу, связанному с ликвидацией последствий чрезвычайных ситуаций.

Контрольную группу составили 100 практически здоровых мужчин-волонтеров, проживающих в г. Санкт-Петербурге, средний возраст которых был $37,60 \pm 0,98$ лет. В анамнезе волонтеров не было заболеваний щитовидной железы, репродуктивных органов, желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой, опорно-двигательной систем и контакта с ионизирующим излучением. Они имели благополучное социальное положение и условия жизни.

Материалом для исследования служили образцы сыворотки и плазмы крови, мочи мужчин-ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС,

спасателей поисково-спасательных отрядов (ПСО) МЧС России и здоровых мужчин – волонтеров, находившихся на амбулаторном и стационарном обследовании в клинике №1 ВЦЭРМ, областной клинической больницы и городской больнице ТМО №20 г. Санкт-Петербурга в 1994-2000 гг. Клинико-лабораторное исследование образцов биологического материала проводили на базе НИЛ иммунохимического анализа ВЦЭРМ, проанализировано 12529 образцов.

Основной патологией у обследованных ЛПА, принимавших участие в восстановительных работах на ЧАЭС в 1986-1987 годах, в первые 7-9 лет после аварии, были сердечно-сосудистые и желудочно-кишечные заболевания (46,3 % и 38,9 % соответственно). При этом среди заболеваний ССС гипертоническая болезнь (ГБ) составила 44,8 %, ишемическая болезнь сердца (ИБС) – 29,7 %. В структуре заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ): хронические гастриты – 62,7 %, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки – 23,6 %. Общесоматическая патология у ликвидаторов протекала на фоне выраженных астенических и астенодепрессивных состояний, которые затрудняли диагностику.

Через 11-12 лет после аварии структура заболеваний ЛПА изменилась: увеличился вес сердечно-сосудистой патологии (61,5 %), доля заболеваний системы пищеварения составила 16,6 %. В указанном периоде наблюдали дальнейший рост числа заболеваний ССС и относительное снижение доли заболеваний ЖКТ. Отличительным признаком у ЛПА была большая частота "немых" язв. Патология эндокринной системы или "пограничные состояния" встречались приблизительно у 30 % обследованных ЛПА, доля ликвидаторов с аутоиммунным тиреоидитом (АИТ) составила 15 %, с метаболическими остеопатиями – 21 %, была характерна сочетанная патология. Ожирение, признаки астенизации, вегето-сосудистые расстройства позволили предположить наличие гипогонадизма. Характерным для последних лет, явилось появление онкологической патологии с самой разнообразной первичной локализацией опухолей.

При выборе диагностических наборов для количественного определения гормонов в периферической крови мы придерживались следующих положений: при определении аналитов, имеющих одну антигенную детерминанту, использовали конкурентный вариант гетерогенного ИФА, для определения поливалентных соединений – «сэндвич» вариант ИФА; перекрестное связывание со структурными аналогами, как правило, не наблюдали; чувствительность анализа должна

позволить определять соединения в сыворотке, плазме крови и в моче в физиологическом диапазоне концентраций 10^{-12} - 10^{-6} моль/л; результаты анализов выражали в единицах Международных стандартов ВОЗ; матрикс и биологическая жидкость, в которой проводили анализ, были идентичными; «hook» эффект отсутствовал в широком диапазоне концентраций (100-кратное превышение концентрации наибольшего стандарта); коэффициент вариации внутри и между анализами составлял 3,4-8,5 % во всем диапазоне измерений.

Для оценки аналитической пригодности выбранных нами тест-систем было проведено предварительное испытание проб референтного материала с высоким, средним и низким содержанием исследуемых аналитов. Применительно к результатам лабораторных исследований использованы критерии, установленные ГОСТ 16263-70 и нормативными документами Министерства здравоохранения РФ (Долгов В.В. и др., 1997; Приказ МЗ РФ № 45, 2000).

В основу разработки критериев изменения гормонально-метаболических показателей у ликвидаторов в отдаленном периоде после катастрофы были положены клиничко-лабораторные показатели контрольной группы и группы сравнения.

Исследование гормонально-метаболического статуса в динамике показало, что через 7-8 лет после аварии на ЧАЭС в состоянии гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной, гипоталамо-гипофизарно-гонадотропной и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой эндокринных осей у ликвидаторов 1986-1987 гг. наблюдались достоверные различия ($p < 0,05$) уровней гормонов (повышение концентрации ЛГ, пролактина, эстрадиола) при сравнении с контрольной группой здоровых мужчин-волонтеров (табл. 1.5.1).

Наблюдалась тенденция к повышению концентрации ФСГ, кортизола и снижению продукции тестостерона и T_3 в сыворотке крови у ЛПА. Вместе с тем, у отдельных ЛПА уровень гормонов колебался от границ референтного интервала как в сторону повышения, так и в сторону понижения (табл. 1.5.2).

Были выявлены разнонаправленные изменения уровней гонадотропинов ЛГ и ФСГ, причем у 2,9-4,9 % обследованных ЛПА выявлено снижение секреции ЛГ и ФСГ, что стало клиничко-лабораторным признаком гипогонадизма. Повышение секреции гонадотропных гормонов в ответ на низкое содержание тестостерона зарегистрировано у 2,9 % обследованных. Наиболее часто в сыворотке крови отмечали повышение уровня пролактина (25,9 %), ФСГ (12,2 %), кортизола (6,8 %), а также

понижение уровня T_3 общего (15,9 %) и тестостерона (13,1 %). Близкие результаты по изменению показателей нейроэндокринной регуляции у ЛПА на ЧАЭС в более короткий срок после аварии (спустя 5-6 лет) описаны рядом авторов (Дедов И.И., 1995; Ляско Л.И., 1995; Коваленко А.Н., 1997). Анализ полученных нами данных позволил установить характерные пролонгированные изменения в адаптационно-защитных системах у ЛПА в изучаемый период. Представляется, что установленная закономерность изменения гормональных показателей по основным эндокринным осям регуляции, является результатом воздействия комплекса факторов радиационной катастрофы на ЧАЭС и расценивается как один из признаков экологической дезадаптации организма.

Таблица 1.5.1

Уровни гормональных показателей у ЛПА на ЧАЭС
через 7-8 лет после аварии ($M \pm m$)

Показатели	Контрольная группа	ЛПА
ЛГ, МЕ/л	4,58 ± 1,44	5,60 ± 0,46*
ФСГ, МЕ/л	6,8 ± 1,1	7,20 ± 0,62
Пролактин, мМЕ/л	329,7 ± 12,9	494,9 ± 12,5*
ТТГ, мМЕ/л	1,44 ± 0,47	1,58 ± 0,09
T_4 общ, нмоль/л	107,2 ± 9,1	93,6 ± 1,6
T_3 общ, нмоль/л	1,61 ± 0,25	1,54 ± 0,03
Кортизол, нмоль/л	426,15 ± 5,41	473,5 ± 16,6
Тестостерон, нмоль/л	17,11 ± 2,21	15,07 ± 1,50
Прогестерон, нмоль/л	2,0 ± 0,6	1,50 ± 0,14
Эстрадиол, пмоль/л	110,4 ± 2,5	117,6 ± 0,75*

* - различия с контрольной группой достоверны ($p < 0,05$).

Среди ЛПА через 7-8 лет после аварии в 15,9 % случаев наблюдался синдром «низкого T_3 ».

Тиреоидный статус человека в норме и при патологии, а также механизмы многих физиологических процессов с участием T_4 и T_3 можно объяснить биологической активностью свободных гормонов и количественно оценить путем определения их концентрации (табл. 1.5.3).

Таблица 1.5.2

Изменение гормональных показателей у ЛПА на ЧАЭС
через 7-8 лет после аварии (n=570)

Показатели	Референтный интервал	Повышенные показатели		Пониженные Показатели	
		Абс.	%	абс.	%
ЛГ, МЕ/л	0,5-10	57	10	28	4,9
ФСГ, МЕ/л	0,8-13	70	12,2	17	2,9
Пролактин, мМЕ/л	71-598	148	25,9	–	–
Кортизол, нмоль/л	150-570	39	6,8	–	–
ТТГ, мМЕ/л	0,2-3,2	8	1,4	7	1,1
Т ₃ общ, нмоль/л	1,2-3,1	–	–	91	15,9
Т ₄ общ, нмоль/л	64-147	5	0,88	10	1,8
Тестостерон, нмоль/л	10,1-38,3	–	–	75	13,1
Прогестерон, нмоль/л	0,1-6,0	–	–	–	–
Эстрадиол, пмоль/л	55-220	–	–	–	–

Примечание: «←» – изменение показателя не выходило за границы референтного интервала.

Таблица 1.5.3

Уровень тиреоидных гормонов и ТТГ в сыворотке крови ЛПА
через 7-8 лет после аварии (M ± m)

Показатели	Контрольная группа	ЛПА
ТТГ, мМЕ/л	1,44 ± 0,47	1,58 ± 0,09
Т ₄ общ., нмоль/л	107,2 ± 9,1	93,6 ± 1,6
Т ₄ св., пмоль/л	11,4 ± 2,4	13,8 ± 3,2
Т ₄ общ./ Т ₄ св.	9,72 ± 0,37	6,79 ± 0,52
Т ₃ общ., нмоль/л	1,61 ± 0,25	1,54 ± 0,03
Т ₃ св., пмоль/л	6,21 ± 1,70	7,92 ± 3,20
Т ₃ общ./Т ₃ св.	0,26 ± 0,15	0,190 ± 0,009*

* - различия с группой контроля достоверны (p<0,05).

Исследование уровня Т₃ общ. и биологически активного Т₃ свободного (св.) показало, что снижение Т₃ общ. не сопровождалось синхронным снижением Т₃ св. и было характерно только для ЛПА.

Резервная функция периферической крови организма вносит существенный вклад в тиреоидный гомеостаз. Она заключается в поддержании постоянства поступления тиреоидных гормонов в ткани и обеспечивает стационарный характер гормонального действия. При условиях уменьшения связывающей ёмкости транспортных белков либо аффинитета связывания T_3 общ. с сывороточными белками наступает дисбаланс соотношения T_3 общ. и T_3 св.

Расчеты биохимических индексов соотношения уровней общего и свободного гормона ЩЖ позволяют судить о состоянии резервной функции крови. Биохимическим индикатором буферной ёмкости служит индекс - отношение средней концентрации T_4 общ. к средней концентрации T_4 св. Для обследованных ЛПА этот показатель составил $6,79 \pm 0,52$ и в 1,4 раза был ниже нормы. Можно предположить, что снижение буферной ёмкости происходит за счет изменения концентрации транспортных белков крови. Индекс T_3 общ./ T_3 св. у ликвидаторов равнялся $0,190 \pm 0,009$ и также был в 1,3 раза ниже нормы ($0,26 \pm 0,15$). Индекс T_3 общ./ T_3 св. на порядок меньше индекса T_4 общ./ T_4 св., соответственно он может обсуждаться не в связи с изменением буферной ёмкости периферической крови, а с нарушением транспорта трийодтиронина к тканям.

Следовательно, тиреоидный гомеостаз у ликвидаторов, вероятно, поддерживается за счет снижения аффинитета связывания общего T_3 с транспортными белками, понижения концентрации транспортных белков (буферной ёмкости) крови или изменения механизма доставки биологически активного трийодтиронина периферическим тканям.

Можно предположить, что воздействие комплекса факторов радиационной катастрофы (КФРК) оказало влияние не только на продукцию тиреоидных гормонов, но и непосредственно на механизмы их транспорта. Косвенным подтверждением этому является отягощение течения заболеваний сердечно-сосудистой и пищеварительной систем у ЛПА с синдромом «низкого T_3 » (Струков Е.Л. др., 1994; 1995).

Представленные в таблице 1.5.4 результаты свидетельствуют о нарушении механизмов отрицательной обратной связи T_3 – ТТГ, что может приводить к возникновению автономных тенденций в системе гипофиз – ЩЖ. Повышенный уровень ТТГ создает условия для пролиферации клеток фолликулярного эпителия. При сравнительном анализе уровней пролактина и T_3 общ. было обнаружено, что при эутиреоидном синдроме «низкого T_3 » концентрация пролактина в крови существенно ниже ($p < 0,05$), чем при нормальных уровнях T_3 общ. в крови.

Понижение уровня тиреоидных гормонов в сыворотке крови способствует развитию гиперпролактинемии по принципу отрицательной обратной связи, поскольку стимулятором секреции как ТТГ, так и пролактина является ТРГ. Исходя из вышеизложенного, представляется, что обнаруженная нами закономерность низкий Т₃-низкий пролактин у части ЛПА является парадоксальной.

Таблица 1.5.4

Средние уровни Т₄ общ. и пролактина у ЛПА
в зависимости от уровня Т₃ и ТТГ (М ± m)

Подгруппа ЛПА ¹	Т ₃ общ, нмоль/л	Т ₄ общ, нмоль/л	ТТГ, мМЕ/л	Пролактин, мМЕ/л
1 (n=27)	0,92 ± 0,05*	96,4 ± 5,6	1,31 ± 0,14	336,1 ± 31,6
2 (n=26)	1,23 ± 0,01*	106,6 ± 5,1	1,35 ± 0,15	556,3 ± 41,2***
3 (n=94)	1,79 ± 0,12*	105,1 ± 2,9	1,53 ± 0,08	441,9 ± 42,0***
4 (n=8)	1,03 ± 0,09**	88,8 ± 11,9	6,80 ± 1,42	352,3 ± 47,3
5 (n=10)	1,82 ± 0,14**	104,5 ± 9,9	6,28 ± 0,77	387,5 ± 31,5

Примечание:

¹ – подгруппа 1 (пониженный Т₃ общ.), подгруппа 2 (погранично-низкий Т₃ общ.), подгруппа 3 (нормальный Т₃ общ.), подгруппа 4 (пониженный Т₃ общ., но высокий ТТГ), подгруппа 5 (нормальный Т₃ общ., но высокий ТТГ);

* – различия между подгруппами 1,2,3 достоверны (p<0,01);

** – различия между подгруппами 4,5 достоверны (p<0,05);

*** – различия между подгруппами 1-2, 1-3 достоверны (p<0,05).

От функционального состояния щитовидной железы зависит скорость метаболических превращений стероидных гормонов. Выявленные нами изменения в тиреоидной системе у ЛПА через 7-8 лет после катастрофы не были изолированными и сочетались с изменениями гипофизарно-надпочечниковой и гипофизарно-гонадной систем.

У ликвидаторов с повышенным уровнем Т₄ общ. отмечали достоверное снижение концентрации кортизола (p < 0,05) при сравнении с группой ЛПА, у которых наблюдали синдром «низкого Т₃» (табл. 1.5.5).

Известно, что при гиперфункции ЩЖ усиливается окисление кортизола в кортизон и его концентрация в периферической крови уменьшается. И, наоборот, при снижении функции ЩЖ замедляется обмен

глюкокортикоидов, удлиняется период полураспада кортизола и его концентрация в крови сохраняется высокой. Следовательно, полученные нами данные по количественному определению кортизола у ЛПА с синдромом «низкого Т₃» могут являться результатом влияния тиреоидных гормонов на различные факторы, регулирующие активность ферментов глюкокортикоидного метаболизма.

Влияние гормонов ЩЖ на обмен андрогенов и эстрогенов отличается от их влияния на обмен глюкокортикоидов. У обследованных нами ЛПА с синдромом «низкого Т₃», показаны достоверно низкие уровни тестостерона и эстрадиола ($p < 0,05$).

Таблица 1.5.5

Изменение концентрации гормонов стероидной группы у ЛПА
в зависимости от концентрации тиреоидных гормонов
(7-8 лет после аварии)

Подгруппы ЛПА ¹	Т ₃ общ., нмоль/л	Т ₄ общ., нмоль/л	ТТГ, мМЕ/л	Кортизол, нмоль/л	Тестостерон, нмоль/л	Эстрадиол, пмоль/л
1 (n=91)	1,07±0,19*	105,1±4,7*	1,70±0,03	527,0±7,7	15,4±0,09**	112,4±1,9*
2 (n=45)	2,16±0,31	176,4±1,1**	1,20±0,05	337,0±11,4*	18,14±2,41	118,9±1,7
Здоровые (n=50)	1,65±0,25	107,2±9,1	1,44±0,47	435,9±23,0	17,31±1,65	115,9±3,4

Примечание:

¹ – подгруппа 1 (пониженный Т₃ общ.), подгруппа 2 (повышенный Т₄ общ.);

* различия между подгруппами 1 и 2 достоверны ($p < 0,05$);

** - различия с группой контроля достоверны ($p < 0,05$).

Таким образом, установленные нами изменения во взаимосвязях между регуляцией продукции гормонов ЩЖ и стероидных гормонов на периферии с изменениями секреции гонадотропных гормонов гипофиза могут формировать основу для соматической патологии у ЛПА.

Аналогичный спектр гормональных показателей у ЛПА наблюдали через 8-9 лет после аварии. У ликвидаторов в указанном периоде имелись расстройства нейроэндокринной регуляции, повышение активности глюкокортикоидной функции надпочечников (6,8 %) и высокая частота (более 20 %) гиперпролактинемии и вегето-сосудистой дистонии (34,8 %). Известно, что вегето-сосудистая дистония не является эндокринной

патологией, но часто расценивается как «пограничное состояние» (Иваницкая Н.Ф., 1992; Ляско Л.И., 1995; Сидоренко В.А. 1999).

Сравнительный анализ заболеваемости показал, что основными нозологическими формами у ЛПА через 7-9 лет после аварии на ЧАЭС были болезни сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта; преобладали в различных сочетаниях ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, хронические гастриты, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки. Общесоматическая патология у ликвидаторов протекала на фоне выраженных астенических и астенодепрессивных состояний, которые затрудняли диагностику.

Следовательно, на основании полученных результатов можно сделать вывод, что клиническая манифестация широкого спектра разнообразных заболеваний у ЛПА в отдаленные сроки (через 7-9 лет) наблюдения, этиологически и патогенетически связанных с перенесенным воздействием комплекса факторов радиационной аварии (КФРА) на ЧАЭС, с одной стороны, зависит, а с другой стороны, влечет за собой разноплановые сдвиги в различных звеньях адаптационно-регуляторных и защитных систем организма. Поэтому среди клинико-лабораторных критериев должны быть гормонально-метаболические показатели, корректно отражающие состояние адаптационно-регуляторных систем организма.

Результаты исследования уровней гормонов у ликвидаторов через 11-12 лет после аварии, свидетельствуют, что в большинстве выявленные нами изменения носят устойчивый характер (табл.1.5.6).

Наиболее характерным для этого срока наблюдения явилось повышение среднего уровня пролактина и понижение концентрации тестостерона у ЛПА. Показана нормализация средних показателей сывороточного ТТГ, кортизола и трийодтиронина при сравнении с предыдущим периодом наблюдения (через 7-9 лет). Вместе с тем обнаружены значимые индивидуальные изменения уровня некоторых гормональных показателей относительно референтных интервалов, которые заключались в повышении ТТГ у 14,2 % ЛПА; ФСГ – у 11,8 %; пролактина – у 20 % ЛПА и понижении тестостерона – у 16,5 % ЛПА. Следовательно, в течение всего срока наблюдения за ЛПА (7-12 лет) сохранялось нарушение секреции гипофизарных гормонов и продукции тестостерона, и эти изменения носили устойчивый характер.

При проведении корреляционного анализа внутри всей группы ЛПА достоверной корреляционной связи между концентрациями гонадотропных гормонов и уровнем тестостерона в крови не установлено.

При сравнительном анализе значений концентрации гормонов среди ЛПА с уровнем тестостерона ниже границы референтного интервала (10,1 нмоль/л) в единичных случаях мы наблюдали напряжение гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, направленное на стимуляцию выработки тестостерона.

Таблица 1.5.6

Уровни гормональных показателей у ЛПА
через 11-12 лет после аварии ($M \pm m$)

Показатели	Ед. изм.	Группы сравнения	
		ЛПА	Контрольная группа
ЛГ	МЕ/л	4,17 ± 0,87	4,73 ± 0,89
ФСГ	МЕ/л	6,87 ± 1,20	7,53 ± 1,21
ТТГ	мМЕ/л	1,43 ± 0,26	1,93 ± 0,23
Т ₃ общ.	нмоль/л	1,71 ± 0,63	1,66 ± 0,19
Т ₄ общ.	нмоль/л	111,72 ± 13,32	97,30 ± 6,32
Пролактин	мМЕ/л	402,60 ± 18,00	329,25 ± 21,00
Кортизол	нмоль/л	416,84 ± 25,86	435,90 ± 23,00
Тестостерон	нмоль/л	16,12 ± 1,61	17,31 ± 1,65
Прогестерон	нмоль/л	1,8 ± 0,21	1,90 ± 0,45
Эстрадиол	пмоль/л	119,50 ± 0,44	115,9 ± 3,4

Эти результаты были подтверждены данными клинического обследования: жалобы на нарушение половой функции предъявляли 20 % ЛПА, диагноз гипогонадизм был верифицирован на основании анализа гормонов в 10,6 % случаев. Средний возраст пациентов с гипогонадизмом составил 44,7±1,2 лет и не отличался от группы ЛПА без гипогонадизма. Можно предположить, что у ЛПА с гипогонадизмом происходит нарушение координации гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси на уровне её центрального звена регуляции. Через 11-12 лет после аварии у ликвидаторов сохранились нарушения продукции тиреоидных гормонов. Для этого периода характерно реципрокное изменение уровня трийодтиронина и тироксина (низкий Т₃ – высокий Т₄).

Функциональная активность желез внутренней секреции изменяется с возрастом. В связи с этим, нами была предпринята попытка оценить

влияние КФРА на состояние эндокринного статуса в отдаленном периоде с учетом возраста ЛПА в период работ в зоне ЧАЭС. Для этого мы сформировали три возрастные группы: 1) ликвидаторы, которым на момент работы в 30-километровой зоне было 20-29 лет; 2) – 30-39 лет и 3) – 40-49 лет (табл. 1.5.7).

Анализ уровня гормонов у ЛПА в старшей возрастной группе показал достоверное ($p < 0,05$) инволюционное снижение концентрации T_3 общ и тестостерона. Наряду с этим отмечено повышение уровня T_4 общ и кортизола.

Таблица 1.5.7

Состояние нейроэндокринной системы у ЛПА
через 11-12 лет после аварии, в зависимости от возраста
на момент участия в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС

Показатели	1-я подгруппа 20-29 лет	2-я подгруппа 30-39 лет	3-я подгруппа 40-49 лет
T_3 общ., нмоль/л	1,64±0,15	1,51±0,09	0,97±0,05*
T_4 общ., нмоль/л	105,12±0,90	107,86±1,42	120,10±0,73**
T_3 общ/ T_4 общ.	0,01560	0,01400	0,00802*
ТТГ, мМЕ/л	1,85±0,98	1,93±0,78	1,24±0,59
Кортизол, нмоль/л	441,5±21,1	400,4±15,6	498,8±31,1**
Пролактин, мМЕ/л	423,3±12,0	454,8±17,3	430,3±23,1
Тестостерон, нмоль/л	19,60±1,87	16,32±1,59***	15,90±1,98***
Эстрадиол, пмоль/л	117,9±5,7	110,1±3,3	115,8±6,9

*- различия с группами 1 и 2 достоверны ($p < 0,05$);

** - различия между группами 2 и 3 достоверны ($p < 0,05$);

*** - различия с группой 1 достоверны ($p < 0,05$).

Известно, что по мере старения организма функция ЩЖ снижается и инволюционные изменения проявляются гипопродукцией тиреоидных гормонов, что связано с уменьшением количества рецепторов на клетках-мишенях. Параллельно инволюционному понижению концентрации тиреоидных гормонов возрастает чувствительность клеток-мишеней к

гормонам и это рассматривается как приспособительная реакция организма. Полученные нами возрастные изменения уровней тиреоидных гормонов у ЛПА атипичны (понижение уровня T_3 и увеличение – T_4). Достоверное снижение коэффициента $T_{3\text{общ.}}/T_{4\text{общ.}}$ в 3-ей возрастной группе (40-49 лет) (0,00802) отражает уменьшение конверсии на периферии тироксина общего в функционально более активный трийодтиронин ($p < 0,05$). Следовательно, выявленные нами изменения конверсии тиреоидных гормонов не связаны с инволюционными изменениями ЩЖ, а обусловлены последствиями воздействия КФРА.

К комплексу факторов радиационной аварии безусловно принадлежат психоэмоциональное напряжение, радиофобия, социально-бытовые проблемы, связанные с общей обстановкой в стране в период 90-х годов, которые могли способствовать формированию хронического стресса у ЛПА.

Последствия влияния КФРА в зависимости от возможности развития хронического стресса у ЛПА изучали на основании изменения гормонально-метаболических показателей (ТТГ, пролактин, ЛГ, ФСГ, кортизол, тестостерон) при сравнении с группой мужчин-спасателей ПСО МЧС РФ (группа сравнения) и мужчин-волонтеров (контрольная группа).

Характер работы, выполняемый участниками аварийно-спасательных формирований, связан со значительными физическими и ещё более значимыми нервно-эмоциональными нагрузками и осложнён воздействием многочисленных неблагоприятных и опасных факторов окружающей среды. В такой ситуации работа различных органов и систем находится на грани адаптационных возможностей организма. Повторяющиеся стрессогенные события могут привести к дезрегуляции эндокринной системы. Среди гормональных показателей, которые в первую очередь изменяются при стрессогенном воздействии, можно выделить гормоны центральной регуляции (ТТГ, пролактин) и периферической регуляции (кортизол, тестостерон) (Пшенникова М.Г., 2000).

На основании сравнения результатов по изменению уровней стресс-индуцированных гормонов у спасателей и ЛПА показана общая тенденция - снижение концентрации тестостерона, которая подтверждает влияние психоэмоционального фактора на состояние адаптационно-регуляторных систем ЛПА. Имеются и различия между гормональными показателями у ЛПА и спасателей, заключающиеся в повышении секреции пролактина у ЛПА в динамике наблюдения и в угнетении секреции гормонов гипофиза ТТГ, ФСГ и пролактина у спасателей.

При обследовании ЛПА в динамике (через 7-8, 8-9, 11-12 лет), наблюдались неоднозначные по направленности изменение уровня гормонов гипофиза по отношению к норме и к группе сравнения.

Установленные изменения гормональных показателей у ЛПА через 7-9 лет наблюдения по центральной оси (экспрессия ФСГ, ЛГ, пролактин, ТТГ) и периферической оси эндокринной регуляции (повышение продукции кортизола и подавление продукции тестостерона) и их дальнейшая нормализация (спустя 11-12 лет) являются отражением рационального приспособления организма в ответ на последствия воздействия КФРА. В более отдаленный период (11-12 лет) сохраняется подавление продукции тестостерона и повышение секреции пролактина.

Можно предположить, что пролонгированный характер изменения гормональных показателей у ЛПА (в течение 9 лет) и существующий диссонанс между уровнем гормонов гипофиза и содержанием гормонов периферической оси эндокринной регуляции в крови (спустя 11-12 лет), способствуют формированию патологических процессов. Нарушения функционального состояния эндокринной системы в ряде случаев носят декомпенсированный характер и требуют специализированного алгоритма клинико-лабораторного обследования ЛПА.

Заболевания костно-мышечной системы у мужчин-ликвидаторов достоверно увеличиваются с 5-7 года после аварии и через 7-11 лет занимают, наряду с сердечно-сосудистой патологией, первое-второе место в структуре распространенности болезней (Никифорова И.Д., 1999). Причины и механизмы возникновения этих явлений до настоящего момента остаются малоизученными.

Следующим этапом изучения параметров гормонально-метаболического статуса у ЛПА в отдаленные сроки наблюдения было исследование уровня интактного ПТГ и остеотропных гормонов у пациентов с остеопеническим синдромом через 11-12 лет после аварии (табл. 1.5.8).

У ЛПА с остеопеническим синдромом показано достоверное повышение концентрации в крови интактного ПТГ, что, скорее всего, связано с компенсаторным характером и направлено на нормализацию уровня ионизированного кальция в крови.

Среди остеотропных гормонов стероидной группы, которые, как известно, могут влиять на процессы ремоделирования костной ткани, особо выделяется тестостерон. Его концентрация в крови у мужчин-ликвидаторов с остеопеническим синдромом была достоверно ниже ($p < 0,05$), чем у остальных обследованных пациентов и колебалась в

диапазоне 11,7-21,4 нмоль/л. Хотя эти показатели не выходили за границы референтного интервала для тестостерона (10,1-38,3 нмоль/л), тем не менее, большинство из них смещены к его нижней границе. Со стороны гормонов гипофиза отмечалось напряжение гонадотропной оси регуляции, о чем свидетельствовало повышение секреции ЛГ, которая, вероятно, направлена на нормализацию уровня тестостерона. Вместе с тем, низкий уровень тестостерона у ЛПА с остеопеническим синдромом способствовал ослаблению его ингибирующего действия на продукцию паракринного регулятора остеокластической резорбции ИЛ-6, продукция которого в сыворотке значительно повышалась (табл.1.5.9).

Таблица 1.5.8

Изменение гормональных показателей у ЛПА с остеопенией
через 11-12 лет после аварии

Показатели	Ед. изм.	Группы сравнения ЛПА	
		с остеопенией n=38	без остеопении n=47
Паратгормон	пмоль/л	3,67 ± 0,42**	2,35 ± 0,31
ТТГ	мМЕ/л	1,12 ± 0,05*	1,39 ± 0,07
Пролактин	мМЕ/л	315,4 ± 10,7*	396,8 ± 7,2
ЛГ	МЕ/л	4,02 ± 1,60	3,21 ± 1,31
ФСГ	МЕ/л	6,07 ± 2,41	6,52 ± 1,50
Тестостерон	нмоль/л	16,63 ± 1,51**	18,07 ± 0,53
Эстрадиол	пмоль/л	110,43 ± 2,51	117,61 ± 0,75
Кортизол	нмоль/л	425,3 ± 18,1	429,7 ± 12,8
T ₄ общ.	нмоль/л	86,1 ± 4,7	82,8 ± 3,2
T ₃ общ.	нмоль/л	1,13 ± 0,06	1,07 ± 0,03

*- различия между группами достоверны (p<0,05);

** - различия между группами достоверны (p<0,01)

Известно, что ИЛ-6 стимулирует резорбцию костной ткани опосредованно, через ИЛ-1 (Голенков А.К., 1996). У ЛПА с остеопеническим синдромом было показано также повышение продукции ИЛ-1β.

Таблица 1.5.9

Уровень ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α у ЛПА с остеопенией

Показатели	Ед. изм.	Группы сравнения ЛПА	
		с остеопенией (n=38)	без остеопении (n=47)
ИЛ-1 β спонтанный; ИЛ-1 β индуцированный; ИЛ-1 β сывороточный	пг/мл	977,03 \pm 252,96 5660,00 \pm 1006,95 33,18 \pm 16,78*	675,04 \pm 306,95 4262,02 \pm 1032,88 14,77 \pm 4,43
ИЛ-6 спонтанный; ИЛ-6 индуцированный; ИЛ-6 сывороточный	пг/мл	572,78 \pm 90,79 1303,33 \pm 116,17 6,56 \pm 1,25*	473,57 \pm 97,72 1216,43 \pm 138,63 3,69 \pm 0,65
ФНО- α спонтанный; ФНО- α индуцированный; ФНО- α сывороточный	пг/мл	44,85 \pm 21,18 386,48 \pm 61,43 101,81 \pm 35,13	27,18 \pm 26,98 347,04 \pm 84,06 123,00 \pm 30,40

*- различия между группами сравнения достоверны, ($p < 0,05$).

Гипокальциемию регистрировали у 69 % ЛПА с остеопенией, при этом изменение уровня ПТГ наблюдали в 53 % случаях.

При диагностике остеопении необходимо дифференцировать первичный, вторичный остеопороз и остеомалацию для назначения адекватного лечения. Проведенное исследование ПТГ и остеотропных гормонов у ЛПА на ЧАЭС в отдаленные сроки, позволило исключить наличие эндокринных заболеваний вызывающих снижение минеральной плотности кости (вторичный остеопороз).

Следующим этапом исследования явилось определение уровня маркеров костного ремоделирования. Показано, что уровни этих маркеров в крови или моче тесно коррелируют с показателями костного метаболизма, измеренными гистоморфометрически (Eastell R. et al., 1990; Delmas P.D. et al., 1991). И хотя одна часть маркеров специфична для костного формирования, а другая - для костной резорбции, в большинстве клинических ситуаций оба эти процесса имеют тенденцию меняться в одном направлении.

При количественном определении маркера костного ремоделирования – деривата коллагена I типа – диоксипиридинолина (DPD), у ЛПА с остеопеническим синдромом показано достоверное повышение его экскреции с мочой ($p < 0,05$). Известно о высокой корреляции ($r = 0,92$, $p < 0,001$) между экскрецией DPD и показателями

костной резорбции, исследованными гистоморфометрически (Eastell R. et al., 1990). Это свидетельствует о высокой информативности определения DPD для оценки костной резорбции при остеопении и позволяет предложить определение диоксипиридинолина в моче в качестве лабораторного критерия диагностики процесса остеокластической резорбции кости (табл. 1.5.10).

Таблица 1.5.10

Уровни ОК и DPD в биологических жидкостях ЛПА
через 11-12 лет после аварии на ЧАЭС ($M \pm m$)

Подгруппы	ОК, (нг/мл)	DPD, (нмоль)/ креатин, (нмоль)
(1) ЛПА с osteopений (n=25)	8,06 ± 0,74	6,90 ± 0,45*
(2) ЛПА без osteopений (n=25)	8,90 ± 1,25	5,10 ± 0,31
(3) Здоровые (n=10)	8,70 ± 0,32	4,50 ± 0,27

*- различия с подгруппами 2 и 3 достоверны ($p < 0,05$)

Уровень остеокальцина (ОК) – специфического маркера остеобластической активности у ЛПА с остеопенией соответствовал норме. Появление ОК в крови является результатом синтеза de novo, а не освобождения интактного остеокальцина при костной резорбции (Tarallo P. et al., 1990). Следовательно, можно предположить, что у лиц с нормальным костным обменом уровень ОК не изменяется.

Повышение DPD в моче можно наблюдать как при первичном, так и вторичном остеопорозе, почечной остеодистрофии и остеомалации; но при остеомалации содержание ОК низкое, что обусловлено дефицитом витамина D в организме (Рожинская Л.Я., 2000).

Полученные результаты демонстрируют перспективы использования биохимических маркеров костного ремоделирования и диктуют необходимость включения этих метаболических маркеров, наряду с паракринными и эндокринными параметрами в алгоритм клинико-лабораторной диагностики при костно-мышечной патологии у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС в отдаленные сроки.

Совокупность полученных нами данных свидетельствует о широком спектре нарушений гормонально-метаболических и некоторых иммунологических показателей как проявлении отдаленных последствий

влияния крупномасштабной радиационной катастрофы на организм человека. Последствия воздействия комплекса факторов аварии на ЧАЭС вызывает изменения гипофизарной регуляции эндокринной функции, способствует развитию аутоиммунных поражений эндокринных органов, состояния костно-мышечной системы и повышает вероятность развития злокачественных неоплазий.

В заключение хотелось бы ещё раз подчеркнуть, что мероприятия, направленные на улучшение состояния здоровья пострадавших ЛПА, должны учитывать стойкие изменения гормонально-метаболического статуса, закономерно возникающие и сохраняющиеся в отдаленные сроки после катастрофы. Алгоритм клинико-лабораторного обследования ЛПА в отдаленные сроки должен предусматривать, наряду с инструментальными методами диагностики, количественную оценку уровня гормонов и маркеров костного ремоделирования.

В ходе выполнения исследования нами установлено следующее:

1. У лиц, принимавших участие в ликвидации последствий Чернобыльской аварии в 1986-1987 гг., спустя 7-8, 8-9, 11-12 лет после выхода из радиоактивной зоны отмечаются значительные сдвиги гормонально-метаболических показателей, о чем свидетельствует изменение содержания иерархически связанных гормонов гипофиза, щитовидной железы, коры надпочечников и семенников (ТТГ, пролактин, ЛГ, ФСГ, Т₃, Т₄, кортизол, тестостерон).
2. У ликвидаторов наблюдаются разнонаправленные изменения уровней гормонов гипофиза и периферических эндокринных органов, что отражает последствия влияния комплекса факторов радиационной катастрофы на состояние адаптационно-регуляторных систем в отдаленном периоде: изменение содержания ФСГ, кортизола, Т₃ общ. менее выражены и нивелируются к 8-9 году наблюдения; изменение продукции тестостерона, пролактин пролонгированы в течение 7-12 лет, в алгоритм клинико-лабораторной диагностики необходимо включить количественную оценку пролактин, тестостерон в периферической крови.
3. Ввиду сочетанного участия в процессах ремоделирования костной ткани тестостерон, Прл, ТТГ, ПТГ, остеокальцин, ИЛ-1 β , ИЛ-6 и диоксипиридинолин показана диагностическая значимость их комплексного исследования в биологических жидкостях у ЛПА с остеопеническим синдромом.

1.6. ФОРМИРОВАНИЕ ОСТЕОПЕНИЧЕСКОГО СИНДРОМА И ВОЗРАСТНОЙ ДЕФИЦИТ АНДРОГЕНОВ У ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧАЭС

Проблема разработки оптимальных критериев диагностики и подходов к фармакологической коррекции нарушения ремоделирования костной ткани, индивидуально учитывающих патогенетические механизмы, лежащие в основе возникновения остеопенического синдрома (ОПС) у мужчин, участвовавших в ликвидации последствий аварии (ЛПА) на ЧАЭС, остается актуальной и в настоящее время.

По результатам проведенного нами ранее денситометрического обследования в группе участников ЛПА, проживающих в Северо-Западном регионе России, ОПС был установлен в 75-83 % случаев (средний возраст пациентов составлял $45,20 \pm 0,61$ года) (Никифорова И.Д., 1999). Показано, что остеопенический синдром у мужчин, участвовавших в работах на ЧАЭС, встречался чаще, чем остеопороз, локализовался главным образом в осевом скелете и преобладал в регионах с преимущественно трабекулярным типом строения, отличающихся высокой метаболической активностью. При популяционных исследованиях было выявлено, что остеопения достаточно редко встречалась у мужчин в возрасте от 40 до 50 лет без эндокринной патологии, синдрома мальабсорбции, заболеваний почек (Остеопороз: диагностика, профилактика..., 2006). Это позволило сделать предположение, что возникновение ОПС у ЛПА могло быть обусловлено нарушением гормонально-метаболических показателей.

По определению ВОЗ (1994), остеопороз (ОП) – это системное заболевание костей, включающее потерю костной массы и нарушение костной микроархитектоники, приводящее к увеличению хрупкости костей и повышенному риску переломов (WNO Technical Report Series, 1994).

Костная масса зависит от показателя минеральной плотности костной ткани (МПКТ), которая измеряется различными методами. Выраженность ОП коррелирует со степенью снижения МПКТ; чем ниже МПКТ, тем выше риск переломов. Согласно критериям ВОЗ под термином остеопения следует понимать снижение МПКТ на 1 – 2,5 SD (стандартное отклонение) по T-критерию от среднего показателя МПКТ у молодых здоровых людей. Более выраженный дефицит МПКТ, характеризующийся снижением T-критерия $> 2,5$ SD, называется остеопорозом (Остеопороз: диагностика, профилактика..., 2006).

В настоящее время остеопению и/или остеопороз можно диагностировать еще до появления переломов, т.к. при этих состояниях происходят нарушения процессов ремоделирования костной ткани, что сопровождается отклонениями от референтных значений биохимических маркеров. (McComick R., 2007). Различают биохимические маркеры, которые характеризуют нормальные процессы пролиферации остеобластов

и ремоделирования костной ткани (А) и маркеры, повышение которых характерно для усиления процессов пролиферации остеокластов и резорбции кости (Б) (табл.1.6.1).

Таблица 1.6.1

Биохимические маркеры метаболизма костной ткани

А	Б
<p>остеокальцин, костная щелочная фосфатаза (остаза), проколлагеновые С- и N-телопептиды (PICP, PINP) в сыворотке крови.</p>	<p>тартрат-резистентная кислая фосфатаза, продукты деградации коллагена I типа – N- и С-телопептиды в плазме крови.</p> <p>дезоксипиридинолин (пирилинк D), продукты деградации коллагена I типа – N- и С-телопептиды, связанные поперечными сшивками (CrossLaps), кальций в моче</p>

Биохимические маркеры характеризуют усредненную скорость ремоделирования всего скелета, и баланс между процессами образования и разрушения костной ткани. Ускорение костного обмена и разобщение процессов ремоделирования ведут к потерям МПКТ и развитию ОПС и ОП.

Недостаточность андрогенов является одной из основных причин потери костной массы у мужчин. Проблема возрастного дефицита андрогенов (partial androgen deficiency of aging men – PADAM) является чрезвычайно важной также из-за существенного вклада дефицита тестостерона в нарушения метаболизма в целом. Известно, что у мужчин с PADAM наблюдается усиление висцерального ожирения, снижение мышечной массы, общей физической активности и МПКТ (Gray A. et al., 1991).

Как известно, костная ткань представляет собой динамическую систему. На протяжении всей жизни человека в ней протекают процессы физиологической регенерации, представляющие собой разрушение старой костной ткани и образование новой, что составляет цикл ремоделирования. Ежегодно обновляется около 4-10 % общего объема кости. Один полный цикл ремоделирования костной ткани занимает приблизительно 100 дней. Процесс ремоделирования костной ткани зависит от возраста: в первые два десятилетия жизни (до достижения пика костной массы) – новообразование костной ткани превалирует над резорбцией; в дальнейшем наблюдается равновесие между резорбцией костной ткани и ее новообразованием (20-40 лет). Резорбция костной ткани усиливается по мере старения организма и превалирует над ее новообразованием. Физиологическая потеря костной ткани у мужчин начинается с 40 лет

(Моргунов Л.Ю., 2007; Amory J. et al., 2004). Вначале происходит незначительная потеря МПКТ – 0,3-0,5 % в год, при развитии синдрома PADAM у мужчин потеря костной массы ускоряется более 2 % в год и продолжается в таком темпе до 75-80 лет.

Показано, что прямой эффект андрогенов на костную ткань обусловлен наличием андрогенных рецепторов в остеобластах. Адекватный уровень андрогенов активирует остеобласты и стимулирует их пролиферацию. Дефицит тестостерона может также уменьшить секрецию кальцитонина и нарушить синтез кальцитриола (Рожинская Л.Я., 2000).

Как известно, наибольшая концентрация андрогенов, в частности тестостерона, отмечается у мужчин в возрасте 25–30 лет. В дальнейшем под влиянием различных факторов происходит постепенное снижение его продукции. К 50–60 годам также уменьшается уровень гонадотропинов. В итоге у здоровых мужчин старше 60 лет концентрация тестостерона в крови снижается до 35–50 %.

Помимо непосредственного синтеза тестостерона важную роль играет его транспорт в организме. Известно, что основная часть тестостерона, поступающего в кровь, связана с секс - стероид - связывающим глобулином (ССГ). Эстрогены повышают концентрацию ССГ в крови. Поскольку во многих случаях мужчины с PADAM имеют либо избыточный вес, либо висцеральное ожирение, уровень эстрогенов у них повышен, что приводит к угнетению продукции лютеинизирующего гормона (ЛГ) с одной стороны, и увеличению связанного с ССГ тестостерона – с другой. В результате количество тестостерона, доступного для клеток-мишеней, еще больше снижается, а за счет избытка ССГ, притом, что содержание общего тестостерона в сыворотке крови остается близким к норме. По данным ряда авторов, скорость снижения МПКТ коррелирует только со скоростью снижения свободного тестостерона (Зилов А.В. и др., 2007).

Андрогенодефицит, несмотря на то, что тестостероновая недостаточность не всегда проявляется клинически, чаще способствует переломам у мужчин, чем другие причины (новообразования, системные заболевания, алкоголизм или терапия глюкокортикоидами). Основную группу риска развития ОП продолжают составлять пожилые мужчины с инволютивным дефицитом андрогенов, с наличием болей в спине, бедрах, голенях и стопах, затрудняющих ходьбу, с хроническими соматическими заболеваниями и длительное время принимающих лекарственные препараты.

В наше исследование были включены мужчины – участники ЛПА на ЧАЭС, которые поступили в клинику ФГУЗ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова (ВЦЭРМ) МЧС России» в 2003 г. (n = 29) для планового обследования. Критериями

включения были: возраст 40 - 50 лет; участие в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС в 1986 году; доза облучения по карточкам учета доз - более 20 сГр; проживание в Санкт-Петербурге. Клиническое наблюдение включало осмотр эндокринологом (при поступлении и при выписке). Пациентам проводилось УЗИ щитовидной железы и органов брюшной полости.

Контрольную группу для определения андрогенного статуса составили 65 мужчин в возрасте от 20 до 35 лет, которые не имели контакта с ионизирующим излучением, не принимали препараты и не имели заболеваний, ведущих к потере костной массы.

Нашей целью было определить, отличается ли уровень андрогенов от нормы у мужчин – участников ЛПА в возрасте от 40 до 50 лет с верифицированным ОПС.

Всем пациентам проводили анализ андрогенов и других системных гормонов в сыворотке крови хемилюминесцентным методом на анализаторе IMMULITE 2000 фирмы «DPC» (США) и методом ELISA наборами «DSL» (США); содержание дезоксипиридинолина (Dпуг) в моче - на анализаторе IMMULITE 2000 фирмы «DPC» (США), остеокальцина (ОК) в гепаринизированной плазме и CrossLaps в моче – с помощью ELISA наборами «IDS» (Великобритания). Биохимические показатели кальций-фосфорного гомеостаза исследовали при поступлении пациента на обследование после двухдневной диеты с ограничением потребления кальцийсодержащих продуктов на анализаторе «Kone Specific» (Финляндия). Концентрацию ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α в супернатантах 24 часовых культур клеток периферической крови и образцах сыворотки крови определяли с помощью тест-систем «Протеиновый контур» и «Цитокин» (Россия), ИЛ-10 – «BCM Diagnostics» (США); ТФР β – «CYTIMMUNE» (США) методом ELISA.

Методом определения МПКТ была выбрана двуэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (DEXA), которая позволила количественно оценить содержание костного минерала в различных отделах позвонка (денситометр DPX-L «Lunar», США).

МПКТ выражали в виде Т-критерия (отношение фактической костной плотности данного пациента к костной плотности здоровых мужчин в возрасте 25-30 лет). Снижение МПКТ было выявлено в 83 % случаев. Значения Т-критерия находились в пределах от -1 SD до $-3,2$ SD и все пациенты имели риск переломов в исследованных участках скелета: у 33 % было поражение костной ткани с преимущественно трабекулярным типом строения, смешанный тип поражения (трабекулярная и кортикальная кость) наблюдали у 67 %. Таким образом, среди мужчин-ликвидаторов ОПС был установлен в 82 % случаев. Аналогичные данные были получены нами ранее при обследовании когорты из 101 участника

ЛПА (средний возраст $45,20 \pm 0,61$ года), проживающих в Северо-Западном регионе России (Никифорова И.Д., 1999).

Клинические данные, полученные при обследовании ЛПА, результаты УЗИ щитовидной железы и брюшной полости, а также гормональных и биохимических анализов позволили исключить наличие заболеваний щитовидной железы, сахарного диабета, болезней печени, почек, приводящих к формированию ОПС. При этом более чем у 40 % обнаружены лабораторные признаки андрогенного дефицита (средняя концентрация общего тестостерона в сыворотке крови равнялась $9,55 \pm 2,08$ нмоль/л). Клинические признаки андрогенного дефицита, согласно данным международного опросника, имели более 50 % обследованных лиц.

Исследование параметров андрогенного статуса проводили у мужчин – участников ЛПА с верифицированным по снижению уровня МПКТ остеопеническим синдромом и в контрольной группе (табл.1.6.2).

Таблица 1.6.2

Показатели андрогенного статуса у участников ЛПА
и в контрольной группе ($M \pm m$)

Показатель, (ед. изм.) референтный интервал	Контрольная группа	ЛПА
Возраст (годы)	$27,8 \pm 0,87$ (20-35)	$45,7 \pm 1,62$ (40-50)
Индекс массы тела (кг/м ²)	$22,5 \pm 0,34$ (19-24)	$25,4 \pm 0,53^*$ (19-35)
Гипоандрогения (Т менее 12,0 нмоль/л)	0	15 (71,4 %)
Тестостерон общий (Т), 12,0– 38,0 нмоль/л	$18,05 \pm 0,93$	$15,06 \pm 0,52^*$
5 α -ДГТ, 0,86– 3,41 нмоль/л	$2,17 \pm 0,26$	$2,73 \pm 0,22$
ССГ, 13,0– 71,0 нмоль/л	$29,54 \pm 1,82$	$68,00 \pm 7,09^*$
ИСА = (Т/ ССГ)х100, %	$61,3 \pm 0,5$	$23,0 \pm 0,8^*$

*- различия с контрольной группой достоверны ($p < 0,05$).

Снижение концентрации андрогенов может стать одной из причин развития отрицательного кальциевого баланса, а также нарушения процесса метаболизма костной ткани. Вместе с тем не установлено, какой именно уровень тестостерона в сыворотке крови является критерием PADAM. Принято считать, что два стандартных отклонения от нормы для молодых мужчин являются патологическим значением. По результатам наших исследований, пороговое значение общего тестостерона в сыворотке крови было 12,0 нмоль/л.

Концентрация тестостерона при у ЛПА с ОПС была достоверно ниже ($p < 0,05$), чем в контрольной группе; при этом содержание 5 α -ДГТ было смещено к верхней границе референтного интервала. Обратная зависимость: низкий тестостерон – высокий ДГТ указывает на активацию 5 α -редуктазы и процесса трансформации тестостерона в 5 α -ДГТ. Таким образом, повышение активности процесса трансформации тестостерона неизбежно приводит к понижению его уровня в периферической крови. Коэффициент корреляции γ между этими показателями был равен (-0,56). Следовательно, можно говорить о снижении секреции тестостерона у мужчин-ликвидаторов. Приблизительно 60 % тестостерона в крови в норме связано с глобулином. Другая его часть, кроме 1-2 %, нековалентно связана с альбумином. Свободный и связанный с альбумином тестостерон обладают биологической активностью, в то время как ССГ ингибирует активность гормона. Представленные в таблице 2 данные демонстрируют достоверно высокий уровень ССГ при ОПС ($p < 0,05$). Известно, что уровень биологически активного тестостерона характеризуется индексом свободных андрогенов – ИСА. Этот показатель у обследованных ЛПА более чем в 2,0 раза ниже нормы. На основании изученных параметров можно заключить, что, частичный андрогенный дефицит мог стать одним из ключевых факторов в патогенезе ОПС у ликвидаторов.

Гипоандрогения при ОПС у ЛПА выявлена в 72,4 % случаев. Как уже говорилось, андрогены оказывают на костную ткань как прямое, так и опосредованное действие. Снижение уровня андрогенов замедляет апоптоз остеокластов и усиливает апоптоз остеобластов, что определяет продолжительность их жизни. Опосредованное действие андрогенов на костную ткань заключается в их влиянии на эстрогены, которые в свою очередь способствуют дифференцировке остеобластов. Андрогены в жировой ткани метаболизируются в эстрон. Снижение уровня тестостерона сопровождается развитием метаболического синдрома. В нашем исследовании показано достоверное превышение индекса массы тела (ИМТ) при ОПС.

Ниже представлены результаты определения биохимических показателей ремоделирования костной ткани у ЛПА с ОПС и в норме (табл.1.6.3).

Таблица 1.6.3

Медианы значений концентрации маркеров костного формирования и резорбции (по отношению к креатинину – Cr) у ЛПА и в норме

Маркер, референтный интервал*	Контрольная группа	ЛПА
ОК, (8,8-37,6 нг/мл)	21,4	11,1**
CrossLaps/Cr, (49-463 мкг/ммМ)	207	214
Друг/Cr, (2,3-11,9 нМ/ммМ)	5,8	5,9

*- диапазон рабочей нормы, соответствуют значениям, полученным производителями тест-систем;

** - при вычислениях использован критерий χ^2 (или точный критерий Фишера при малом числе наблюдений), распределения в подгруппе с ОПС различаются существенно с контрольной группой ($p < 0,0001$).

Как известно, остеопенический синдром формируется в том случае, если разрушение кости не компенсируется ее формированием или при разобщении процессов ремоделирования. Специфическим маркером костного формирования служит остеокальцин (ОК) – белок, продуцируемый активными остеобластами. Результаты проведенных исследований позволили установить, что уровень ОК в сыворотке крови при ОПС был достоверно ниже нормы ($p < 0,0001$), что свидетельствует о сниженном остеогенезе у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. В процессе разрушения костного матрикса коллаген I типа расщепляется, и в моче появляются продукты его деградации – CrossLaps и Друг. По изменению концентрации этих показателей можно судить о скорости костной резорбции. Показано, что при ОПС у мужчин-ликвидаторов уровни CrossLaps/Cr и Друг/Cr существенно не отличаются от нормы. Также для маркеров резорбции не установлено превышения границ референтных интервалов.

Таким образом, у мужчин-ликвидаторов с ОПС было выявлено нарушение нормального соотношения между процессами резорбции и формирования костной ткани: формирование костной ткани было снижено или в норме, однако степень усиления формирования костной ткани отставало от степени усиления резорбции костной ткани. Такое нарушение могло быть результатом нарушения функции остеобластов, в том числе, опосредованное PADAM (Рожинская Л.Я., 2000).

Однако известно, что на костеобразование оказывают влияние не только андрогены. В таблице 1.6.4 представлены результаты исследования паратгормона (ПТГ₁₋₂₄) и кальцидиола– 25(OH)D₃.

Таблица 1.6.4

Параметры минерального обмена, ПТГ и кальцидиола
у ЛПА при ОПС

Показатель, ед.изм.	Референтный интервал	Контрольная группа	ЛПА
Ca ⁺⁺ , ммоль/л	1,1–1,45	1,25 ± 0,05	0,97 ± 0,10*
P неорг., моль/л	0,7–1,45	0,99 ± 0,07	0,89 ± 0,06
ПТГ, пмоль/л	1,32 – 7,92	3,30 ± 0,32	2,95 ± 0,28
25(ОН)D ₃ , пг/мл	14 – 60	23,85 ± 2,79	27,88 ± 3,29

*- различия с контрольной группой достоверны (p < 0,001).

25(ОН)D₃ является главным циркулирующим метаболитом витамина D и отражает его уровень в организме человека. Дефицит витамина D наблюдается у жителей Северо-Западного региона России и усугубляет потери костной ткани. 25(ОН)D₃ служит одним из показателей остеопороза и/или остеопенического синдрома.

ПТГ и активные формы витамина D (кальцитриол) регулируют уровень Ca⁺⁺ в крови. Под их контролем у взрослого человека происходит обмен между скелетом и плазмой крови около 0,5 г Ca в сутки. Показано существенное понижение концентрации ионизированного кальция у ЛПА при ОПС по отношению к норме (p < 0,001). Регуляция уровня кальция ПТГ осуществляется по механизму обратной связи. При этом снижение концентрации Ca⁺⁺ при ОПС не сопровождалось повышением концентрации ПТГ, как этого следовало ожидать.

Уровень фосфора в плазме зависит от факторов, регулирующих обмен кальция. Но кальциевый гомеостаз не является единственной детерминантой фосфорного обмена. Как известно, глюкоза, инсулин и т.д. вызывают гипофосфатемию из-за перемещения фосфат-ионов в клетки. Процессы депонирования кальция и фосфора в костях и их абсорбция/экскреция в кишечнике и почках взаимно сбалансированы так, что концентрация в крови изменяется в весьма узких пределах и любое незначительное изменение ведет к нарушениям в системе обмена. Несмотря на то, что концентрация фосфатов при ОПС у ЛПА не выходила за пределы референтного интервала, она была смещена к его нижней границе, и у обследованных пациентов наблюдался относительный дефицит фосфора.

Известно, что любое незначительное уменьшение уровня параметров минерального обмена (Ca или P) способствует замедлению процессов формирования кости со смещением вектора обмена в сторону резорбции, что мы и выявили при исследовании биохимических маркеров костного ремоделирования у мужчин-ликвидаторов. Анализ индивидуальных

значений концентрации минеральных компонентов и биохимических маркеров костного ремоделирования показал наличие корреляционной зависимости между $\text{Drug} - \text{Ca/Cr}$, $\gamma = 0,339$, что отражает усиление процесса резорбции костной ткани и большую специфичность определения Drug при ОПС у мужчин по сравнению с исследованием CrossLaps.

Результаты исследования иммунной системы при ОПС позволили установить наиболее значимые изменения в цитокиновом звене иммунитета, а именно в продукции провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α . Отмечалось статистически достоверное по отношению к контрольной группе ($p < 0,05$) повышение спонтанной продукции ИЛ β ($161,55 \pm 24,72$ пг/мл против $65,79 \pm 9,91$ пг/мл), содержания в сыворотке ИЛ-6 ($30,68 \pm 6,38$ пг/мл против $14,29 \pm 4,29$ пг/мл) и его индуцированной продукции ($1049,86 \pm 123,72$ пг/мл против $628,29$ пг/мл), содержания в сыворотке ФНО- α ($149,09 \pm 43,02$ пг/мл против $30,71 \pm 10,06$ пг/мл). Повышенная продукция этих цитокинов клетками периферической крови является одним из факторов риска развития ОПС. Известно, что провоспалительные цитокины через простагландины стимулируют резорбцию кости. ИЛ-1 β (растворимая форма ИЛ-1 β опосредует основные биологические эффекты цитокина), ИЛ-6, ФНО- α тесно связаны с процессами дифференцировки и активации зрелых остеокластов и способны изменить баланс процессов формирования и резорбции костной ткани в сторону резорбции.

В результате определения показателей активности синтеза ТФР β и ИЛ-10 нами не выявлено каких-либо статистически достоверных отличий с группой контроля. Сывороточная концентрация ТФР β у лиц с ОПС - $5,54 \pm 1,12$ нг/мл против $16,23 \pm 9,36$. Понижение продукции противовоспалительного цитокина ТФР β , с одной стороны, способствует угнетению процессов остеогенеза, поскольку приводит к снижению пролиферативной и дифференцировочной активности остеобластов, а с другой – к активации остеолита, связанного с неспособностью регулировать гиперпродукцию провоспалительных цитокинов.

Изменения цитокинового статуса в зависимости от уровня андрогенов представлены в таблице 1.6.5.

У ликвидаторов со сниженным уровнем общего тестостерона отмечается максимальное нарушение синтеза и продукции про-(содержание ИЛ β в сыворотке крови) и противовоспалительных цитокинов (ТФР β , ИЛ-10 в сыворотке крови и спонтанная продукция ИЛ-10). В данной подгруппе подавлены сдерживающие механизмы чрезмерной продукции провоспалительных цитокинов, участвующих в активации остеокластов, их пролиферации и, тем самым, в процессах резорбции костной ткани.

Таблица 1.6.5

Сравнительная характеристика показателей активности продукции цитокинов в зависимости от уровня общего тестостерона (Т) у ЛПА

Показатель, ед.изм.	T>12,0 нмоль/л	T<12,0 нмоль/л	P
ИЛ-1 β сыв., пг/мл	63,17 \pm 14,59	114,73 \pm 37,43	>0,05
ИЛ-6 сыв., пг/мл	33,33 \pm 7,7	15,91 \pm 2,65	<0,05
ТФР β сыв., нг/мл	11,28 \pm 4,77	4,99 \pm 1,53	>0,05
ИЛ-10 сыв., пг/мл	33,47 \pm 30,35	6,00 \pm 3,72	>0,05
ИЛ-10 спон., пг/мл	74,44 \pm 14,71	34,51 \pm 8,75	<0,05
ИЛ-10 инд., пг/мл	99,11 \pm 13,28	65,33 \pm 21,89	>0,05

Как известно, синтез провоспалительных цитокинов, в том числе ИЛ-1 подавляется андрогенами (Notelovitz M., 2002; Malkin C.J. et al., 2003). Возможно, низкая продукция тестостерона приводит к нарушению баланса про- и противовоспалительных цитокинов.

Мощными паракринными стимуляторами остеогенеза служат ростовые факторы, в том числе эпидермальный фактор роста (ЭФР). Он способствует резорбции костной ткани и является сильным хемоаттрактантом для фибробластов и эпителиальных клеток, хотя решающей остается регуляция кальциевого обмена. ЭФР вместе с ИЛ-1, интерфероном- γ (ИФН- γ) может вносить определенный вклад в патогенез заболевания. При ОПС показано увеличение ЭФР в сыворотке по отношению к контрольной группе – 86,35 \pm 8,38 пг/мл и 59,86 \pm 19,32 пг/мл, соответственно ($p>0,05$). Повышение концентрации ЭФР, наблюдаемое в группе пациентов с остеопеническим синдромом, соответствует увеличению продукции провоспалительных цитокинов ИЛ-1 и ИЛ-6. Известно, что ИЛ-6 является мощным ростовым фактором для остеокластов, при этом он стимулирует процесс резорбции через ИЛ-1 β . Это приводит к мобилизации кальция из костного матрикса.

На основании проведенного исследования, можно заключить, что у мужчин-ЛПА 40-50 лет на фоне РАДАМ формируется отрицательный кальциевый баланс, для компенсации нарушения которого в процесс вовлекаются кальцийрегулирующие гормоны, факторы роста и провоспалительные цитокины. Уменьшение формирования костной ткани при относительном дефиците андрогенов может быть обусловлено как снижением трансформации клеток-предшественниц в функционирующие остеобласты, так и ослаблением активности зрелых остеобластов.

Дифференциальную диагностику ОПС у мужчин с РАДАМ следует проводить при комплексном исследовании МПКТ, показателей минерального гомеостаза, паракринных и эндокринных регулирующих факторов.

1.7. ИНФОРМАТИВНОСТЬ ПАРАМЕТРОВ ОЦЕНКИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧАЭС С БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Диагностика и лечение соматической патологии у ликвидаторов последствий аварии (ЛПА) на ЧАЭС является важной медицинской и социальной задачей ввиду высокого уровня распространенности заболеваний, роста и особенностей структуры инвалидности среди ЛПА.

Среди механизмов, лежащих в основе развития соматической патологии у ЛПА одно из ведущих мест отводят окислительному стрессу, дисбалансу между образованием свободнорадикальных форм кислорода, азота и биомолекул и потенциалом антиоксидантной защиты.

Хорошо изучены свободнорадикальные механизмы клеточного повреждения при остром лучевом воздействии, которое опосредуется первичным повреждением генома АФК, образованными при радиоллизе воды (Шарпаты В.А., 1997; Zastawny T.H. et al., 1997).

В настоящее время имеется достаточно много данных, часто фрагментарных и противоречивых, об изучении процессов свободнорадикального окисления (СРО) у лиц, подвергшихся воздействию ионизирующей радиации. Указывается, что у ЛПА имеется снижение уровня антиоксидантов и повышение количества недоокисленных продуктов метаболизма (Цыб А.Ф. и др., 1995). Не было выявлено активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) у людей, подвергшихся хроническому профессиональному облучению в малых дозах (Тельнов В.И., 1994).

Исследования больших групп ЛПА показали существенное нарушение баланса между образованием продуктов свободнорадикального окисления и состоянием антиоксидантной системы, то есть у них определяется состояние окислительного стресса (Хмара И.М. и др., 1991). Так как известно, что избыточное образование свободных радикалов оказывает модифицирующее и повреждающее влияние на макромолекулы и клеточные структуры, предполагают, что у ликвидаторов состояние окислительного стресса составляет молекулярную основу соматической патологии у ЛПА и обуславливает особенности ее течения. Подтверждением этому могут служить исследования по успешному применению антиоксидантов для коррекции выявленных изменений и лечению соматической патологии.

А.Ф. Цыб и соавт. (1995) обнаружили увеличение первичных и вторичных продуктов ПОЛ в большой группе ЛПА через 5-6 лет после катастрофы. Общая АОА плазмы была снижена. Особенно выраженными эти изменения были у ликвидаторов 1986 года. В этой группе была

снижена и активность каталазы, активность других АО ферментов не изменялась. Применение антиоксидантов уменьшало выраженность окислительного стресса. В другом исследовании через 5 лет после аварии у ликвидаторов наблюдалось снижение активности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови и образования АФК нейтрофилами периферической крови (Мищенко В. П. и др., 1993).

По данным М.В. Палагиной и соавт. (1994) дисбаланс ПОЛ, индуцированный радиационным воздействием, имеет важное значение в патогенезе лучевых поражений легких: радиационном пневмоните, фиброзирующем альвеолите, вторичных пневмониях. Косвенно на это указывает защитное действие СОД при пострадиационном фиброзе (Vozenin-Brotons M.-C. et al., 1998).

Е.А. Neyfakh и соавторы (1998) рекомендуют оценивать отношение липоперекисей липидов к АОА, как очень чувствительный показатель для определения радиочувствительности. Этот коэффициент может быть полезен для слежения за терапией пострадавших в районе Чернобыля. Если в комплекс лечения детей из этих районов включали антиоксидантные витамины, коэффициент снижался в 2-6 раз.

Факт участия свободнорадикальных механизмов в патогенезе соматической патологии у ЛПА на ЧАЭС можно считать установленным. Несмотря на это, методы оценки выраженности окислительного стресса практически не используются в клинической лабораторной диагностике заболеваний данной группы лиц.

Внедрение методов оценки свободнорадикальных процессов в практику работы клиничко-диагностических лабораторий ограничено отсутствием четких критериев выбора методических подходов, сведений о диагностической значимости исследуемых параметров, референтных значений для каждого из них, правил забора и хранения материала, невозможностью осуществлять контроль качества. С другой стороны, интерес клиницистов к исследованию свободнорадикальных процессов не подкреплен знаниями об интерпретации полученных в лаборатории результатов для конкретного пациента в определенной клинической ситуации, о влиянии на эти результаты проводимой терапии, лечебных процедур, возраста, метаболических расстройств и множества других факторов.

В связи с вышеизложенным, было предпринято настоящее исследование, целью которого стало выявление информативности и диагностической значимости параметров оценки состояния окислительного стресса у ЛПА с бронхолегочной патологией.

Выбор именно этой патологии был обусловлен тем, что в структуре первичных заболеваний ЛПА второе место занимают болезни органов дыхания, частота которых растет и в настоящее время (Шантырь И.И. и др., 2008).

Кроме того, легкое является органом, наиболее сильно подверженным действию свободных радикалов (Меньщикова Е.Б. и др., 2008). Высокое давление кислорода в течение длительного времени приводит к повреждению легкого и развитию различных заболеваний. В этот процесс вовлекаются АФК и другие токсические продукты, образованные как клетками легкого, так и активированными нейтрофилами и макрофагами. Такие факторы внешней среды, как фотохимический смог, окислы азота и серы, озон, радиация, приводят к гиперпродукции АФК в структурах легкого (Тао F. et al., 2003). Защита от действия свободных радикалов в легких осуществляется на нескольких уровнях (Сыромятникова Н.В. и др., 1993). Гликопротеины трахеобронхиальной слизи способны инактивировать перекись водорода и гидроксильный радикал. Активность антиоксидантных ферментов обнаружена в сурфактанте (Moison R.M.W., 1993). Считается, что именно истощение антиоксидантной защиты приводит к реализации повреждающего действия свободных радикалов на ткани легкого. Т.Д.М.Нилтерман и соавт. (1998) обнаружили корреляцию между интенсивностью выработки АФК, снижением антиоксидантной активности и отношением ОФВ1/ФЖЕЛ, которое характеризует обструкцию бронхов. Большая часть исследований посвящена выявлению связи СРО и обструкции бронхов при бронхиальной астме (Anticevich S.Z. et al., 1996; Smith L.J. et al., 1997), при обострении которой в крови содержание перекисей липидов было повышено на 162 %, а в период ремиссии полностью нормализовалось.

Материалом для исследования параметров окислительного стресса при патологии легких могут быть не только сыворотка и клетки крови, но и альвеолярные макрофаги, полученные непосредственно из очага воспаления. Альвеолярные макрофаги (АМ) считаются наиболее адекватным объектом для изучения СРО при патологии легких.

Группу пациентов с хронической бронхолегочной патологией составили 51 человек, проходивших обследование и лечение в ФГУЗ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России. Из них 29 человек были ликвидаторами последствий аварии на Чернобыльской АЭС в 1986-1987 годах, 22 человека не имели в анамнезе контакта с радиационным фактором или другими неблагоприятными факторами внешней среды.

Диагноз хронического необструктивного бронхита или хронической обструктивной болезни легких (ХНБ и ХОБЛ) устанавливался на основании жалоб больного, анамнеза, инструментального и лабораторного обследования, в том числе оценки функции внешнего дыхания, диагностического бронхоскопического исследования, рентгенографии органов грудной клетки, клинического, биохимического и

иммунологического анализа крови. На основании данных обследования устанавливалась фаза течения заболевания: обострение или ремиссия.

Все пациенты были обследованы дважды: при поступлении в клинику и через две-три недели перед выпиской. Клинический раздел работы был выполнен совместно с С.Г.Киреевым.

С учетом известных механизмов участия свободнорадикальных процессов в патогенезе бронхолегочной патологии и их важной роли в формировании особенностей соматической патологии, пострадавших от воздействия ионизирующего излучения, был выбран комплекс методов оценки этих процессов у лиц, участвовавших в ликвидации последствий аварии и страдающих хроническим бронхитом.

Параметрами для всесторонней оценки состояния системы свободно-радикального окисления были следующие показатели: уровень продукции перекиси водорода и супероксид-анион радикала нейтрофильными и мононуклеарными лейкоцитами периферической крови и альвеолярными макрофагами; уровень первичных (конъюгированные диены - КД) и вторичных (конъюгированные триены - ТК) продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) клеточных мембран тех же клеточных элементов с расчетом индекса окисленности (ИО), то есть по величине отношения оптических плотностей липидных экстрактов при длинах волн 232 и 215 нм (максимуме поглощения насыщенных липидов); содержание конечных продуктов ПОЛ - ТБК-активных продуктов (ТБК-АП) в клетках крови, альвеолярных макрофагах и в сыворотке и венозной крови; уровень образования ТБК-АП в присутствии ионов железа, что позволяет судить о содержании в сыворотке крови гидроперекисей липидов (ГПЛ); степень окислительной деструкции белков сыворотки крови по образованию карбонильных групп; активность антиоксидантных ферментов - супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в клетках крови и альвеолярных макрофагах.

Целенаправленный методический прием обработки результатов исследования проводился с использованием концепции системного анализа, базирующегося на методах теории сложных систем, анализа и синтеза сложных систем, системного моделирования и многомерной математической статистики.

Анализ данных исследований проводился с использованием новой информационной технологии системного анализа клинико-лабораторных данных, реализованной в программном комплексе ОМИС (Генкин А.А., 1999).

Основным методом анализа стало определение информативности признаков в соответствии со сформированными группами обследованных с помощью функции "Информативность признаков" исследовательского модуля программного комплекса "ОМИС". В основу этого метода положен "принцип анализа различий не самих наблюдений, а соответствующих им

интервальных и бинарных (матричных структур). В качестве критерия различия использовали критерий Кульбака или J-критерий, а соответствующий уровень значимости обозначали P_J . При использовании этой функции дополнительно вычисляются средние арифметические, различия которых определяются по t- и U- критериям. В таблицах признаки упорядочены в соответствии с критерием Кульбака по уменьшению информативности. В таблицах информативности представлены только данные о признаках, различающихся по группам.

Средние значения и разброс данных представлены в виде ($M \pm SD$). Сравнение средних двух выборок производилось автоматически программным комплексом по критерию Стьюдента (t), непараметрическому критерию Уилкоксона-Манна-Уитни (U), сравнение дисперсий по критерию Фишера и непараметрическому критерию Миллера, сравнение распределений по критерию Колмогорова-Смирнова. При различии дисперсий сравниваемых выборок использовался критерий Беренса-Фишера. При неадекватности применения t- и U-критериев программный комплекс предусматривает анализ диады средних. Использовался также двухфакторный и однофакторный дисперсионный анализ.

В соответствии с рекомендациями А.А.Генкина (1999) для выявления корреляционных связей пользовались функцией "Корреляционные связи" ОМИС, которая дает возможность наиболее полно и корректно характеризовать связь двух количественных признаков. Оценка корреляционных связей производилась с помощью коэффициента корреляции Пирсона, который адекватен для выборок с нормальным распределением. Значимый коэффициент Пирсона не всегда свидетельствует о действительном наличии связи. Основание для вывода о наличии корреляционной зависимости дают только связи установленные всеми мерами связи, то есть с применением коэффициентов Спирмена и Кендала, которые компенсируют недостатки коэффициента Пирсона. Корреляционные отношения дают дополнительную информацию, указывая направление корреляционной связи.

Применение указанного методического подхода обработки данных при решении задач исследования с применением математического и программного обеспечения позволило провести анализ различий средних величин показателей, выявить ряд корреляций (как между отдельными признаками, так и их совокупностями), построить модели прогнозирования стандартизованных показателей отдельных лабораторных и клинических признаков, подсистем, систем и оценить вклад в общую дисперсию симптомов.

Результаты определения указанных показателей у практически здоровых людей того же возраста, обследованных в этот же период, представлены в таблице 1.7.1.

Таблица 1.7.1

Значения показателей свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы в группе здоровых лиц (контрольная группа)
($M \pm SD$)

Показатель	Исследуемый материал	Единицы измерения	Средние значения
ТБК-АП спонт.,	сыворотка	мкмоль/л	3.1±0.48
ТБК-АП инд.,	сыворотка	мкмоль/л	2.1±0.3
ТБК-АП,	тромбоциты	нмоль/мг белка	0.38±0.04
ТБК-АП,	Нейтрофилы мононуклеары АМ	нмоль/ 10 ⁶ кл.	0.12±0.019 0.069±0.018 0.45±0.20
Конъюгированные Диены липидов,	нейтрофилы мононуклеары АМ	Ед.ОП/ 10 ⁶ кл.	0.20±0.08 0.16±0.02 1.51±0.37
Конъюгированные триены липидов,	нейтрофилы мононуклеары АМ	Ед.ОП/ 10 ⁶ кл.	0.077±0.020 0.062±0.008 0.30±0.15
Индекс окисленности липидов	нейтрофилы мононуклеары АМ		0.57±0.08 0.51±0.08 0.23±0.07
Супероксид баз. стим.,	нейтрофилы	нмоль/10 ⁶ кл. в час	20.2±4.7 47.2±4.2
Супероксид баз. стим.,	мононуклеары	нмоль/10 ⁶ кл. в час	11.9±3.9 20.8±6.9
Супероксид баз. стим.,	АМ	нмоль/10 ⁶ кл. в час	33.6±18.3 41.8±11.4
Перекись баз. стим.,	нейтрофилы	нмоль/10 ⁶ кл. в час	32.2±7.6 73.1±12.1
Перекись баз. стим.	мононуклеары	нмоль/10 ⁶ кл. в час	18.3±3.4 24.8±4.4
Перекись баз. стим.	АМ	нмоль/10 ⁶ кл. в час	20.5±2.2 44.7±14.9
Супероксид- дисмутаза	нейтрофилы мононуклеары АМ	Отн.ед./ мг белка	4.20±0.51 3.70±0.38 6.30±2.50
Каталаза	нейтрофилы мононуклеары, АМ	Ед./ мг белка	29.6±8.2 15.3±3.7 18.0±7.3

Примечание: АМ – альвеолярные макрофаги

Кроме параметров оценки процессов СРО и состояния антиоксидантной системы (АОС) (34 параметра) в анализ были включены

данные биохимического обследования, коагулограммы, иммунологические показатели сыворотки крови и бронхо-альвеолярного лаважа (БАЛ), гемограммы (всего 103 параметра).

Первый этап анализа данных состоял в выявлении различий между группой ликвидаторов последствий аварии (ЛПА) на ЧАЭС и группой сравнения. Из всех исследованных параметров наибольшую достоверную информативность показали восемь признаков, пять из которых принадлежали к показателям СРО и АОС.(табл. 1.7.2).

Оказалось, что анализируемые группы резко различались по активности каталазы макрофагов. В таблице абсолютных частот распределения значений хорошо видно, что в группе сравнения почти все значения активности каталазы макрофагов лежали в области выше 14,4 Ед/мг белка, а в группе ЛПА 80 % результатов были ниже этого значения.

Таблица 1.7.2

Частоты распределения значений активности каталазы альвеолярных макрофагов у пациентов с бронхолегочной патологией
Информативность признака по Кульбаку: 2.92(Pj<0.00001)

Градация мкмоль/л	Группа 1	Группа 2	Вклад в информативность
< 5.4	1	1	0.003
<13.8	20	0	1.949
< 18.1	2	9	0.436
>=18.1	2	10	0.528

Группа 1 –: ЛПА; группа 2– группа сравнения:

При этом, у всех пациентов активность каталазы макрофагов была снижена относительно группы здоровых лиц (21,4-37,8 Ед/мг белка), но у ликвидаторов это снижение было более существенно. Средние значения и их различия представлены в таблице 1.7.3.

Параллельно снижению активности каталазы макрофагов в этих клетках возрастал уровень ТБК-АП. У здоровых лиц содержание конечных продуктов СРО липидов в макрофагах колебалось от 0,25 до 0,65 нмоль/10⁶кл., у 86 % “ликвидаторов” уровень ТБК-АП макрофагов был выше 1,34, у 7 %-ниже 0,79 и еще у 7 %-ниже 0,51 нмоль/10⁶кл..

У пациентов группы сравнения распределение значений данного показателя было противоположным - почти 60 % пациентов этой группы имели значения ТБК-АП макрофагов ниже 0,51, а 33 %-выше 1,34 нмоль/10⁶кл.

Средние значения ТБК-АП макрофагов у ЛПА были значительно выше, чем в контрольной группе и по сравнению со здоровыми (0,45±0,20 нмоль/10⁶кл, p < 0,05), в то время как для контрольной группы можно было

говорить лишь о тенденции увеличения данного показателя по сравнению с нормой.

Таблица 1.7.3

Параметры свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной системы у пациентов с бронхолегочной патологией ($M \pm SD$)

Признак	Группа 1 (n)	Группа 2 (n)	Pt	Pu
ТБК-АП мононуклеаров нмоль/10 ⁶ кл.	0.193±0.067(25)	0.314±0.400(20)	0.185	0.347
ТБК-АП макрофагов нмоль/10 ⁶ кл.	1.33±0.45(25)	0.64±0.54(20)	0.00003	0.0001
КД мононуклеаров Ед.ОП /мг липидов	0.26±0.09(25)	0.34±0.15(20)	0.052	0.039
КД нейтрофилов Ед.ОП /мг липидов	0.34±0.231(25)	0.21±0.08(20)	0.009	0.0007
ИО макрофагов	0.93±0.21(25)	0.71±0.29(20)	0.006	0.004
Каталаза мононуклеаров Ед./мг белка	11.7±6.7(25)	16.1±7.1(20)	0.033	0.013
Каталаза макрофагов Ед./мг белка	10.4±3.9(25)	17.8±4.9(20)	<0.00001	0.0001

Группа 1 –: ЛПА; группа 2– группа сравнения:

Достоверно выше у ЛПА был и ИО макрофагов, свидетельствующий о степени окисленности мембранных липидов, значение которого в норме было $0,23 \pm 0,07$ в группе сравнения – $0,71 \pm 0,3$, а у ликвидаторов – $0,93 \pm 0,21$ ($p < 0,01$). Аналогичные изменения были выявлены и для клеток крови. Для них более информативными были показатели, свидетельствующие об образовании первичных продуктов СРО липидов - КД нейтрофилов. Содержание их было более высоким у ЛПА. Для КД нейтрофилов, при нормальных его значениях от 0,12 до 0,28 Ед.ОП/10⁶ кл., в группе ЛПА 70 % пациентов имели значения этого параметра выше 0,243 Ед.ОП/10⁶кл., а в группе сравнения 72 % пациентов имели его значение ниже этого уровня.

Существенно более высокое содержание в клетках крови и бронхиального содержимого продуктов СРО липидов в группе ЛПА сочеталось с более высоким относительным содержанием макрофагов и низким относительным содержанием нейтрофилов в БАЛ (табл. 1.7.4), по уровню которых данные группы различались также с высокой степенью информативности.

Таблица 1.7.4

Нейтрофилы и макрофаги в БАЛ у пациентов с бронхолегочной патологией ($M \pm SD$)

Признак	Группа 1 (n)	Группа 2 (n)	Pt	Pu
Содержание нейтрофилов в БАЛ, %	2.8±2.7(24)	7.9±7.7.9(17)	0.016	0.094
Содержание макрофагов в БАЛ, %	90.3±7.3(24)	81.1±11.3(17)	0.006	0.004

Группа 1 –: ЛПА; группа 2– группа сравнения

При сравнении средних значений исследованных параметров СРО и АОС в группах обследованных пациентов с данными, полученными у здоровых лиц, были выявлены следующие закономерности. У всех больных бронхолегочной патологией содержание ТБК-АП не отличается от нормы, а индуцированный уровень ТБК-АП значительно повышен у всех пациентов в одинаковой степени. Независимо от типа группы возросло содержание ТБК-АП тромбоцитов. Содержание первичных, вторичных и конечных продуктов СРО липидов в разной степени было повышено у всех пациентов и имело выраженную склонность к более высоким значениям в мононуклеарах крови и, особенно, в альвеолярных макрофагах, а также у ликвидаторов по сравнению с группой сравнения. Существенно более низкие уровни стимулированной перекиси водорода и супероксидного радикала во всех клетках были характерны для бронхолегочной патологии в целом. Активность СОД не отличалась от нормы притом, что активность каталазы была очень низкой, особенно в макрофагах “ликвидаторов”.

Таким образом, у ЛПА определялся такой комплекс изменений, который свидетельствовал о гораздо более выраженном окислительном стрессе у пациентов этой группы. Важным моментом является информативность только тех параметров, которые определялись в клеточных элементах, а не в сыворотке крови. Среди клеточных элементов наиболее информативными были изменения показателей СРО и АОС в альвеолярных макрофагах.

Для выяснения вопроса о влиянии имеющейся соматической патологии на различия, выявляемые между ЛПА и группой сравнения, в исследуемых группах были выделены подгруппы пациентов с хроническим необструктивным бронхитом (ХНБ) и хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ).

Пациенты с ХНБ группы сравнения и группы ЛПА с высокой степенью достоверности различались по следующим параметрам: ТБК-АП, ИО, КД, СОД макрофагов; КД и КТ нейтрофилов. В группе ЛПА так же как и в общей выборке, значения этих параметров были значительно более

высокими, за исключением активности СОД и каталазы макрофагов, активность которых была существенно ниже. Сравнимые группы существенно различались по активности каталазы, значения активности которой практически не перекрывались. Привлекает внимание, также, и более высокий средний уровень продукции супероксида нейтрофилами крови ликвидаторов (табл. 1.7.5), но необходимо констатировать небольшую информативность данного параметра из-за того, что значения перекрывались в большом диапазоне. Тем не менее, в группе ЛПА у всех пациентов продукция супероксида нейтрофилами колебалась от 29,8 до 93,3 нмоль/10⁶ кл. за час. и была значительно выше нормы (15,5-24,9 нмоль/10⁶ кл. за час), а в группе сравнения только у одного пациента значение этого показателя превышало верхнюю границу нормы. Также распределялись значения супероксида в мононуклеарах периферической крови. В группах ЛПА и сравнения при наличии достоверных отличий по средним величинам значения супероксида колебались соответственно от 7,0 до 57,8 нмоль/10⁶ кл. за час и от 3,7 до 36,8 нмоль/10⁶ кл. за час. У ликвидаторов генерация супероксида мононуклеарами была достоверно выше, чем у здоровых лиц (11,9±3,9 нмоль/10⁶ кл. за час). Такая сложная картина обусловлена большими индивидуальными колебаниями значений продукции супероксида клетками крови, особенно при патологии. Еще более выражены были эти колебания при определении продукции супероксида альвеолярными макрофагами. Средние значения его по группам не различались (табл. 1.7.5), однако анализ распределения значений показал, что высокое среднее значение в группе ЛПА связано с двумя пациентами, у которых этот показатель был более 130 нмоль/10⁶ кл. за час. И все таки, в группе сравнения только два пациента имели уровень продукции супероксида выше 50,0 нмоль/10⁶ кл. за час, в группе ЛПА 8 из 9 пациентов имели этот уровень выше 50,0 нмоль/10⁶ кл. за час (верхняя граница группы здоровых лиц- 51,9 нмоль/10⁶ кл. за час). Такой анализ позволяет говорить о значимо высоких уровнях продукции супероксида альвеолярными макрофагами ликвидаторов, тем более, что по сравнению с нормой в группе сравнения достоверных различий не было обнаружено. При ХОБЛ на первый план опять вышла активность каталазы макрофагов и мононуклеаров, активность которой была существенно ниже у “ликвидаторов и первичные продукты СРО липидов мононуклеаров и ТБК-АП макрофагов (p<0,05).

Показателей, по которым две группы различались было заметно меньше. Непараметрические методы статистического анализа выявили различия между уровнем ТБК-АП мононуклеаров (табл.1.7.6), но анализ распределения данных показал, что как в группе ЛПА, так и в группе сравнения все значения располагались в пределах 0,08-0,4 нмоль/10⁶ кл. при норме 0.069±0.018 нмоль/10⁶ кл. (колебания от 0.051 до 0.087 нмоль/10⁶ кл.) и только одно значение в группе сравнения было выше 1,0,

что свидетельствовало об отсутствии различий по данному параметру между группами.

Таблица 1.7.5
 Параметры свободнорадикального окисления липидов
 и антиоксидантной системы у пациентов
 с хроническим необструктивным бронхитом ($M \pm SD$)

Признак	Группа 1 (n)	Группа 2 (n)	Pt	Pu
ТБК-АП макрофагов нмоль/ 10^6 кл.	1.11 \pm 0.33(8)	0.46 \pm 0.68(7)	0.046	0.018
КД нейтрофилов Ед.ОП /мг липидов	0.418 \pm 0.375(9)	0.142 \pm 0.012(7)	0.063	0.0007
КД макрофагов Ед.ОП /мг липидов	3.90 \pm 2.22(7)	1.04 \pm 0.81(7)	0.004	0.005
КТ нейтрофилов Ед.ОП /мг липидов	0.208 \pm 0.150(9)	0.053 \pm 0.009(7)	0.005	0.0007
КТ макрофагов Ед.ОП /мг липидов	1.00 \pm 0.63(8)	0.34 \pm 0.24(7)	0.022	0.007
ИО мононуклеаров	0.86 \pm 0.24(9)	0.60 \pm 0.21(7)	0.040	0.013
ИО макрофагов	1.06 \pm 0.10(8)	0.51 \pm 0.28(7)	0.002	0.011
СОД макрофагов Отн.ед./мг белка	2.94 \pm 0.49(8)	5.00 \pm 1.26(7)	0.003	0.024
Каталаза макрофагов Ед./мг белка	11.3 \pm 3.2(8)	17.6 \pm 7.8(7)	0.079	0.043
Супероксид нейтрофилов нмоль/ 10^6 кл. в час	44.8 \pm 19.3(9)	21.5 \pm 14.9(7)	0.020	0.034
Супероксид мононуклеаров нмоль/ 10^6 кл. в час	34.3 \pm 14.7(9)	17.7 \pm 12.3(7)	0.031	0.030
Супероксид макрофагов нмоль/ 10^6 кл. в час	87.5 \pm 41.4(8)	49.6 \pm 40.0(7)	0.095	0.073

Группа 1 –: ЛПА; группа 2– группа сравнения

Также распределялись значения и уровни КД в мононуклеарах. Средние значения по группам достоверно различались, однако высокое среднее значение в группе сравнения было обусловлено двумя высокими результатами, а основная часть значений в обеих группах находилась в пределах 0,14-0,39 Ед.ОП /мг липидов при колебаниях в группе здоровых лиц 0.14-0.18 Ед.ОП /мг липидов. Определение ИО липидов также было не совсем значимо. В группе ликвидаторов он колебался в широких пределах от 0,16 до 1,20, а в группе сравнения – в более узких пределах от 0,60 до 0,81. Также, почти полностью перекрывались значения КД нейтрофилов, а средние их значения достоверно различались. Таким образом, при ХОБЛ исследуемые группы имели значимые различия по уровню конечных продуктов ПОЛ и активности каталазы альвеолярных макрофагов и

содержанию первичных продуктов ПОЛ в липидах мононуклеаров и активности в них каталазы.

Наряду с описанными изменениями пациенты с ХОБЛ существенно различались по содержанию в БАЛ нейтрофилов и макрофагов. Именно у ликвидаторов больных ХОБЛ были зарегистрированы наиболее низкие значения процентного содержания нейтрофилов в БАЛ ($3,2 \pm 3,0 \%$), а содержание макрофагов было выше (ЛПА – $89,7 \pm 8,8 \%$; группа сравнения – $77,6 \pm 11,5 \%$; $p = 0,004$).

Таблица 1.7.6

Параметры свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной системы у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких ($M \pm SD$)

Признак	Группа 1 (n)	Группа 2 (n)	Pt	Pu
ТБК-АП макрофагов нмоль/ 10^6 кл.	$1.43 \pm 0.46(17)$	$0.73 \pm 0.45(13)$	0.0003	0.002
ТБК-АП мононуклеаров нмоль/ 10^6 кл.	$0.19 \pm 0.06(19)$	$0.39 \pm 0.47(14)$	0.129	0.019
КД мононуклеаров Ед.ОП /мг липидов	$0.24 \pm 0.05(19)$	$0.34 \pm 0.16(14)$	0.028	0.015
ИО мононуклеаров	$0.64 \pm 0.26(19)$	$0.74 \pm 0.08(14)$	0.140	0.025
Каталаза нейтрофилов Ед./мг белка	$21.0 \pm 5.6(18)$	$25.1 \pm 5.0(14)$	0.039	0.032
Каталаза мононуклеаров Ед./мг белка	$11.2 \pm 6.9(18)$	$19.9 \pm 4.9(14)$	0.0004	0.0004
Каталаза макрофагов Ед./мг белка	$10.0 \pm 4.2(17)$	$17.9 \pm 2.9(13)$	<0.0001	0.0001

Группа 1 –: ЛПА; группа 2– группа сравнения.

В группе сравнения был проведен анализ исследуемых показателей, определенных у пациентов с ХНБ и с ХОБЛ (табл. 1.7.7).

Таблица информативности дает представление о том, что пациенты, не принимавшие участие в ликвидации аварии на ЧАЭС, с ХНБ и ХОБЛ различались по нескольким параметрам СРО. Из других исследованных показателей информативным было только содержание нейтрофилов в БАЛ, которое при ХОБ составило $11,8 \pm 7,1 \%$, а при ХНБ – $0,8 \pm 0,9 \%$ ($P < 0,001$). В целом, данные, представленные в таблице 7, свидетельствуют о более интенсивном протекании процессов СРО в мононуклеарах крови и альвеолярных макрофагах больных с ХОБЛ. В сыворотке уровень ТБК-АП не отличался от нормальных величин.

Таблица 1.7.7

Информативность признаков, определенных у пациентов с бронхолегочной патологией, не участвовавших в ликвидации аварии на ЧАЭС (группа сравнения)

Признак	Критерий Кульбака	Pj	n в гр. 1	n в гр. 2
Каталаза мононуклеаров	2.95	0.001	7	14
СОД макрофагов	2.68	0.002	7	14
КД макрофагов	2.45	0.004	7	14
КД нейтрофилов	2.22	0.006	7	14
ИО мононуклеаров	2.42	0.010	7	14
Перекись стим. мононуклеаров	2.30	0.012	7	15
СОД мононуклеаров	1.82	0.014	7	14
ТБК-АП макрофагов	2.29	0.015	7	14
Содержание нейтрофилов В БАЛ	1.97	0.022	7	14
КТ нейтрофилов	1.53	0.028	7	14
ИО макрофагов	1.87	0.037	7	14

Группа 1: пациенты с хроническим необструктивным бронхитом;
группа 2: пациенты с хронической обструктивной болезнью легких

Содержание индуцированных ТБК-АП сыворотки крови при ХНБ было даже выше, чем при ХОБЛ и достоверно выше нормы ($p < 0,05$). При ХОБЛ этот показатель от нормы отличался незначительно. Несмотря на достоверные различия, данный параметр обладал малой информативностью, так как его значения перекрывались в широком диапазоне. Пациенты с ХОБЛ имели и более активированные нейтрофилы, в которых повышенное образование продуктов СРО липидов сочеталось с более активной генерацией перекиси водорода и резко сниженным ее стимулированным уровнем, что однозначно свидетельствовало о существенном уменьшении функциональных резервов нейтрофилов. Хотя пациентов с ХОБЛ отличала более высокая продукция перекиси водорода нейтрофилами периферической крови, нельзя говорить о четком распределении этого параметра. При колебаниях значений продукции перекиси водорода нейтрофилами у здоровых лиц от 24,6 до 39,8 нмоль/10⁶ кл. в час., у 69 % пациентов с ХОБЛ этот показатель превышал 60,3 нмоль/10⁶ кл. в час., но у 4 он был ниже 25,0 нмоль/10⁶ кл. в час. Более четко различались стимулированные уровни перекиси водорода нейтрофилами. 14 из 15 пациентов с ХОБЛ имели их меньшими 15,9 нмоль/10⁶ кл. в час. при нижней границе нормы 61,0 нмоль/10⁶ кл. в час. У пациентов с ХНБ этот показатель колебался от 15,9 до 46,5 нмоль/10⁶ кл. в час., что тоже было значительно ниже уровня здоровых лиц.

Из-за больших индивидуальных колебаний уровня генерации перекиси водорода клетками крови и макрофагами нельзя говорить о диагностической значимости этого параметра более определенно, однако общая картина - это существенное снижение стимулированного уровня перекиси водорода всеми клеточными элементами у больных ХОБЛ. При ХНБ активность СОД мононуклеаров была достоверно ниже, чем при ХОБЛ, а в альвеолярных макрофагах наоборот. Активность каталазы мононуклеаров также была значительно ниже при ХНБ и в среднем была равна $8,6 \pm 4,2$ Ед./мг белка (при ХОБЛ – $19,9 \pm 4,9$ Ед./мг белка, $p = 0,00005$). При ХНБ все значения активности каталазы лежали в области значений ниже $14,8$ Ед./мг белка, а при ХОБЛ – выше этого значения. Несмотря на это, для ХОБЛ была характерна более высокая степень окисленности липидов мононуклеаров по сравнению с ХНБ. Интересно, что альвеолярные макрофаги данных пациентов с ХНБ и ХОБЛ не различались по активности каталазы и активность того фермента была в пределах нормы. Эти данные не свидетельствуют в пользу положения о том, что по уровню окислительного метаболизма и активности антиоксидантных ферментов мононуклеаров периферической крови можно судить об этих процессах в альвеолярных макрофагах.

Важным в диагностическом и патогенетическом плане является то обстоятельство, что существенно значимые отличия от нормальных величин были выявлены по показателям ПОЛ только для альвеолярных макрофагов, а в клетках крови они не отличались от нормы как при ХНБ, так и при ХОБЛ. Исключение составляли ТБК-АП мононуклеаров (группа здоровых – $0,069 \pm 0,018$ нмоль/ 10^6 кл.), содержание которых было повышено и при ХНБ и при ХОБЛ (табл. 1.7.8).

В отличие от группы сравнения в группе ЛПА пациенты с ХНБ и ХОБЛ с высокой степенью информативности различались только по трем параметрам: содержание лейкоцитов в крови, ТБК-АП и активность каталазы нейтрофилов.

Более 80 % пациентов с ХОБЛ ликвидаторов имели значения каталазы нейтрофилов менее $24,5$ Ед./мг белка (у здоровых лиц от $21,4$ до $37,8$ Ед./мг белка) и практически у всех с ХНБ эти значения были выше $24,5$ Ед./мг белка ($J = 1,8$, $P_j = 0,0128$). Низким значениям каталазы соответствовало высокое содержание ТБК-АП в нейтрофилах больных с ХОБЛ (таблица 1.7.9). При этом, в нейтрофилах было отмечено более низкое по сравнению с пациентами с ХНБ содержание первичных и вторичных продуктов СРО липидов – КД и КТ. Содержание КД нейтрофилов ($0,30 \pm 0,11$ Ед.ОП/мг липидов) и КТ нейтрофилов ($0,08 \pm 0,03$ Ед.ОП/мг липидов) находились в пределах нормальных величин (КД – $0,20 \pm 0,08$ и КТ – $0,077 \pm 0,02$ Ед.ОП/мг липидов), из чего можно было бы сделать вывод об отсутствии активации СРО липидов этих клеток у больных с ХОБЛ ЛПА, если пользоваться только этими данными

изолированно. Индексы окисленности липидов нейтрофилов и макрофагов также были ниже у пациентов с ХОБЛ.

Таблица 1.7.8

Параметры свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной системы у пациентов с бронхолегочной патологией, не участвовавших в ликвидации аварии на ЧАЭС ($M \pm SD$)

Признак	Группа 1 (n)	Группа 2 (n)	Pt	Pu
ТБК-АП сыворотки инд., мкмоль/л	5.33±2.38(7)	3.34±0.94(13)	0.056	0.032
ТБК-АП мононуклеаров нмоль/10 ⁶ кл.	0.16±0.04(7)	0.39±0.47(14)	0.0001	0.009
ТБК-АП макрофагов нмоль/10 ⁶ кл.	0.46±0.67(7)	0.73±0.45(13)	0.302	0.011
КД нейтрофилов Ед.ОП /мг липидов	0.14±0.01(7)	0.24±0.08(14)	0.0008	0.0007
КД макрофагов Ед.ОП /мг липидов	1.04±0.81(7)	4.54±1.96(13)	0.0001	0.0007
КТ нейтрофилов Ед.ОП /мг липидов	0.05±0.009(7)	0.09±0.02(14)	0.0005	0.002
КТ макрофагов Ед.ОП /мг липидов	0.34±0.24(7)	0.77±0.39(14)	0.017	0.011
ИО мононуклеаров	0.60±0.21(7)	0.74±0.08(14)	0.00001	0.014
ИО макрофагов	0.51±0.28(7)	0.81±0.24(14)	0.022	0.014
Перекись нейтрофилов нмоль/10 ⁶ кл. в час	35.0±16.0(7)	60.7±46.3(15)	0.077	0.057
Перекись нейтрофилов стим., нмоль/10 ⁶ кл. в час	23.1±30.7(7)	7.4±5.7(15)	0.026	0.038
Перекись мононуклеаров стим., нмоль/10 ⁶ кл. в час	26.0±12.9(7)	7.9±16.2(15)	0.018	0.014
Перекись макрофагов стим., нмоль/10 ⁶ кл. в час	39.4±43.5(7)	9.3±9.0(14)	0.099	0.138
СОД мононуклеаров отн.ед./мг белка	3.96±0.84(7)	5.16±1.28(14)	0.038	0.040
СОД макрофагов отн.ед./мг белка	5.00±1.26(7)	3.07±0.97(14)	0.001	0.004
Каталаза нейтрофилов Ед./мг белка	30.1±3.3(7)	25.2±5.0(14)	0.029	0.025
Каталаза мононуклеаров Ед./мг белка	8.6±4.2(7)	19.9±4.9(14)	0.00005	0.001

Группа 1 : пациенты с хроническим необструктивным бронхитом;
группа 2 : пациенты с хронической обструктивной болезнью легких.

Пациенты из группы ЛПА не различались и по уровню продукции АФК альвеолярными макрофагами, за счет того, что в группе с ХОБЛ половина пациентов имела почти нулевой уровень базальной продукции как супероксида, так и перекиси водорода. Обладая большим объемом информации, полученным в данном исследовании, можно рассматривать этот факт как неблагоприятный фактор, свидетельствующий об истощении субстратов для перекисного окисления липидов вследствие длительности и интенсивности процесса в предшествующий период.

Таблица 1.7.9

Параметры свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной системы у ЛПА с бронхолегочной патологией, ($M \pm SD$)

Признак	Группа 1 (n)	Группа 2 (n)	Pt	Pu
ТБК-АП нейтрофилов нмоль/10 ⁶ кл.	0.15±0.05(9)	0.37±0.14(19)	0.00001	0.0002
КД нейтрофилов Ед.ОП /мг	0.41±0.38(9)	0.30±0.11(19)	0.372	0.460
КТ нейтрофилов Ед.ОП /мг	0.21±0.15(9)	0.08±0.03(19)	0.024	0.0009
ИО мононуклеаров	0.86±0.24(9)	0.64±0.26(19)	0.045	0.029
ИО макрофагов	1.05±0.10(9)	0.87±0.23(17)	0.822	0.027
Перекись нейтрофилов стим., нмоль/10 ⁶ кл. в час	18.8±12.1(9)	8.4±6.6(20)	0.025	0.022
Супероксид нейтрофилов стим., нмоль/10 ⁶ кл. в час	25.9±14.1(9)	15.2±10.0(19)	0.029	0.037
Каталаза нейтрофилов Ед./мг белка	27.1±8.2(9)	21.0±5.6(18)	0.032	0.037
СОД нейтрофилов отн.ед./мг белка	5.2±1.4(9)	3.5±1.3(18)	0.009	0.025

Группа 1 : пациенты с хроническим необструктивным бронхитом;
группа 2 : пациенты с хронической обструктивной болезнью легких.

На это указывает и отсутствие достоверных различий между другими изученными показателями в группах ХНБ и ХОБЛ ликвидаторов, либо более низкие их значения у пациентов с ХОБЛ. Уровень ПОЛ и состояние АОС у ЛПА с ХНБ соответствовал их уровню у больных ХОБЛ группы сравнения, а у ликвидаторов с ХОБЛ эти показатели не только не повышались, а даже имели тенденцию к снижению, свидетельствуя об истощении резервов клеточного метаболизма. Пациенты с ХОБЛ группы сравнения с большой степенью достоверности отличались от больных с ХНБ ликвидаторов только по четырем параметрам из 34.

По ряду параметров у ЛПА с ХНБ изменения были даже более глубокими, чем в группе сравнения с ХОБЛ.

Только у пациентов с ХОБЛ в группе ЛПА наряду с глубокими нарушениями в окислительном метаболизме наблюдалось снижение функциональной способности исследованных клеточных элементов, в частности, их способность к фагоцитозу. Фагоцитарное число (ФЧ) нейтрофилов в этой группе было равно $3,2 \pm 0,5$ (у пациентов с ХНБ в группе сравнения – $4,0 \pm 0,6$, $p < 0,001$), а макрофагов – $2,5 \pm 0,7$. (у пациентов с ХНБ в группе сравнения – $3,8 \pm 0,7$, $p < 0,001$).

Для решения вопроса о влиянии на различия в уровне свободнорадикальных процессов между группами фазы заболевания был использован двухфакторный дисперсионный анализ для тех показателей, по которым были выявлены достоверные различия между группами. Этот анализ показал, что фаза заболевания (ремиссия или обострение) влияла на выявленные различия только двух исследованных показателей ТБК-АП и ИО макрофагов, а для других параметров выявленные изменения не зависели от фазы заболевания. В то же время, анализ данных в зависимости от фазы заболевания показал, что в группе ЛПА пациенты с бронхолегочной патологией имеют информативно значимые отличия только по трем параметрам (табл. 1.7.10).

Таблица 1.7.10

Информативность признаков, определенных у ЛПА с ронхолегочной патологией в зависимости от фазы заболевания

Признак	Критерий Кульбака	Pj	n в гр. 1	n в гр. 2
Перекись макрофагов	1.89	0.013	19	6
Каталаза макрофагов	1.63	0.024	19	6
Каталаза мононуклеаров	1.59	0.041	20	7

Группа 1: "обострение"; группа 2: "ремиссия";

В группе ЛПА в фазу обострения 16 из 19 пациентов имели значения активности каталазы альвеолярных макрофагов ниже 11,6 ЕД/мг белка (нижняя граница нормы – 14,8ед/мг белка), каталазы мононуклеаров – ниже 11,5 ЕД/мг белка (нижняя граница нормы – 11,5 ЕД/мг белка) и уровень продукции перекиси водорода альвеолярными макрофагами – выше $27,2 \text{ нмоль}/10^6 \text{ кл. в час}$ (верхняя граница нормы – $26,2 \text{ нмоль}/10^6 \text{ кл. в час}$). В фазу ремиссии все пациенты имели значения данных параметров выше (для активности каталазы) или ниже (для уровня продукции перекиси водорода) указанных границ. Таким образом, можно считать, что фактор фазы заболевания существенно влияет на различия двух групп только по показателю активности каталазы альвеолярных макрофагов и

мононуклеаров периферической крови и уровню продукции перекиси водорода альвеолярными макрофагами.

В группе сравнения анализ средних значений параметров показал, что большое число исследованных показателей зависит от фазы заболевания (табл. 1.7.11).

Таблица 1.7.11

Параметры свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной системы у пациентов группы сравнения с бронхолегочной патологией, в разные фазы заболевания ($M \pm SD$)

Признак	Группа 1 (n)	Группа 2 (n)	Pt	Pu
ТБК-АП сыворотки инд. мкмоль/л	3.54±1.19(17)	6.82±2.154(3)	0.047	0.044
ТБК-АП мононуклеаров нмоль/10 ⁶ кл.	0.34±0.42(18)	0.14±0.01(13)	0.075	0.034
ТБК-АП макрофагов нмоль/10 ⁶ кл.	0.72±0.55(17)	0.19±0.03(13)	0.004	0.009
КД нейтрофилов Ед.ОП/мг липидов	0.22±0.08(18)	0.14±0.008(3)	0.003	0.050
КД макрофагов Ед.ОП/мг липидов	3.80±2.23(17)	0.63±0.36(3)	0.0003	0.011
КТ нейтрофилов Ед.ОП/мг липидов	0.08±0.02(18)	0.05±0.003(3)	0.003	0.070
КТ макрофагов Ед.ОП/мг липидов	0.69±0.38(17)	0.21±0.16(3)	0.051	0.034
ИО нейтрофилов	0.70±0.13(18)	0.62±0.02(3)	0.0001	0.247
ИО мононуклеаров	0.72±0.14(18)	0.54±0.11(3)	0.042	0.035
ИО макрофагов	0.76±0.29(17)	0.42±0.08(3)	0.003	0.026
Перекись макрофагов нмоль/10 ⁶ кл. в час	51.4±75.8(18)	5.8±5.8(3)	0.032	0.056
Перекись макрофагов стим., нмоль/10 ⁶ кл. в час	11.4±11.5(18)	66.9±57.0(3)	0.0001	0.239
Супероксид макрофагов нмоль/10 ⁶ кл. в час	75.1±30.0(18)	26.8±17.9(3)	0.015	0.031
Супероксид мононуклеаров нмоль/10 ⁶ кл. в час	26.3±11.4(19)	9.6±6.0(3)	0.024	0.022
Каталаза мононуклеаров -Ед./мг белка	17.5±6.6(18)	8.2±4.9(3)	0.032	0.050
СОД макрофагов отн.ед./мг белка	3.46±1.33(17)	5.33±5.51(3)	0.029	0.050

Группа 1 : "обострение"; группа 2 : "ремиссия";

Если рассматривать картину в целом, можно обосновано говорить о наличии различий между исследованными параметрами в зависимости от

фазы заболевания. При этом, очевидна общая тенденция к восстановлению генерации стимулированных уровней АФК при снижении их базальной продукции, уменьшение степени окисленности липидов мембран клеток крови и альвеолярных макрофагов. Обращают на себя внимание два показателя. Содержание ТБК-АП сыворотки крови, индуцированное железом, было выше в фазу ремиссии и этот уровень существенно превышал нормальные величины ($2,2 \pm 0,3$ мкмоль/л, $p < 0,05$), а при обострении заболевания этот показатель мало отличался от нормы. Этот факт еще раз указывает на то, что при более тяжелых патологических состояниях сывороточные уровни продуктов ПОЛ могут определяться в пределах нормальных величин, что нельзя не учитывать при их анализе в диагностических и прогностических целях.

Как было показано выше, исследуемые группы значительно различались по уровню нейтрофилов в БАЛ. Оказалось, что это различие обусловлено тем, что в группе сравнения содержание нейтрофилов в БАЛ резко увеличивалось в фазу обострения, составляя в среднем $9,5 \pm 7,8$ % (в фазу ремиссии – $0,67 \pm 1,15$ %, $p < 0,01$). В группе ЛПА содержание нейтрофилов оставалось одинаково низким как в фазу ремиссии ($2,5 \pm 2,7$ %), так и в фазу обострения ($2,9 \pm 2,7$ %).

Описанные тенденции сохранялись и при анализе зависимости исследованных параметров от фазы заболевания в группе ЛПА с ХОБЛ. Значения практически всех показателей не зависели от фазы заболевания, то есть в фазу клинической ремиссии показатели СРО липидов, АОС, фагоцитоза, клеточного состава БАЛЖ и иммунитета у ЛПА с ХОБЛ не нормализовались, а оставались на уровне, характерном для обострения. К сожалению невозможно было провести такой анализ для больных ХОБЛ группы сравнения, так как в ней оказалось только два пациента в фазе ремиссии. Однако, анализ группы в целом, как было показано выше, продемонстрировал существенные различия исследованных параметров в зависимости от фазы заболевания, особенно для макрофагов. Другими словами, у пациентов “не ликвидаторов” фаза клинической ремиссии сопровождалась нормализацией ряда очень важных параметров, характеризующих состояние СРО и АОС, а у “ликвидаторов” состояние свободнорадикальных процессов и антиоксидантной системы не соответствовало клинической фазе ремиссии.

Через две-три недели пребывания в клинике часть пациентов была обследована повторно по всем параметрам СРО и АОС. Динамики изученных показателей выявлено не было, и в этот период сохранялись различия между группами.

Детальный анализ корреляционных связей между исследованными параметрами в группе сравнения и ЛПА показал взаимозависимость между способностью клеток крови и альвеолярных макрофагов к продукции стимулированных уровней активных форм кислорода и содержанием в

этих клетках продуктов СРО липидов и активности АО ферментов. Эти данные можно обобщить следующим образом. При низких значениях АО ферментов и высоком содержании первичных продуктов СРО липидов нейтрофилы и лимфоциты снижали свою способность к выработке активных форм кислорода в ответ на стимул.

Так, была выявлена достоверная отрицательная корреляция между активностью СОД макрофагов и уровнем продукции перекиси водорода в группе ЛПА, причем корреляционные отношения указывали на взаимосвязь параметров. То есть, повышение продукции перекиси водорода макрофагами приводило к снижению активности СОД в этих клетках, но и низкий уровень активности СОД способствовал увеличению генерации перекиси водорода (табл. 1.7.12).

Таблица 1.7.12

Корреляционные связи между супероксиддисмутазой (x) и продукцией перекиси водорода (y) альвеолярных макрофагов ЛПА с бронхолегочной патологией

Коэффициент корреляции	Значение	P	Вывод
Пирсона	-0.607	0.0009	Признаки линейно зависимы
Спирмена	-0.678	0.0001	Признаки зависимы
Кендала	-0.507	0.0004	Признаки зависимы
Корреляционное отношение y/x	0.613	0.043	Признак y зависит от x
Корреляционное отношение x/y	0.692	0.008	Признак x зависит от y

Таблица 1.7.13

Корреляционные связи между супероксиддисмутазой (x) и индексом окисленности (y) альвеолярных макрофагов ЛПА с бронхолегочной патологией

Коэффициент корреляции	Значение	P	Вывод
Пирсона	-0.594	0.001	Признаки линейно зависимы
Спирмена	-0.457	0.020	Признаки зависимы
Кендала	-0.347	0.015	Признаки зависимы
Корреляционное отношение y/x	0.699	0.007	Признак y зависит от x
Корреляционное отношение x/y	0.729	0.003	Признак x зависит от y

Окисленность липидов макрофагов (ИО), несомненно, имела тесную отрицательную корреляцию с активностью СОД макрофагов, причем оба параметра влияли друг на друга (табл. 1.7.13).

Не менее интересна и положительная корреляция между ИО макрофагов и ФЧ макрофагов, подтвержденная всеми рассчитанными коэффициентами корреляции и гистограммой распределения значений. В этом случае направление связи указывало на влияние ФЧ на ИО макрофагов (табл. 1.7.14).

Таблица 1.7.14

Корреляционные связи между фагоцитарным числом (x) и индексом окисленности (y) альвеолярных макрофагов ЛПА с бронхолегочной патологией

Коэффициент корреляции	Значение	P	Вывод
Пирсона	0.606	0.001	Признаки линейно зависимы
Спирмена	0.503	0.010	Признаки зависимы
Кендала	0.384	0.008	Признаки зависимы
Корреляционное отношение y/x	0.629	0.040	Признак y зависит от x
Корреляционное отношение x/y	0.579	0.086	Зависимость x от y не обнаружена

Чем активнее протекал фагоцитоз макрофагов, тем глубже были окислительные повреждения липидов макрофагов. От фагоцитоза макрофагов зависел и стимулированный уровень перекиси водорода макрофагов, параметры имели достоверную положительную корреляцию (табл. 1.7.15).

Впрочем стимулированный уровень продукции перекиси водорода также оказывал влияние на активность фагоцитоза. Отрицательная корреляция ФЧ и ТБК-АП макрофагов, вероятно, была менее значима ввиду независимости этих показателей. Выявление подобных взаимосвязей тем более важно и интересно, потому что среди информативных признаков показатели фагоцитоза не встречались. А получение информации о связи структурных и функциональных нарушений чрезвычайно важно как с точки зрения изучения патогенеза, так и задач лабораторной диагностики. Следует отметить, что подобная зависимость была выявлена только для альвеолярных макрофагов группы ЛПА.

Анализ неустойчивых связей продемонстрировал существенные различия в корреляционных зависимостях, выявляемых у ЛПА и группе сравнения. При этом в группе ЛПА исчезали логичные с точки зрения

биохимии процесса зависимости, которые в группе сравнения были очень сильны и достоверны. Например, исчезла зависимость между индексом окисленности липидов макрофагов и вторичными продуктами ПОЛ этих клеток и даже между содержанием в липидах нейтрофилов первичных и вторичных продуктов ПОЛ.

Таблица 1.7.15

Корреляционные связи между фагоцитарным числом (x) и стимулированным уровнем перекиси водорода (y) альвеолярных макрофагов ЛПА с бронхолегочной патологией

Коэффициент корреляции	Значение	P	Вывод
Пирсона	0.568	0.003	Признаки линейно зависимы
Спирмена	0.544	0.005	Признаки зависимы
Кендала	0.420	0.004	Признаки зависимы
Корреляционное отношение y/x	0.712	0.007	Признак y зависит от x
Корреляционное отношение x/y	0.748	0.038	Признак x зависит от y

Некоторые связи у в группе ЛПА не только исчезали или ослабевали, но и меняли свой знак. То есть, положительная связь становилась отрицательной. Например, каталаза нейтрофилов в группе сравнения была связана достоверной отрицательной корреляционной связью с вторичными продуктами ПОЛ нейтрофилов (КТ), что вполне логично. А в группе ЛПА эта связь уже положительная, что предполагает соответствие высокому уровню активности каталазы высокой активности протекания процессов ПОЛ нейтрофилов, что гораздо труднее поддается трактовке. Подобный анализ дает основание полагать, что процессы СРО у ликвидаторов подвергаются влиянию дополнительных факторов и взаимосвязи между процессами СРО и компонентами АОС существенно нарушены и разрегулированы, что также должно учитываться при анализе этих процессов в клинике.

При определении карбонильных групп в белках сыворотки крови пациентов с различной соматической патологией было показано существенно более высокое содержание их в группе ЛПА, по сравнению с группой сравнения, в которой их уровень не так резко превышал нормальные величины (табл. 1.7.16).

Низкую информативность сывороточных показателей интенсивности процессов СРО и потенциала АОС демонстрирует и определение общей антиоксидантной активности сыворотки крови.

Таблица 1.7.16

Содержание карбонильных групп в белках сыворотки крови у пациентов с различной соматической патологией, участвовавших и не участвовавших в ликвидации аварии на ЧАЭС (мкмоль/мг белка) ($M \pm SD$)

Длина волны	Группа 1	Группа 2	Группа 3
363	15.9±2.7	46.3±8.2*	65.9±9.2**
274	29.5±6.3	40.0±2.5*	161.8±43.6**

Группа 1: здоровые лица; группа 2: группа сравнения; группа 3: ЛПА;

*- статистически достоверные различия по сравнению с 1-ой группой;

** - статистически достоверные различия со 2-ой группой.

При колебаниях нормальных значений АОА от 1.33 до 1.83 ммоль/л, у пациентов с бронхолегочной патологией из группы сравнения она составила в среднем $1,77 \pm 0,27$ ммоль/л, а в группе ЛПА – $1,74 \pm 0,34$ ммоль/л. Ни у одного пациента не было определено АОА сыворотки ниже нормы и это в то время как в клетках крови и альвеолярных макрофагах была резко снижена активность антиоксидантных ферментов, а в мембранах клеток были выражены окислительные повреждения.

Свободнорадикальные процессы активно изучаются и при бронхолегочной патологии и при воздействии на организм неблагоприятных факторов внешней среды. Однако выводы подобных исследований в основном указывают на патогенетическое значение выявленных нарушений и редко делаются попытки увязать дисбаланс между образованием свободных радикалов и антиоксидантами с клиническими проявлениями заболевания. Для успешного использования методов оценки окислительного стресса в клинической практике очень важно иметь информацию об общих принципах и критериях как выбора, наиболее информативных показателей, так и для корректной интерпретации полученных результатов. Например, в нашем исследовании были выявлены существенные информационно значимые различия между группами “ликвидатор” и “не ликвидатор” у пациентов с бронхолегочной патологией по уровню ТБК-АП и активности каталазы альвеолярных макрофагов. Дальнейший анализ показал, что эти различия обусловлены фазой заболевания. То есть, значительно более низкие значения активности каталазы и более высокие значения уровня ТБК-АП в альвеолярных макрофагах “ликвидаторов” определяются только в фазу обострения заболевания, и результат сравнения этих показателей между группами будет зависеть от количества больных с обострением в данной группе. Этот факт несколько снижает возможности указанных параметров для использования их в качестве маркеров выраженности окислительного стресса у пациентов, имеющих в анамнезе радиационный фактор. Во всяком случае, в подобных исследованиях неперенным условием

становится необходимость установления влияния различных факторов на динамику изменений параметров СРО и АОС и полученные сведения должны использоваться при трактовке результатов исследования.

Обобщая полученные результаты, прежде всего, следует обратить внимание на четкие различия в степени выраженности окислительного стресса между больными ХНБ группы сравнения и группы ЛПА. Характерные для ликвидаторов гиперпродукция АФК лейкоцитами периферической крови и альвеолярными макрофагами, существенно повышенная степень окисленности липидов и окислительной деструкции белков, дефицит ферментов антиоксидантной защиты свидетельствуют о разрушительном действии окислительного стресса на внутренние среды организма этой группы больных. Наиболее слабым звеном в данном случае оказывается система альвеолярных макрофагов. В сущности, уровень окислительного стресса у ЛПА с ХНБ соответствует его уровню при ХОБ в этой группе больных. При этом альвеолярные макрофаги в значительной степени теряют свою функциональную активность и способность отвечать на контакт с антигеном выработкой бактерицидных АФК. В отличие от группы ЛПА у больных с ХНБ группы сравнения показатели окислительного стресса лейкоцитов периферической крови не отличались от нормы, а степень окисленности липидов была даже снижена. Одним из факторов формирования ХНБ может быть активирование альвеолярных макрофагов, незначительная потеря ими функциональной активности. Различия между этими группами в значительной степени стираются у больных с ХОБ. В этой же группе пациентов отсутствует нормализация СРО процессов в фазу клинической ремиссии, что делает исследование состояния процессов СРО и АОС необходимым инструментом для контроля за наступлением фазы истинной ремиссии заболевания. Причиной этого может стать вторичная активация свободнорадикальных процессов вследствие развития обструкции бронхов и сопутствующих патофизиологических реакций. Однако отличительной чертой ликвидаторов с ХОБЛ является полная потеря активности ферментативных систем, ответственных за образование АФК, более, чем у половины больных, что свидетельствует о тенденции к увеличению неактивного пула иммунокомпетентных клеток у этой категории больных. Полученные результаты, согласуются с данными В.П.Мищенко и соавт.(1993), которые отмечали сниженный уровень пероксидации в крови и интенсивности дыхательного взрыва активных нейтрофилов у лиц, участвовавших в ликвидации аварии на ЧАЭС, через 5 лет. Ослабление активности нейтрофилов, а также мононуклеаров и АМ, может быть связано с изменениями в структуре ДНК.

Результаты данного исследования также указывают на высокую информативность показателей окислительного стресса в нейтрофилах периферической крови, особенно в группе ЛПА. Повышенные уровни

образования свободнорадикальных продуктов в липидах клеточных мембран этих клеток и низкая активность в них антиоксидантных ферментов сочетаются с резким снижением содержания нейтрофилов в БАЛ, что, возможно, и определяет ослабление механизмов неспецифической защиты при бронхолегочной патологии у ЛПА. В настоящий момент мы не имеем достаточно данных, позволяющих говорить о причинно-следственной связи этих двух явлений. Тем не менее, можно предположить, что изменение структуры клеточной поверхности нейтрофилов, вследствие окислительных повреждений, препятствует притоку этих клеток в очаг воспаления и реализации их защитной функции. Возможна и другая трактовка, предполагающая снижение нейтрофилов в БАЛ как защиту от дополнительного повреждения структур легочной ткани АФК, генерируемыми этими клетками. Очевидно, что нейтрофил является перспективным объектом для изучения окислительного метаболизма при бронхолегочной патологии и, особенно у пациентов с радиационным воздействием в анамнезе.

Таблица 1.7.17

Биомаркеры “окислительного стресса” у здоровых лиц и пострадавших при ликвидации аварии на ЧАЭС ($M \pm SD$)

Показатели	Группа 1	Группа 2	Количество патологических результатов
Кластогенные факторы, %	0.80±1.10	11.0±1.24	95 %
Супероксид нейтрофилов нмоль/10 ⁶ кл. в час	20.2±4.7	64.3±28.1	97 %
Супероксид мононуклеаров нмоль/10 ⁶ кл. в час	11.8±3.9	35.1±21.6	79 %
Перекись нейтрофилов нмоль/10 ⁶ кл. в час	32.2±7.6	103.6±69.8	75 %
Перекись мононуклеаров нмоль/10 ⁶ кл. в час	18.3±3.4	23.6±29.5	42 %
СОД нейтрофилов отн.ед./мг белка	4.2±0.5	2.36±0.39	82 %
СОД эритроцитов отн.ед./мг белка	2.6±1.1	4.8±1.8	40 %
Глутатион восст. эритроцитов, мкмоль/мл	3.0±0.4	1.7±0.7	85 %

Группа 1: здоровые лица; группа 2: "ликвидатор";

Патологические результаты определялись как выходящие за пределы $\pm 2\delta$ от контроля.

Об этом свидетельствуют и результаты исследования, проведенного нами совместно с I. Emerit (1997) по определению в сыворотке крови 88 ликвидаторов с различной соматической патологией кластогенных факторов и сопоставлению их уровня с выраженностью “окислительного стресса”, определенного по параметрам СРО и АОС (табл. 1.7.17).

Из данных таблицы видно, что 95 % ликвидаторов имели в сыворотке крови резко повышенный уровень кластогенных факторов. Параллельно у 97 %-определялся резко повышенный уровень продукции супероксида нейтрофилами периферической крови у 85 % и 82 % - сниженный уровень восстановленного глутатиона эритроцитов и активности СОД нейтрофилов. Как было описано в обзоре литературы, кластогенные факторы могут приводить к повреждению генетического аппарата клетки, их образование опосредовано супероксидным радикалом. В свою очередь сами кластогенные факторы способны побуждать клетки крови к продукции супероксида. Таким образом, определение супероксидного радикала нейтрофилами периферической крови является не только маркером “окислительного стресса”, а может служить признаком возможного образования в крови кластогенных факторов, оказывающих на клеточный метаболизм неблагоприятное воздействие. Этот показатель может оказаться очень интересным для клинической лабораторной диагностики, так как кластогенные факторы образуются не только при радиационно-индуцированных патологических состояниях, но и при аутоиммунных заболеваниях, при ВИЧ-инфицировании, могут рассматриваться как фактор риска канцерогенеза.

Таким образом, результаты данного исследования демонстрируют разнообразные перспективы использования параметров "окислительного стресса" в клинической лабораторной диагностике при соматической патологии ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС и у пациентов с бронхолегочной патологией.

1.8. ОЦЕНКА МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СТАТУСА ЛИЦ ОПАСНЫХ ПРОФЕССИЙ

Одним из перспективных направлений современной медицины является изучение микроэлементного «портрета» населения отдельных биогеохимических регионов и профессиональных групп с целью внедрения мероприятий по устранению выявленных нарушений микроэлементного состава (так называемых микроэлементозов) (Сусликов В.Л., 1999).

Наличие многочисленных микроэлементов в организме и их концентрация в определенных органах и тканях не случайны, а связаны с их биологической ролью в процессах жизнедеятельности организма (Скальная М.Г., 2004; Лим Т.Е., 2007). Каждый химический элемент выполняет определенную физиологическую роль, и отдельные элементы друг друга не заменяют. Химические элементы входят в состав и участвуют в образовании витаминов, ферментов, гормонов и других веществ, регулирующих биохимические процессы. Таким образом, все процессы обмена веществ в организме, включая процессы, происходящие внутри клетки, совершаются при обязательном участии определенных химических элементов.

Общеизвестно, что биологические эффекты большинства микроэлементов дозозависимы, поэтому их недостаток, или избыток приводят к развитию патологических процессов – микроэлементозов.

Важность для жизнедеятельности организма большинства химических элементов подробно проанализирована в медицинской литературе (Агаджанян Н.А., 2001; Скальный А.В., 2003; Скальная М.Г., 2004).

По результатам научных исследований последних лет, одним из факторов риска развития функциональных расстройств является нарушение гомеостаза макро- и микроэлементов, которое, приводит к снижению резервов здоровья и ухудшению адаптации к профессиональной деятельности у работников опасных и вредных профессий.

Так, по данным литературы, у лиц, подверженных влиянию токсических факторов производства, описаны случаи увеличения частоты инфекционных, респираторных заболеваний, функциональных расстройств желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы. Авторы связывают эти нарушения здоровья с изменениями в эндокринной и иммунной системах, в функционировании которых большую роль играют микроэлементы. Многофакторность антропогенной нагрузки в городской среде в совокупности с производственными факторами способствуют снижению функциональных резервов организма (Некрасов В.И., 2006; Ликвидаторы последствий аварии...., 2008).

В целом, при анализе состояния микроэлементного статуса у лиц опасных профессий необходимо учитывать множество факторов, среди которых:

- влияние вредных химических, радиационных и физических факторов, присущих данной профессии;
- стрессовые компоненты труда и связанные с этим изменения метаболизма;
- сложившийся к данному моменту медицинский анамнез;
- индивидуальные пищевые пристрастия;
- геобиохимические особенности территории проживания;
- наследственные факторы.

Ряд факторов поддаются количественному учету и могут быть включены в рассмотрение возможных причинно-следственных связей у лиц с нарушенным макро- и микроэлементным статусом.

Современные методы определения макро- и микроэлементов в биосредах

Современные методы анализа позволяют определять содержание в биопробах большинства элементов периодической таблицы Д. И. Менделеева с высокой точностью и чувствительностью.

Широко используются следующие методы:

- метод атомно-абсорбционной спектроскопии с атомизацией в пламени (ААС в пламени);
- метод атомно-абсорбционной спектроскопии с атомизацией в графитовой кювете (ААС с графитовой кюветой);
- метод атомно-эмиссионной спектроскопии с возбуждением в индукционно-связанной плазме (ИСП-АЭС);
- масс-спектрометрический метод с ионизацией в индукционно-связанной плазме (ИСП-МС).

В таблице 1.8.1 представлены диапазоны измерения концентраций микроэлементов при использовании различных методов.

Для всех этих методов предполагается проведение разложения на стадии подготовки проб и перевод пробы в жидкое состояние. В настоящее время, с этой целью широко используются специализированные микроволновые системы разложения проб, сокращающие временные затраты на пробоподготовку до 15 минут и характеризующиеся малой вероятностью загрязнения и потерей микроэлементов.

Как следует из данных таблицы, масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой является наиболее чувствительным методом, позволяющим определять содержание микроэлементов в пробе в диапазоне концентраций $10^{-6} \div 10^2$ мг/л (Рамендик Г.И., 1987).

Таблица 1.8.1

**Диапазоны измерения концентраций микроэлементов
при использовании различных методов**

Используемый метод	Диапазон измерения концентраций микроэлементов, мг/л
ААС в пламени	$10^{-2} \div 10^2$
ААС с графитовой кюветой	$10^{-4} \div 10$
ИСП-АЭС	$10^{-3} \div 1$
ИСП-МС	$10^{-6} \div 10^2$

Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, методика определения

Основной принцип работы масс-спектрометра состоит в том, что метод ИСП-МС комбинирует использование индуктивно-связанной плазмы в качестве источника ионов с квадрупольным масс-спектрометром, выступающим в роли масс-анализатора, и дискретно-диодным детектором, который используется для регистрации отдельных ионов и их потоков.

Индуктивно-связанная плазма поддерживается в специальной горелке, способна возбуждать однозарядные ионы из атомов вводимого образца. Далее ионы фокусируются ионно-оптической системой и попадают в анализатор масс-спектрометра, где разделяются по отношению масс к заряду. Соответствующий ионный поток регистрируется детектором. Через масс-спектрометр в каждый момент времени пропускаются ионы со строго определенным соотношением массы и заряда, которые затем попадают в детектор для количественной регистрации. В современных ИСП-МС приборах применяется двойная регистрация сигналов: импульсный режим одного сегмента детектора для подсчета отдельных ионов и аналоговый режим другого – для регистрации ионных токов.

Исследование элементного состава биологических проб проводилось в лаборатории элементного анализа ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России, с использованием метода масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (прибор серии X ICP-MS «Thermo Elemental» с микроволновой системой разложения «Mars 5»).

Для оценки состояния минерального обмена у лиц опасных профессий использовались сыворотка крови, волосы, моча и слюна. Выбор среды в конечном итоге определялся непосредственно той задачей, которая решалась в каждом конкретном случае. При прочих равных условиях предпочтение отдавалось химическому анализу состава волос. Это объясняется тем, что многочисленные эколого-физиологические и

гигиенические исследования показали, что элементный состав волос адекватно отражает биогеохимическое окружение организма, коррелирует с уровнем биоэлементов во внутренней среде, характеризует элементный статус организма и может служить средством диагностики нарушений минерального обмена (Применение атомно-эмиссионной спектроскопии..., 2005; Elemental anomalies in hair..., 2001). Правомерность и эффективность использования волос в качестве тест - объекта для анализа микроэлементного состава доказана результатами международных программ, выполненных под эгидой Международного агентства по атомной энергии (МАГАТЭ). Это подтверждают и исследования, проведенные Т.И. Бурцевой и И.А. Рудаковым (2007).

Волосы длиной в 2–4 см в количестве не менее 0,1 г для микроэлементного анализа состригали с нескольких (3–5) участков затылочной части головы и обрабатывались в соответствии с рекомендациями МАГАТЭ (Методика определения микроэлементов..., 2003).

Навеску образца весом 0,1г помещали во фторопластовый вкладыш и добавляли 5 мл азотной кислоты.

Автоклав с пробой во вкладыше помещали в микроволновую печь и разлагали пробу, используя программу разложения, рекомендованную производителем печи.

Растворенную пробу, после измерения объема, переносили в пробирку, разбавляя пробу в 1000 раз.

Чтобы скомпенсировать при этом погрешность разбавления, перед разложением в пробу добавляли раствор внутреннего стандарта (In), чтобы концентрация внутреннего стандарта в конечном растворе, направляемом на анализ, составляла примерно 10 мкг/л.

Раствор холостой пробы готовили с выполнением всех указанных выше операций, за исключением операции взятия навески.

После градуировки спектрометра, в пробах волос определяли концентрацию 27 химических элементов. Результаты исследований обрабатывались с помощью программного обеспечения Plasma-Lab 2.5.4. Оценку полученных результатов осуществляли по нормативам, опубликованным в монографии (Скальный А.В., 2003).

Использование данного метода оценки микроэлементного статуса у лиц опасных профессий было осуществлено при обследовании 100 участников ликвидации аварии на ЧАЭС в 1986 -1990 годах, в настоящее время проживающих на территории Санкт-Петербурга и Ленинградской области. С помощью предварительного опроса уточняли: год участия в радиационно-опасных работах, полученную при этом дозу радиоактивного облучения, последующую профессиональную деятельность, медицинский статус, особенности питания.

Особенности микроэлементного состава волос участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС

В таблице 1.8.2 представлены основные статистически обработанные результаты анализа волос лиц, принимавших участие в ликвидации аварии на ЧАЭС, по отдельным макро- и микроэлементам.

Таблица 1.8.2
Основные статистические показатели концентрации химических элементов в волосах участников ЛПА на ЧАЭС, мкг/г

	Среднее значение	Стд.откл.	Медиана	Нижняя Квартиль	Верхняя Квартиль	Мин.	Макс.
Be (бериллий)	0,010	0,021	0,0020	0,0000	0,0100	0,000	0,100
B (бор)	3,013	1,519	2,6700	2,1000	3,6000	0,060	9,000
Na (натрий)	210,58	98,41	222,00	145,00	256,00	55,50	672,10
Mg (магний)	80,69	35,46	77,00	52,56	107,00	1,61	149,90
Al (алюминий)	10,83	8,00	8,00	4,90	15,70	1,00	41,40
P (фосфор)	128,31	63,42	122,02	87,48	166,47	7,48	376,73
K (калий)	162,64	130,68	125,33	72,70	244,77	10,50	772,43
Ca (кальций)	374,47	206,46	345,45	210,76	534,10	39,31	927,50
V (ванадий)	8,65	73,44	0,149	0,068	0,340	0,001	728,100
Cr (хром)	1,166	0,763	1,090	0,519	1,720	0,042	3,071
Mn (марганец)	1,051	0,841	0,850	0,440	1,450	0,007	3,455
Fe (железо)	17,422	10,431	15,600	10,400	20,200	1,100	57,600
Co (кобальт)	0,134	0,205	0,070	0,029	0,122	0,003	1,116
Ni (никель)	1,703	2,975	1,090	0,430	2,015	0,005	27,933
Cu (медь)	29,901	23,266	24,400	8,321	50,533	0,190	84,553
Zn (цинк)	100,392	43,415	94,888	67,161	126,857	0,000	237,458
Se (селен)	0,250	0,440	0,130	0,100	1,000	0,000	1,260
As (мышьяк)	0,063	0,339	0,000	0,000	0,000	0,000	3,250
Rb (рубидий)	0,586	0,392	0,407	0,320	0,870	0,000	2,073
Sr (стронций)	2,846	2,580	1,936	0,890	4,211	0,000	12,800
Ag (серебро)	0,258	0,355	0,110	0,031	0,328	0,000	2,130
Cd (кадмий)	0,297	0,342	0,249	0,060	0,350	0,002	2,150
Ba (барий)	1,438	2,004	0,700	0,400	1,262	0,080	9,400
Tl (таллий)	0,005	0,031	0,000	0,000	0,000	0,000	0,300
Pb (свинец)	5,258	4,035	4,086	2,159	7,332	0,002	16,600
Hg (ртуть)	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
I (йод)	0,700	0,500	0,050	0,000	0,900	0,002	1,300

Мультиэлементный анализ волос участников ЛПА на ЧАЭС, проживающих в настоящее время в Санкт-Петербурге показал, что у 80 % обследованных ликвидаторов аварии выявлены нарушения минерального баланса связанные с дефицитом жизненно необходимых элементов (кальция, цинка, селена и йода), у 45 % – повышенным содержанием токсичных элементов (кадмия и свинца).

Среди структурных (макро) элементов на первое место выдвигается проблема дефицита кальция. Недостаток кальция в свою очередь способствует накоплению в организме токсичного свинца (табл. 1.8.3).

Таблица 1.8.3

Содержание кальция и его антагониста, свинца в волосах обследованных (медиана, диапазон колебаний, процент лиц с превышением или снижением ниже допустимого уровня)

Кальций (Ca)			Свинец (Pb)		
Медиана, мкг/г	Мин.- макс., мкг/г	% пациентов со сниженным содержанием микроэлемента	Медиана, мкг/г	Мин.- макс., мкг/г	% пациентов с повышенным содержанием микроэлемента
345,44	39,3 - 927,5	58	4,08	0,2-11,4	40,0

По содержанию в организме участников ЛПА жизненно необходимых микроэлементов картина выглядит следующим образом. Выявлена напряженность обмена селена, йода и цинка (табл.1.8.4). У 80 % группы ЛПА выявлен недостаток селена, микроэлемента-иммуномодулятора, антиоксиданта, защищающего организм, от воздействия тяжелых металлов. Более чем у 70 % обследованных наблюдался йодный дефицит.

Таблица 1.8.4

Содержание селена и йода в волосах обследованных (медиана, диапазон колебаний, процент лиц со снижением ниже допустимого уровня)

Селен (Se)			Йод (I)		
Медиана, мкг/г	Мин.- макс., мкг/г	% пациентов со сниженным содержанием микроэлемента	Медиана, мкг/г	Мин.- макс., мкг/г	% пациентов со сниженным содержанием микроэлемента
0,98	0,04 – 1,1	80	0,05	0,002-1,3	73

По данным литературы цинк активизирует около 200 различных ферментов, ответственных за самый широкий спектр биохимических реакций в организме (регуляция деления и созревания клеток, синтез инсулина, подавление воспалительных процессов и.т.д.). Дефицит цинка зафиксирован у 77 % ликвидаторов, что привело к усиленному

накоплению и повышенному содержанию кадмия и меди (у 45 % обследованных концентрация кадмия и у 57 % – меди) (табл.1.8.5). Избыток меди и кадмия, в свою очередь, может привести к функциональным расстройствам нервной системы, печени и почек.

Таблица 1.8.5

Содержание цинка, кадмия и меди в волосах обследованных (медиана, диапазон колебаний, процент лиц с превышением или снижением ниже допустимого уровня)

Цинк (Zn)	Медиана, мкг/г	94,88
	Мин.-макс., мкг/г	67,16-237,46
	% пациентов со сниженным содержанием микроэлемента	77
Кадмий (Cd)	Медиана, мкг/г	0,23
	Мин.-макс., мкг/г	0,03-0,84
	% пациентов с повышенным содержанием микроэлемента	45
Медь (Cu)	Медиана, мкг/г	24,40
	Мин.-макс., мкг/г	0,19-65,8
	% пациентов с повышенным содержанием микроэлемента	57

Для характеристики влияния токсических элементов на метаболизм жизненно-необходимых, оценивались соотношения между ними. Выявлено снижение значений соотношения Zn/Cd меньше 500 и Ca/Pb меньше 100, что по данным исследователей, характеризует патологическое влияние токсичных микроэлементов, приводящее к нарушению биохимических процессов в организме человека (табл. 1.8.6).

Анализ взаимосвязи дисбаланса микроэлементов с возрастом, местом проживания, питанием, годом участия в ликвидации последствий аварии, дозой облучения, спецификой работы не выявил достоверных корреляционных связей.

В целом, подводя итог полученным результатам, следует учесть, что наряду с генетически обусловленными индивидуальными особенностями метаболизма веществ, для всех участников ликвидации радиационной аварии на ЧАЭС в настоящее время проживающих на территории Санкт-Петербурга, характерны ряд общих факторов, имеющих непосредственное отношение к формированию их элементного статуса:

- неопределенное и зачастую сверхнормированное воздействие химических элементов, в том числе радиоактивных изотопов в период проведения аварийно-восстановительных работ в 1986 – 1989 гг.;
- профессиональная неоднородность когорты ликвидаторов («случайная выборка»), в связи с чем, не учитывались другие возможные влияния, предшествующие исследованию (профессиональные контакты с самыми различными химическими элементами);
- проживание обследуемых лиц на территории Северо-Запада России с характерным для него биогеохимическим окружением;
- проживание на территории мегаполиса, что вносит свои особенности в формирование микроэлементного статуса;
- изменением за последние годы структуры и качества питания населения России;
- высокой вероятностью ятрогенных микроэлементозов, вследствие выраженной распространенности среди обследованных лиц хронической патологии и как следствие этого – систематический многолетний прием фармпрепаратов, которые, как правило, представляют собой металло - белковые лиганды

Абсолютное большинство исследователей, анализируя медицинские последствия аварии на ЧАЭС в отношении ЛПА, зачастую употребляют обобщающий термин – комплекс неблагоприятных факторов аварии на ЧАЭС, подразумевая под этим негативное воздействие не только ионизирующего излучения, но и огромное число химических компонентов, которые оказывали влияние на лиц, непосредственно ликвидировавших радиационную угрозу. Так, по данным некоторых авторов (Содержание плутония и некоторых микроэлементов..., 1997), при ликвидации аварии было сброшено в район разрушенного реактора в общей сложности 1500 тонн свинца и 5520 свинцовых болванок.

Что касается проживания на территории Северо-Запада России, то по данным Келлер А.А. (1998) общей для всего Северо-Западного региона особенностью биогеохимической ситуации является недостаток кальция, магния, калия, фосфора, йода, фтора, кобальта, молибдена, бора, что создает природные предпосылки возникновения биогеохимических эндемий (в частности, кариеса зубов и эндемического зоба) и других микроэлементозов. Ситуация осложняется тем фактом, что в условиях мегаполиса отмечается интенсивный прессинг на его жителей токсичных химических компонентов внешней среды (Черняева Т.К., 1997).

Таблица 1.8.6

Коэффициенты соотношения эссенциальных и токсических элементов
(медиана, диапазон колебаний, процент лиц со сниженными значениями
коэффициента)

Кальций/свинец (Ca/Pb)	Медиана, мкг/г	84,6
	Мин.-макс., мкг/г	81,3-196,5
	% пациентов со сниженным коэффициентом соотношения микроэлементов	70
Цинк/кадмий (Zn/Cd)	Медиана, мкг/г	412,5
	Мин.-макс., мкг/г	282,7-2238
	% пациентов со сниженным коэффициентом соотношения микроэлементов	45

Несбалансированность по структуре и качеству питания населения России – зарегистрированный факт. Прежде всего, это проявляется в недостаточности белкового и витаминно-минеральных компонентов (Истомин А.В., 1996). Анализ фактического питания населения Российской Федерации и данных научной литературы свидетельствует о широком распространении во многих регионах недостаточной обеспеченности (или даже дефицита) ряда важнейших микронутриентов, в том числе эссенциальных микроэлементов. Во многих случаях численность лиц с неадекватной обеспеченностью эссенциальными микроэлементами достигает или даже превосходит 50 % всего обследованного населения (Тутельян В.А, 2007).

В целом результаты мультиэлементного анализа волос участников аварийно-восстановительных работ на ЧАЭС, проживающих в настоящее время в Санкт-Петербурге, показали, что среди обследованных не выявлено лиц с оптимальным минеральным обменом. Как правило, обнаружены его многокомпонентные нарушения. Для оптимизации этиопатогенетической терапии лиц опасных профессий необходима коррекция установленных нарушений микроэлементного статуса.

РАЗДЕЛ II

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ СПАСАТЕЛЕЙ МЧС

2.1. КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА В ПРОГРАММЕ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ СПАСАТЕЛЕЙ МЧС

Особенности деятельности спасателей МЧС России обуславливают высокую ответственность специалистов и требуют от них наличия развитых профессиональных навыков. Требования к спасателям неуклонно повышаются в связи с усложнением аварийных ситуаций, обусловленным вовлечением в них современной техники и материалов, энергоносителей и химических веществ, обладающих вредными и опасными свойствами. Совершенствование техники и снаряжения, применяющихся при работах в очагах бедствий, также требуют от спасателей новых, часто весьма сложных знаний и навыков.

Работа, выполняемая спасателями, связана со значительными физическими и еще более значимыми нервно-эмоциональными нагрузками и осложнена воздействием многочисленных неблагоприятных и опасных факторов окружающей среды.

Успешность ее выполнения зависит не только от общей специальной подготовки, но и от степени развития ряда неспецифических профессионально значимых психологических и психофизиологических качеств.

В связи с созданием в МЧС России поисково-спасательной службы, появилась сравнительно новая профессиональная группа – спасатели МЧС. Поисково-спасательные формирования МЧС России предназначены для проведения поисково-спасательных работ в условиях чрезвычайных ситуаций (ЧС) как природного, так и техногенного характера на всей территории России, в том числе в экстремальных условиях природной среды (в горах, пещерах, тайге, в условиях Крайнего Севера и т.д.) где не могут работать аварийно-спасательные формирования других министерств и ведомств. Эти обстоятельства обуславливают более высокую суточную загруженность формирований МЧС России непосредственно на работах по ликвидации ЧС по сравнению с другими аварийно-спасательными формированиями, определяют повышенный риск хронического стресса у этих контингентов.

В то же время требования к состоянию здоровья спасателей исключительно высоки. В связи с особыми требованиями к уровню здоровья, представляется весьма актуальной проблема изучения состояния здоровья данной профессиональной группы.

В связи с этим в ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России

была проведена большая работа по изучению состояния здоровья спасателей на различных этапах и в различных условиях их профессиональной деятельности с учетом воздействия неблагоприятных факторов аварий и катастроф. В программе обследования спасателей значительное место было отведено методам лабораторной диагностики различных патологических состояний и соматических заболеваний.

Проведение неотложных поисково-спасательных работ (ПСР), как правило, сопровождается значительным психоэмоциональным напряжением, опасностью для здоровья и жизни самих спасателей, предъявляя исключительно высокие требования к механизмам психофизиологической адаптации. Степень ответственности за результат собственной деятельности, значимость ошибки делают работу спасателей поистине уникальной по психоэмоциональной нагрузке. В такой ситуации работа различных органов и систем находится на грани адаптационных возможностей организма, что в дальнейшем, по данным наших исследований, может приводить к развитию хронического стресса, который, по мнению П.К. Анохина (1975), может стать основной причиной заболеваний сердечно-сосудистой системы. Хронический стресс согласно экологической модели В.М. Дильмана (1987) способствует развитию атеросклероза. Это может быть обусловлено возникновением гиперхолестеринемии вследствие влияния катехоламинов и их активирующего действия на тромбоциты, снижением комплекса ЛПВП-холестерин. Известна роль стресса в развитии гипертонической болезни. В механизме нейрогенного повышения артериального давления при стрессе, прежде всего, играет роль увеличение сердечного выброса и затем увеличение общего периферического сопротивления (ОПС), преимущественно за счет действия норадреналина на альфа рецепторы мышечных клеток сосудов. Активация симпатической нервной системы и стимуляция выработки ренина, реакция ренин-ангиотензиновой системы способствует в дальнейшем становлению стабильного повышения АД (Г.Ф. Ланг, 1950).

Тяжелые психогенные факторы, в частности из-за снижения иммунитета (R.W Bartrop, 1977), создают условия для развития рака (В.Н. Фох, 1978). Стресс может быть фактором, предрасполагающим к развитию сахарного диабета.

Описаны влияния хронического стресса на снижение концентрации норадреналина в гипоталамусе, который является физиологическим ингибитором АКТГ, и развитие психогенной депрессии, которая, как известно, в последнее время имеет тенденцию к увеличению во многих странах мира (В.М. Дильмана, 1987).

Исследования De Backerb и соавт.(1983), D. Masson (1987) показали, что прямые оценки (шкала Джескинса) для определения

типа А, семейное положение, профессия, также как и возраст, артериальное давление (АД), содержание холестерина, психосоциальное состояние обладают значительными дискриминантными величинами и поэтому могут рассматриваться как факторы риска. По мнению R.H. Rosenman et al., K. Wrzesniewski психосоциальные переменные объясняют 40-50 % наблюдений сердечно-сосудистых заболеваний, несвязанных со стандартными факторами риска, и в тоже время оказывают сильное влияние на стандартные факторы риска как через внешнее поведение, так и через внутренние психофизиологические механизмы. М.С. Кушаковский (1983) описал увеличение свертываемости крови, гиперхолестеринемию, повреждение сосудистой стенки перекисями липидов, а также увеличение спазма периферических сосудов, что имеет значение в формировании гипертензионных состояний у человека при эмоциональном стрессе.

Изменению липидного спектра при стрессе посвящено большое количество работ. Так, П.С. Хомуло и Д.С. Рахманов (1985) обнаружили, что при стрессовом воздействии наблюдается активация симпатической нервной системы (СНС) и гипофизарно-надпочечниковой системы, что приводит к увеличению в крови свободных жирных кислот, свободного и общего холестерина, триглицеридов, ЛПНП, наблюдается уменьшение содержания ЛПВП. Интересно, что глюкокортикоиды обладают выраженным антиатерогенным эффектом, но лишь при кратковременном воздействии стресса, тогда как при длительном напряжении адаптивных систем данное защитное действие нивелируется. Дислипотеинемия, изменение углеводного обмена происходят в условиях гиперфункции гипоталамо-гипофизарно-адренкортикотропной системы, что может являться фактором риска развития ИБС. Характерно, что у лиц, длительно подвергающихся стрессовому воздействию, наблюдается разрыв регуляции отдельных компонентов кровообращения в результате ослабления интегративной функции мозга и нарушения корково-подкорковых соотношений. В результате этого наблюдается увеличение АД, ЧСС на фоне увеличения тонуса СНС. Причем активация симпатoadреналовой системы происходит ровно настолько, чтобы обеспечить повышение АД до определенного уровня для обеспечения энергетических потребностей. В дальнейшем наблюдается срыв компенсаторных механизмов, регулирующих АД, и происходит увеличение данного показателя в период интенсивных психоэмоциональных нагрузок.

Ряд авторов описывает изменение показателей гемодинамики – увеличение САД, ЧСС, сердечного выброса, снижение ударного объема у лиц с различной степенью ишемии миокарда. О поражении иммунной системы при стрессовых воздействиях сообщается большим числом авторов.

При стрессе изменяются гуморальные показатели естественной резистентности: снижается содержание комплемента и лизоцима в крови, наблюдается увеличение гранулоцитов, угнетение Т-супрессорного звена иммунитета. У лиц с увеличением выброса адреналина на стресс наблюдается изменение иммунного статуса за счет фагоцитоза и гиперсекреции IgM. А при норадреналиновом типе реагирования характерна противоположная зависимость – при небольшом содержании в крови норадреналина иммунные нарушения выявляются чаще, чем при больших концентрациях норадреналина. Только сбалансированное соотношение адреналина и норадреналина не изменяло иммунный статус при стрессовом воздействии.

При длительном воздействии стресса наблюдается лейкопения, лимфопения, гипоплазия тимуса, подавление фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов. Эти нарушения связываются с системой активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) и нормализуются после приема антиоксидантов.

Изменение показателей как гуморального, так и клеточного иммунитета зависит не только от длительности воздействия стрессовых агентов, но и от их интенсивности. При небольших по своей силе стрессорах, имеющих тренирующие воздействие, наблюдается увеличение защитных сил организма - некоторый лейкоцитоз, лимфоцитоз, увеличение числа эозинофилов, моноцитарного звена, несколько увеличивается концентрация глюкокортикоидов, оказывающих иммуносупрессивное действие. В последующем при усилении интенсивности стрессорного фактора наблюдается прогрессивное угнетение защитных сил с уменьшением количества лимфоцитов. Более того, иммунологическая недостаточность после воздействия стресса на ранних стадиях может впоследствии сменяться восстановлением функций или даже их усилением в отсутствие стресса.

В.М. Дильман (1987) указывает на угнетение иммунной системы вследствие отложения холестерина в ЛПОНП, ЛПНП, мембранах клеток иммунной системы; гиперинсулинемия уменьшает число рецепторов на поверхности клеток – иммунной системы; увеличение содержания кортизола, уменьшение СТГ и ТТГ также может приводить к иммуносупрессии, наблюдавшейся при стрессовых воздействиях.

После стрессового воздействия возможно развитие аллергических кожных высыпаний, тиреотоксического зоба, бронхиальной астмы, индуцирование острого холецистита.

О поражении ЖКТ в условиях стрессового воздействия известно с исследовательских работ Г. Селье. В последнее время наблюдается расширение представлений о причинах и

патогенетических особенностях данных нарушений. Обнаружена связь между язвенной болезнью желудка и поражением диэнцефальной области головного мозга. Обследованные пациенты предъявляли жалобы на повышенную утомляемость, общую слабость, снижение работоспособности, плохой сон, раздражительность. Кроме того, у лиц с наличием язвенной болезни желудка чаще воспроизводилась микросимптоматика нарушений нервной системы: пирамидно-церебральные, гипоталамические, стволо-вестибулярные, стволо-глазодвигательные симптомы, говорящие о вовлеченности глубинных структур мозга. Помимо гастроэнтерологической патологии данные лица имеют измененные показатели гемодинамики – более низкие значения МОК, высокие ОПС.

Представление о ведущей роли стресса в язвенной и эрозиообразовании в желудке и двенадцатиперстной кишке еще раз подтверждается рядом работ. Причем лица в активной стадии болезни имеют более выраженные изменения эмоционального фона, чем в фазе ремиссии. И чем выраженнее величина и длительность стрессового воздействия, тем дольше период выхода в ремиссию при язвенной болезни ДПК, а также больше риск рецидива язвы в течение 1 года.

Для обеспечения максимальной эффективности профессиональной деятельности особое значение приобретают мероприятия по сохранению здоровья спасателей при проведении работ в очагах возникновения ЧС техногенного, природного, биолого-социального характера. Совокупность неблагоприятных факторов условий профессионального труда спасателей требует особого контроля и мониторинга состояния их здоровья.

Подытоживая сказанное, следует подчеркнуть, что с нашей точки зрения представляет несомненный интерес изучение состояния здоровья спасателей с оценкой вклада стресса в развитие патологии у них и разработка профилактических мероприятий.

Состояние здоровья спасателей

Анализ состояния здоровья спасателей поисково-спасательных формирований МЧС России был выполнен у 104 мужчин поисково-спасательных формирований Северо-Западного региона - ПСФСЗ (63 человека – 60.58 %) и Центрального аэромобильного спасательного отряда - ЦАМО (41 человек – 39.42 %), которым проводилось углубленное медицинское обследование на клинической базе ВЦЭРМ.

Все обследованные – мужчины, в возрасте от 20 лет до 51 года, средний возраст по группе – $33,1 \pm 0,69$ года. Профессиональный стаж – от 0 до 13 лет, в среднем составил $4,38 \pm 0,29$ года. Таким образом,

обследованные молодые мужчины преимущественно в возрасте 30-39 лет. При определении профессионального стажа изучался профмаршрут с начала трудовой деятельности. До работы спасателями все обследованные профессиональных вредностей не имели.

Вся когорта спасателей была распределена на три группы в зависимости от профессионального стажа: 1-ая группа – до 3-х лет, 2-ая – от 4 до 6, 3-я – 6 и более лет.

На каждого спасателя в ходе беседы с врачом заполнялась специальная карта, в которой указывались неблагоприятные факторы труда.

При обследовании был использован системный подход, обеспечивающий более полный сбор и анализ полученных данных, способствующий максимально точной диагностике нозологических форм. У всех спасателей диагноз верифицировался по совокупности клинических данных и был подтвержден лабораторными и инструментальными методами исследования.

Кроме того, всем спасателям выполнялись следующие методы исследования:

- общий анализ крови и мочи;
- биохимическое исследование крови, в том числе оценка выраженности окислительного стресса и состояния антиоксидантной системы;
- исследование гормонального статуса (адренкортикотропного гормона (АКТГ), лютеинизирующего (ЛГ), фолликулостимулирующего (ФСГ), тиреотропного (ТТГ) гормонов, кортизола, пролактина, тестостерона (Т), инсулина);
- электрокардиография;
- проведение пробы с дозированной ступенчато возрастающей физической нагрузкой на велоэргометре фирмы «Jager» (Германия). Также у ряда обследованных было проведено суточное мониторирование ЭКГ при помощи кардиомонитора «МЕДИКОМ-ИН-20» (Россия); ультразвуковое исследование сердца, крупных сосудов, органов брюшной полости, почек и щитовидной железы проводилось при помощи аппарата «Ultramark 9 HDI» фирмы ATL (США), а функции внешнего дыхания - на аппарате фирмы «Hellige» (Германия);
- эндоскопические исследования: эзофагогастродуоденоскопия при помощи аппарата марки GIF XQ 30 фирмы «Olympus» (США). При каждом эндоскопическом исследовании проводилось взятие биопсийного материала с последующим его морфологическим изучением;
- психологическое обследование с использованием методики «Анкета самооценки состояния» (АСС), многоуровневого

личностного опросника (МЛЮ) «Адаптивность» (Новиков В.С., Маклаков А.Г., 1995).

При изучении состояния здоровья спасателей диагноз «практически здоров» был установлен у 22 (21,15 %) обследованных, тогда как заболевания различных органов и систем диагностированы у 82 (78,85 %). При этом в группе обследованных из числа ЦАМО лиц, не имеющих заболеваний внутренних органов, выявлено не было. В ПСФСЗ практически здоровых спасателей было 22 (34,9 %), имеющих различные хронические заболевания – 41 (65,1 %).

В структуре соматической патологии во всей когорте обследованных ведущие позиции занимают болезни органов пищеварения, дыхательной, эндокринной и костно-мышечной систем и органов кровообращения.

Среди диагностированных заболеваний наиболее часто встречались: хронический гастрит, ассоциированный с Нр-инфекцией у 35 спасателей (33,65 %), язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки у 7 (6,73 %), жировой гепатоз у 6 (5,77 %), дискинезия желчного пузыря у 4 (3,85 %), хронический необструктивный бронхит у 17 (16,35 %), хронический обструктивный бронхит у 11 (11,58 %), диффузный зоб у 12 (11,54 %), ожирение у 7 (6,73 %), остеохондроз позвоночника у 24 (23,08 %), гипертоническая болезнь у 9 (8,65 %), ишемическая болезнь сердца у 4 (3,85 %), нарушение углеводного обмена у 6 (5,77 %), близорукость у 7 (6,73 %).

При анализе среднего числа заболеваний у одного спасателя выявлено, что общее число диагностированной патологии в ЦАМО достоверно выше ($p < 0,05$), чем в региональных поисково-спасательных отрядах. При этом сочетанность патологии определяется значительно более высоким уровнем болезней эндокринной, нервной, костно-мышечной систем, органов пищеварения и дыхания.

При анализе распределения заболеваний, диагностированных у спасателей ЦАМО И ПСФСЗ, установлено, что ведущее место в обеих группах занимает патология желудочно-кишечного тракта, причем в ЦАМО уровень данной патологии достоверно выше ($p < 0,05$), чем в ПСФСЗ. В структуре патологии желудочно-кишечного тракта доминируют следующие нозологические формы - хронический гастрит, ассоциированный и неассоциированный с Нр-инфекцией (47,12 %), а также язвенная болезнь (6,73 %). В ЦАМО достоверно выше уровень заболеваний сердечно-сосудистой системы, органов дыхания, эндокринной, нервной и костно-мышечной систем. В структуре эндокринной патологии наиболее часто встречались нарушение толерантности к глюкозе в 6 (5,97 %) случаях, сахарный диабет II типа отмечен в 1 (0,96 %) случае, причем в ЦАМО нарушение толерантности к

глюкозе выявлено у 1 (2.44 %), а в ПСФСЗ у 5 (7.94 %) спасателей.

При анализе заболеваемости у спасателей диагноз «практически здоров» при стаже от 0 до 3-х лет установлен у 33.3 % обследованных, от 3 до 6 лет - у 17.5 %, от 6 и более лет - у 7.8 %. При изучении структуры диагнозов показано, что имеются достоверные различия с другими группами по стажу работы у спасателей с заболеваниями органов дыхания, эндокринными и болезнями нервной системы.

Таким образом, имеется достоверное снижение уровня эндокринных заболеваний при стаже от 3 до 6 лет и существенное повышение заболеваний органов дыхания, нервной системы при стаже от 0 до 3-х лет и от 6 и более лет, что может свидетельствовать о недостаточности механизмов адаптации в данных группах.

Анализ результатов лабораторного обследования спасателей.

Анализ средних значений исследованных биохимических показателей, в общем, по всей группе, не выявил существенных сдвигов в параметрах обмена веществ и активности ферментов. Можно отметить только более высокое среднее значение коэффициента атерогенности, который характеризует отношение общего холестерина к холестерину липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) и более низкие значения ионизированного кальция по сравнению со здоровыми лицами.

При этом средний уровень продуктов перекисного окисления липидов был выше нормы в сыворотке крови, в нейтрофилах, мононуклеарах и тромбоцитах периферической крови. У большинства обследованных был снижен уровень восстановленного глутатиона и активность супероксиддисмутазы, что свидетельствует о нарушении баланса между образованием продуктов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защитой, то есть о развитии состояния окислительного стресса у значительной части обследованных.

С целью выяснения вопроса о вкладе различных групп обследованных спасателей в формирование выявленных изменений был проведен анализ данных в зависимости от типа отряда, стажа работы в спасательных формированиях и наличия тех или иных заболеваний. Оказалось, что тип отряда имеет существенное значение в развитии изменений в уровне холестерина, триглицеридов, коэффициента атерогенности, железа, восстановленного глутатиона, продуктов перекисного окисления липидов сыворотки и мононуклеаров и активности каталазы, а стаж работы влияет на содержание восстановленного глутатиона и

активность супероксиддисмутазы эритроцитов. У спасателей ЦАМО в большей степени были выражены атерогенные сдвиги, хотя в среднем по группе содержание общего холестерина, холестерина ЛПВП и триглицеридов укладывается в пределы нормальных величин (табл. 2.1.1). Однако содержание холестерина и триглицеридов было достоверно выше по сравнению с группой из регионального отряда. Содержание железа было выше у спасателей этой же группы. При этом железосвязывающая способность сыворотки крови была повышена, что свидетельствует об определенных нарушениях в обмене железа данной категории обследованных. Выраженность окислительного стресса также была большей в группе спасателей ЦАМО, что выражалось в достоверно более низкой активности каталазы и супероксиддисмутазы, более высоких значениях продуктов перекисного окисления липидов мононуклеаров. По совокупности выявленных изменений метаболизма можно заключить, что те тенденции, которые проявлялись при анализе данных по всей группе в целом, приобрели характер закономерности в группе спасателей ЦАМО. Основные черты нарушений можно определить как развитие атерогенных сдвигов, снижение уровня ионизированного кальция и дисбаланс процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты.

Таблица 2.1.1

Некоторые биохимические показатели в зависимости от типа отряда
($M \pm m$)

Показатель	ПСФСЗ	ЦАМО
Холестерин, ммоль/л	4,83 ± 0,15	5,80 ± 0,17*
Триглицериды, ммоль/л	1,13 ± 0,09	1,65 ± 0,15*
К атерогенности	2,82 ± 0,26	4,23 ± 0,47*
Сывороточное железо, ммоль/л	20,11 ± 0,77	26,08 ± 1,26*
АЛТ, Ед/л	20,17 ± 1,33	28,61 ± 2,97*

* – $p < 0,05$

Анализ по стажу работы в спасательных подразделениях показал, что указанные изменения присущи группе спасателей ЦАМО со стажем работы более 6 лет. Именно в этой группе оказалось больше всего людей с высоким уровнем атерогенных изменений, большим содержанием железа и повышенной железосвязывающей способностью плазмы крови (табл. 2.1.2).

Особый интерес представляют выявленные нарушения в углеводном обмене. Так при стаже до 3 лет нарушение толерантности к глюкозе наблюдается у 12,1 %, от 4 до 6 лет у 11,1 %, более 7 лет у 35 % всех обследованных спасателей.

Таблица 2.1.2

Изменения биохимических показателей в зависимости от стажа работы
в должности спасателя (M ± m)

Показатель	Стаж работы		
	0-3 лет (1-ая группа)	3-6 лет (2-ая группа)	> 6 лет (3-я группа)
ЩФ, Ед/л	161,76 ± 6,79*	126,27 ± 8,13**	157,27 ± 7,71
Холестерин, ммоль/л	4,71 ± 0,18*/**	5,38 ± 0,21	5,76 ± 0,21
АСТ, Ед/л	22,66 ± 1,11**	23,05 ± 1,18	27,36 ± 2,39
ГГТП, Ед/л	19,73 ± 1,60*/**	31,16 ± 3,93	36,09 ± 6,36
Железо, мкмоль/л	21,90 ± 1,10**	20,22 ± 0,96**	27,18 ± 1,75
АЛТ, Ед/л	22,05 ± 2,24**	20,32 ± 1,39**	31,00 ± 4,27
Билирубин общий, мкмоль/л	10,59 ± 0,82**	11,83 ± 0,96	15,73 ± 2,68
ЛПВП, ммоль/л	1,28 ± 0,08	1,46 ± 0,07**	1,25 ± 0,07
Триглицериды, ммоль/л	1,17 ± 0,11**	1,27 ± 0,15	1,70 ± 0,19
К атерогенности	3,25 ± 0,50	3,19 ± 0,32	4,21 ± 0,73
Глюкоза натощак, ммоль/л	4,94 ± 0,08*	4,64 ± 0,13	4,92 ± 0,11

* - p<0.05 по сравнению со 2 группой, ** - p<0.05 по сравнению с 3 группой.

Параметры, характеризующие состояние окислительного стресса, в меньшей степени зависели от стажа. Достоверно ниже в группе со стажем работы более 3 лет был только уровень восстановленного глутатиона. Однако по совокупности показателей можно говорить о выраженной тенденции к возрастанию интенсивности свободнорадикальных процессов у спасателей этой группы. В региональной группе наиболее благоприятной по показателям метаболизма выглядит группа со стажем работы от 3 до 6 лет, в то время как группы со стажем до 3 лет и более 6 лет имеют заметные сдвиги в исследованных показателях. При сравнении групп одинаковых по стажу, но различных по отряду наиболее ярко выявились сдвиги в показателях обмена веществ у спасателей ЦАМО со стажем более 6 лет, хотя и в группе со стажем от 3 до 6 лет эти изменения были заметными.

Таким образом, по данным биохимического обследования, спасатели ЦАМО со стажем работы от 3 до 6 лет и, особенно, более 6 лет представляют собой группу риска по развитию атеросклероза и его осложнений, имеют нарушения обмена кальция и железа, находятся в состоянии окислительного стресса, что является причиной структурных и функциональных нарушений клеток и ведет к формированию патохимических сдвигов свойственных патологии различных органов.

Полученные результаты стали основанием для анализа данных исследования в зависимости от заболеваний, диагностируемых у спасателей при клиническом обследовании и наблюдении. Было выделено три группы: практически здоровые лица, пациенты с диагнозом язвенная болезнь желудка, с диагнозом гипертоническая болезнь (ГБ) и с

ишемической болезнью сердца (ИБС) (табл. 2.1.3 и 2.1.4). В группу с ГБ и ИБС попали спасатели с наиболее выраженными атерогенными сдвигами и максимальными значениями продукции перекиси водорода лейкоцитами периферической крови, способными оказывать повреждающее воздействие на миокард. Другие параметры свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы распределились равномерно по группам, за исключение активности супероксиддисмутазы эритроцитов, которая была минимальной в группе спасателей с язвенной болезнью. Причем ни у одного из лиц этой группы активность СОД не определялась в пределах нормальных величин.

Особо следует остановиться на показателях группы практически здоровых лиц. У трети из них определяются явно атерогенные сдвиги метаболизма липидов и гиперпродукция активных форм кислорода. Именно в этой группе отмечено минимальное содержание восстановленного глутатиона, основного неферментативного антиоксиданта, что сочетается с высоким уровнем в сыворотке крови продуктов перекисного окисления липидов и низкой активностью СОД в эритроцитах почти у 50 % лиц этой группы.

В таблицах данные приведены в сравнении с группой спасателей, у которых был поставлен диагноз ИБС или ГБ. В этой группе гораздо более выраженными были атерогенные сдвиги, что проявлялось в более высоком содержании общего холестерина, триглицеридов, холестерина ЛПНП и низком уровне холестерина ЛПВП. Однако примерно у трети практически здоровых спасателей также определялись нарушения обмена липопротеидов в большей мере за счет низкого содержания холестерина ЛПВП, что является независимым фактором риска развития атеросклероза. Среди других показателей следует отметить низкое содержание в сыворотке крови ионизированного кальция у большинства практически здоровых спасателей.

Также как и в группе с кардиальной патологией для практически здоровых спасателей был характерен высокий уровень продукции активных форм кислорода – перекиси водорода нейтрофилами и мононуклеарами периферической крови (табл. 2.1.4). Именно в этой группе было отмечено минимальное содержание восстановленного глутатиона, основного неферментативного антиоксиданта, что сочеталось с высоким уровнем в сыворотке крови продуктов перекисного окисления липидов и низкой активностью СОД в эритроцитах. По уровню выраженности окислительного стресса практически здоровые спасатели не отличались от спасателей с различными заболеваниями. Это может быть свидетельством того, что причиной активации свободнорадикальных процессов являются не заболевания, а условия профессиональной деятельности

спасателей. Нельзя исключить, что подобные изменения носят приспособительный характер, формируя определенную структурную и функциональную перестройку, направленную на обеспечение готовности организма к экстремальным воздействиям. С другой стороны, возможно, выявленные изменения указывают на высокую вероятность развития тех или иных заболеваний у спасателей этой группы. Приведенные данные могут послужить основанием для более глубокого обследования и наблюдения за этими спасателями, а также для проведения профилактических мероприятий.

Таблица 2.1.3

Параметры метаболизма в группе практически здоровых спасателей и спасателей с диагнозом ИБС и ГБ M(SD)

Показатели	Пределы нормальных значений	Спасатели практически здоровые	Спасатели с ИБС и ГБ
Кальций иониз. ммоль/л	1,05-1,30	1,06(0,08)	1,03(0,07)
Глюкоза ммоль/л	3,5-5,8	4,8(0,4)	5,2(0,6)
Холестерин ммоль/л	3,3-5,7	4,6(0,8)	6,4(1,2)
Холестерин ЛПВП ммоль/л	1,03-2,00	1,42(0,64)	1,21(0,33)
Холестерин ЛПНП ммоль/л	2,5-4,0	2,6(0,32)	4,4(0,41)
Холестерин ЛПОНП ммоль/л	0,27-1,04	0,56(0,21)	0,84(0,38)
Триглицериды ммоль/л	0,60-2,28	1,22(0,64)	1,83(0,82)
Коэффициент атерогенности	до 3,0	2,6(1,6)	4,9(2,5)
Железо мкмоль/л	10,0-30,0	21,1(6,9)	26,4(8,7)
ЖСС мкмоль/л	45,0-90,0	63,0(15,6)	71,6(5,6)

Проведение корреляционного анализа показало связь высокого содержания общего холестерина только с уровнем триглицеридов и коэффициентом атерогенности. Параметры оценки окислительного стресса оказались одинаковыми как в группе с уровнем холестерина меньше 6,0 ммоль/л, так и при его содержании выше 6,0 ммоль/л. Это может свидетельствовать о том, что нарушение обмена липидов и активация

свободнорадикальных процессов происходят независимо друг от друга. Однако, это не исключает большой вероятности влияния продуктов свободнорадикального окисления на возрастание атерогенных сдвигов, так как окисленные липопротеиды считаются более атерогенными. С этой точки зрения, у лиц с нормальными показателями холестерина, но с повышенным уровнем свободнорадикальных процессов, можно предполагать риск развития атеросклероза. Этот вопрос может быть решен только при сопоставлении данных лабораторного обследования с данными клинических и функциональных исследований.

Таблица 2.1.4

Показатели свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы у практически здоровых спасателей и у спасателей с ГБ и ИБС М(SD)

Показатели	Пределы референтных значений	Спасатели практически здоровые	Спасатели с ИБС и ГБ
ТБК-АП сп. сыворотки мкмоль/л	2,62-3,58	4,15(1,12)	4,65(1,04)
ТБК-АП стим. сыворотки мкмоль/л	0,58-2,40	1,29(0,41)	1,51(0,78)
ТБК-АП тромбоцитов нмоль/мг белка	0,34-0,52	1,74(0,82)	1,11(0,36)
ТБК-АП нейтрофилов нмоль/10 ⁶ кл.	0,18-0,22	0,20(0,06)	0,32(0,19)
ТБК-АП мононуклеаров нмоль/10 ⁶ кл.	0,051-0,087	0,17(0,071)	0,20(0,05)
Перекись н. нмоль/10 ⁶ в час.	24,6-39,8	50,0(23,5)	66,6(23,8)
Перекись м. нмоль/10 ⁶ в час.	14,9-21,7	54,0(28,4)	69,3(26,9)
Глутатион в. мкмоль/л	2,10-3,30	1,49(0,34)	1,64(0,68)
Глутатион о. мкмоль/л	0,20-0,50	0,38(0,21)	0,24(0,16)
СОД эр. Ед./мг белка	4,10-6,80	4,38(1,08)	4,27(1,26)
Каталаза эр. Ед./мл	5,2-10,5	7,9(1,9)	6,4(1,4)

Примечание: ТБК-АП – продукты ПОЛ, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, спонтанный (сп.) и стимулированный (стим.) уровни; перекись н. и м. - генерация перекиси водорода нейтрофилами и мононуклеарами периферической крови; глутатион в. и о.- содержание восстановленного и окисленного глутатиона в эритроцитах; СОД – супероксиддисмутаза; эр. – эритроциты.

В связи с тем, что более, чем у 60 % спасателей был обнаружен повышенный базальный уровень продуктов ПОЛ в сыворотке крови (ТБК-АПсп.) все обследованные были разделены на две группы: с содержанием ТБК-АПсп. меньше и больше 4,0 ммоль/л. Оказалось, что в группе с уровнем ТБК-АПсп. более 4,0 ммоль/л были определены и достоверно более высокие значения продукции перекиси водорода нейтрофилами и мононуклеарами периферической крови, более высокое содержание ТБК-АП тромбocyтами. В этой же группе отмечались достоверно более высокие значения продукции интерлейкина-1 β и ФНО- α мононуклеарами периферической крови. Эти данные указывают на возможные источники продуктов ПОЛ в сыворотке. По-видимому, это результат окисления липидов сыворотки крови активными формами кислорода, генерируемыми лейкоцитами периферической крови. Источником ТБК-АП являются также и тромбоциты, активация в которых процессов ПОЛ и метаболизма арахидоновой кислоты в свою очередь может приводить к нарушению равновесия в системе сосудисто-тромбоцитарного гемостаза.

Очень важные параллели были выявлены между уровнем продуктов ПОЛ в мононуклеарах периферической крови и параметрами иммунного статуса (результаты иммунологического обследования данной группы представлены в следующем разделе). Для группы с высоким уровнем окислительной деструкции липидов мононуклеаров была характерна гораздо более высокая спонтанная продукция интерлейкина-1 β , интерлейкина-2 и ФНО- α . Это сопровождалось существенным возрастанием как процентного, так и абсолютного числа клеток с поверхностными маркерами CD3+ и CD4+ с одновременным снижением CD20+, CD25, CD95, CD16+ и HLA-DR (HLAII). Эти результаты являются свидетельством неадекватной активации системы иммунитета параллельно с активацией свободнорадикальных процессов именно в клетках формирующих иммунный ответ. Вопрос о том, какой из процессов может считаться первичным на данном этапе исследования остается открытым. Возможно, первичным является развитие гормонально-метаболического ответа организма на напряженные условия трудовой деятельности спасателей.

Известно активирующее действие гиперкатехоламинемии как на реакции иммунной защиты, так и на процессы свободнорадикального окисления. Кроме того, продукция цитокинов тесно связана с генерацией активных форм кислорода лейкоцитами периферической крови и в патологических условиях формируется порочный круг образования свободнорадикальных продуктов под влиянием цитокинов и, наоборот, гиперпродукция свободных радикалов поддерживает высокий уровень синтеза и секреции цитокинов. Важным является и способность свободных радикалов модифицировать и повреждать структуру биологических мембран, окисляя их липидную и белковую часть вследствие чего

изменяется активность мембраносвязанных ферментов, рецепторов, нарушаются белок-белковые взаимодействия, в том числе образование комплекса антиген-антитело. Развитие неспецифической воспалительной реакции находит косвенное подтверждение в том факте, что у спасателей с наиболее напряженными условиями труда (ЦАМО) при высоком содержании сывороточного железа повышена и железосвязывающая способность сыворотки крови, что характерно при возрастании содержания острофазовых белков - маркеров воспаления, которые могут связывать железо. Немаловажно и то обстоятельство, что ионы двухвалентного железа являются мощными активаторами процессов свободнорадикального окисления, а максимальный уровень железа был нами отмечен именно у спасателей с большей выраженностью окислительного стресса.

Совокупность полученных данных позволяет рассматривать комплекс метаболических сдвигов, свойственных спасателям со значительными физическими и психологическими нагрузками, в качестве основы для развития соматической патологии, характер которой будет определяться интенсивностью нагрузки, режимом труда и отдыха, профилактическими и лечебными мероприятиями, генетической предрасположенностью.

Таким образом, на основании данных биохимического обследования можно дать следующие рекомендации: программа обследования спасателей должна включать обязательное исследование параметров липидного обмена и факторов риска атеросклероза, определение содержания ионизированного кальция, оценку выраженности окислительного стресса. Более пристальное внимание при обследовании должно быть уделено спасателям со стажем работы более 6 лет и интенсивными условиями их профессиональной деятельности.

Изучение гормонального статуса включало определение тестостерона, пролактина, кортизола, ТТГ, АКТГ.

Достоверных различий по содержанию в сыворотке крови пролактина, ТТГ, тестостерона, кортизола между группами ПСФСЗ и ЦАМО выявлено не было.

При анализе результатов в зависимости от стажа было показано, что уровень ТТГ и АКТГ в 3-ей группе был достоверно выше, чем в 1-ой (рис. 2.1.1). Средний уровень кортизола в 1-ой группе (стаж работы до 3-х лет) был достоверно ниже, чем во 2-ой и 3-ей (стаж работы от 3 до 6 лет и более 6 лет соответственно) ($p < 0.05$) (рис. 2.1.2).

Таким образом, с увеличением стажа работы наблюдается достоверное повышение секреции АКТГ, и в свою очередь кортизола, что свидетельствует о хронизации стресса не только на

гипофизарном (АКТГ, пролактин), но и на периферическом уровне (повышение секреции кортизола).

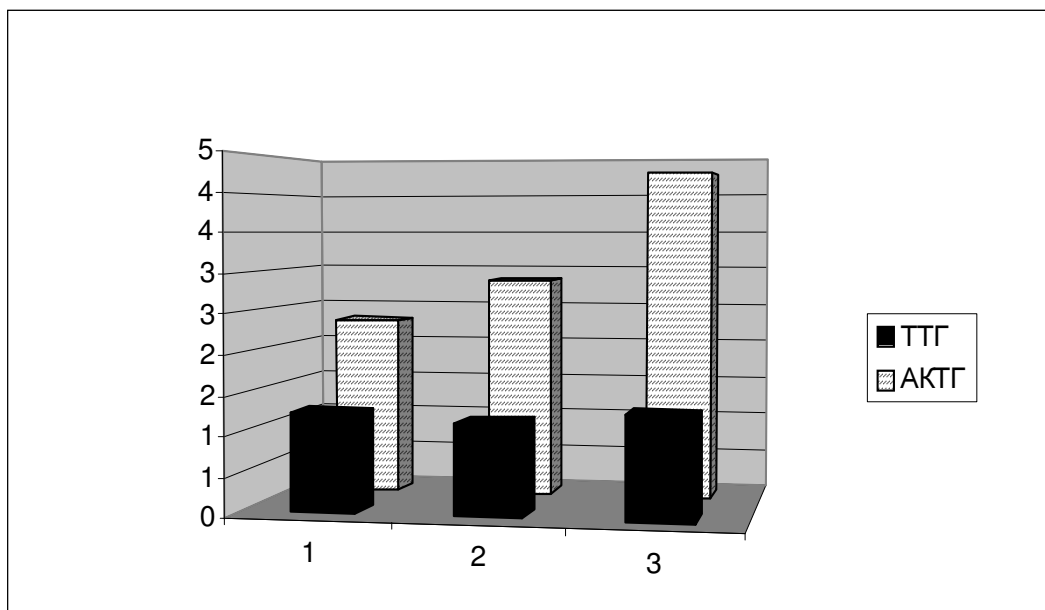


Рисунок 2.1.1. Показатели уровней ТТГ и АКТГ по группам в зависимости от стажа (1 – стаж работы до 3-х лет; 2 – стаж от 3-х до 6-и лет; 3 – стаж более 6-и лет)

Кроме того, при изучении результатов гормональных исследований в зависимости от стажа работы (табл. 2.1.5) выявлены достоверные различия концентраций в сыворотке крови инсулина, тестостерона. Так, во 2-й группе уровень инсулина достоверно ниже, чем в 1-й и 3-й группах. Обращает на себя внимание, что уровень тестостерона достоверно выше при стаже от 3 до 6 лет, чем в группе со стажем работы более 6 лет. По остальным показателям гормональных исследований достоверных различий выявлено не было.

Анализ профессиональной деятельности спасателей МЧС убедительно свидетельствует о том, что на организм этой категории специалистов действует комплекс неблагоприятных факторов, причем вычленение отдельных компонентов этого комплекса и анализ вызываемых каждым из них защитных и патологических реакций за редким исключением вряд ли возможен и целесообразен.

В связи с этим при интерпретации данных лабораторного обследования данной категории лиц необходимо учитывать значительную роль психоэмоциональных нарушений в этом комплексе факторов

При изучении психологического статуса было установлено, что спасатели со средним уровнем личностной (ЦАМО – 39 %, ПСФСЗ – 60 %) и ситуативной тревожности (ЦАМО – 36 %, Северо-Западный регион –

44 %) характеризуются наличием негативных переживаний, снижением адаптационных ресурсов.

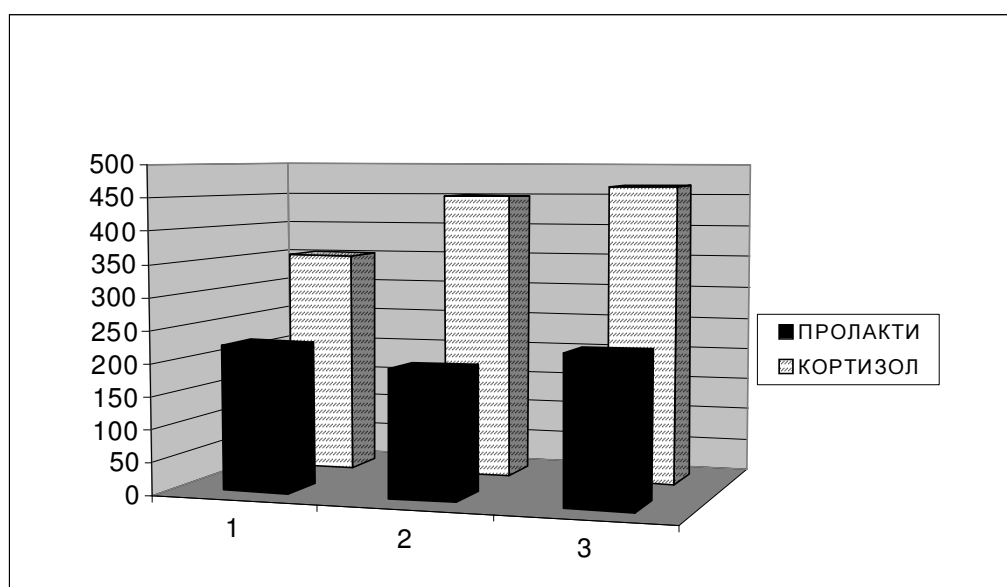


Рисунок 2.1.2. Средний уровень кортизола и пролактина по группам в зависимости от стажа (1 – стаж работы до 3-х лет; 2 – стаж от 3-х до 6-и лет; 3 – стаж более 6-и лет)

Таблица 2.1.5

Изменения гормональных показателей в зависимости от стажа работы в должности спасателя (M ± m)

Показатель	Стаж работы		
	0-3 лет (1-ая группа)	3-6 лет (2-ая группа)	6 и более лет (3-я группа)
Инсулин, пмоль/л	56,61 ± 6,83*	41,14 ± 3,00**	56,59 ± 4,87
Пролактин, мМЕ/л	240,48 ± 17,65	205,68 ± 16,08	227,25 ± 21,22
Кортизол, нмоль/л	381,58 ± 30,99	438,49 ± 33,80	470,35 ± 44,78
Тестостерон, нмоль/л	14,90 ± 0,88	15,93 ± 1,09**	12,64 ± 0,94
ТТГ, мМЕ/л	1,31 ± 0,11	1,15 ± 0,13	1,68 ± 0,35
АКТГ, нмоль/л	3,80 ± 0,48	3,68 ± 0,39	5,32 ± 0,69
ЛГ, МЕ/л	5,29 ± 0,77	4,30 ± 0,53	5,44 ± 0,75
ФСГ, МЕ/л	5,77 ± 0,85	4,52 ± 0,60	5,14 ± 0,69

* - p<0.05 по сравнению со 2 группой, ** - p<0.05 по сравнению с 3 группой.

Выявлена прямая зависимость в изменении уровня личностного адаптационного потенциала (ЛАП) от стажа работы. Снижение показателей уровня адаптационного потенциала у спасателей 1-ой группы (стаж работы не более 3 лет, т.е. небольшой профессиональный опыт и недостаток навыков работы) связано с напряжением адаптационных и защитных

психологических механизмов ввиду небольшого опыта работы по ликвидации последствий ЧС. Достаточный уровень адаптационного потенциала у спасателей 2-ой группы (стаж работы от 3 до 6 лет, т.е. высокий профессиональный опыт и высокие навыки работы) свидетельствует об оптимальном уровне функционирования адаптационных и защитных механизмов. Неудовлетворительные показатели адаптационного потенциала у спасателей 3-ей группы (стаж работы более 6 лет, т.е. высокий профессиональный опыт и высокие навыки работы) являются следствием элементов срыва адаптационных и защитных психологических механизмов в виду значительного «накопления» профессионального стресса.

При анализе показателей заболеваемости выявлен высокий уровень внутренней патологии во всей обследованной когорте, достигающей наибольших значений у спасателей ЦАМО. В данной группе определяется более высокий уровень болезней сердечно-сосудистой системы, органов дыхания, эндокринной и мочеполовой систем, большее количество заболеваний выявленных у одного спасателя. Данный факт позволяет утверждать, что они в существенной мере зависят от стажа работы во вредных условиях и ее интенсивности: с увеличением стажа и повышением интенсивности они заметно возрастают, свидетельствуя о том, что этот феномен связан с профессиональной деятельностью. При анализе уровня заболеваемости наибольшие значения отмечаются при стаже от 0 до 3-х и от 7 и более лет, что может свидетельствовать о недостаточности механизмов адаптации в данных группах.

Дополнительное обследование специалистов поисково-спасательных формирований позволяет считать, что выявленные у них отклонения в первую очередь связаны с функцией регуляторных систем – нервно-эндокринной и иммунной. Согласно теории Г. Селье, под влиянием стресса активируется гипоталамус и продуцируются рилизинг-гормоны, стимулирующие синтез и высвобождение гормонов гипофиза (АКТГ, ТТГ и др.). Под влиянием АКТГ корковый слой надпочечников выделяет глюкокортикоиды, которые в больших количествах вызывают инволюцию тимуса и лимфатических узлов. При анализе содержания ТТГ в сыворотке крови выявлена тенденция к увеличению его концентрации в группах спасателей со стажем работы до 3-х лет и от 6 и более лет. В то же время отмечена сильная корреляционная взаимосвязь ($r = 0,96$) между уровнем ТТГ и ЛАП (личностным адаптационным потенциалом).

Так, при исследовании состояния нейроэндокринной системы установлено, что преобладающими в процессе возрастания интенсивности и продолжительности профессиональной деятельности становятся показатели тестостерона и кортизола, на фоне нарушения гипофизарной

регуляции, проявляющейся изменением уровня лютеинизирующего гормона. Так, при изучении корреляционных взаимосвязей выявлена сильная ($r = -0,91$) отрицательная связь между содержанием в сыворотке крови тестостерона и показателем личностного адаптационного потенциала. При повышении уровня тестостерона (который достоверно выше при стаже работы от 3-х до 6 лет) наблюдается уменьшения показателя ЛАП, что говорит об улучшении адаптации. При анализе уровня тестостерона выявлено снижение его концентрации в группе спасателей, имеющих заболевания ССС ($p < 0,05$). Современные исследования достоверно показывают, что низкий уровень тестостерона в крови усугубляет риск развития ССЗ (Svartberg J. et al., 2004).

В нашей работе выявлена сильная корреляционная связь между ЛАП и ФНО- α ($r = 0,93$), что может свидетельствовать о худшем течении адаптационного процесса у спасателей ЦАМО. Это подтверждают клинические данные о значительно меньшем количестве практически здоровых спасателей в центральном отряде по сравнению с ПСФСЗ. При анализе концентрации ФНО- α выявлено его повышение в группе спасателей, имеющих заболевания сердечно-сосудистой системы ($p < 0,05$). Современные исследования достоверно показывают, что высокий уровень ФНО- α в крови усугубляет риск развития сердечно-сосудистых заболеваний.

Полученные результаты свидетельствуют о преимущественно стрессорном характере выявленной патологии, что подтверждается данными психологического обследования. На основании вышеизложенного разработаны рекомендации по оптимизации лечебно-профилактической помощи. Так, у спасателей до 3-х лет и после 6 лет работы необходим активный превентивный лабораторно-инструментальный скрининг, включающий проведение эзофагогастродуоденоскопии, психологического и углубленного лабораторного обследования. Методы клинической лабораторной диагностики позволят выделять группы риска по развитию соматической патологии у спасателей при увеличении стажа работы в этой должности и разрабатывать меры профилактики заболеваний у спасателей с наиболее напряженными условиями их профессиональной деятельности.

2.2. ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ СПАСАТЕЛЕЙ МЧС И СОТРУДНИКОВ ГПС

Иммунная система наряду с нервной и эндокринной относится к регуляторным системам, участвует в поддержании гомеостаза, используя с этой целью разнообразные и многочисленные механизмы, направленные на элиминацию генетически чужеродного антигенного материала, носителями которого являются бактерии, вирусы, простейшие, гельминты. Иммунная система также реагирует на агрессивное проникновение пищевых, ингаляционных и аппликаторных веществ из окружающей среды, т.е. на внешние факторы, преодолевшие барьерные ткани, внедрившиеся во внутреннюю среду организма и вступившие в молекулярные взаимодействия с клетками и/или межклеточным матриксом. Мишенями иммунной системы являются клетки организма, подвергшиеся мутации, функционально неполноценные, в том числе лимфоциты, «отработавшие» в иммунном ответе. В результате нарушений центральных и периферических механизмов иммунологической толерантности, приобретения антигенами тканей такого свойства как иммуногенность, мишенями аутоагрессии могут становиться клетки организма, что приводит к нарушению морфологической целостности и/или функциональной полноценности ткани.

Превалирование клеточного или гуморального иммунного ответа зависит не только от антигена, но и определяется генетическим статусом организма. В настоящее время доказана связь заболеваний иммунной системы с наследственной предрасположенностью. Клетки иммунной системы –лимфоциты-, как и другие клетки, происходящие из полипотентных гемопоэтических стволовых клеток, в процессе кроветворения проходят стадии дифференцировки, каждая из которых характеризуется экспрессией соответствующего набора антигенов, т.е. материальным субстратом, отражающим функциональную зрелость клетки. Особенностью лимфоцитов, в отличие от других клеток крови, процесс дифференцировки которых в костном мозге приводит к полной потере пролиферативного потенциала, является сохранение способности к пролиферации после миграции из костного мозга. Пути миграции В-, Т-, НК-клеток (НК-клетки – естественные или натуральные киллеры) после того, как они покинули костный мозг, расходятся. Клетки каждой субпопуляции лимфоцитов направляются в периферические органы иммунной системы и тимус под контролем определенных рецепторов. Из клеток-предшественников Т-лимфоцитов, покинувших костный мозг, в тимус проникает не более 5 %. Под влиянием клеточных и гуморальных факторов микроокружения эти клетки с фенотипом CD3–CD4–CD8– (CD – кластер дифференцировки) продолжают дифференцировку. Известно, что про-Т-клетки, из числа непреодолевших гематотимический барьер,

мигрируют в селезенку, где могут дифференцироваться в НК-клетки. В постнатальном периоде в тимусе дифференцируются в основном Т-клетки, несущие рецептор TCR α/β -типа (TCR – Т-клеточный рецептор) (Мейл Д. и др., 2007). На стадии про-Т клеток гены α и β цепей не перестроены, только в небольшом количестве клеток определяется реаранжировка типа DJ гена V β . На стадии пре-Т1 происходит VDJ-перестройка этого гена, а также генов V γ и V δ . На стадии пре-Т1 перестройка приводит к экспрессии полноценной β -цепи вместе с суррогатной α -цепью и белками CD3. Эти клетки, осуществляя реаранжировку и активацию V α -гена, становятся Т-клетками, экспрессирующими на мембране рецепторный комплекс α/β TCRCD3. Одновременно с формированием полноценного рецептора α/β на мембране тимоцитов увеличивается плотность молекул CD4 и CD8. Особенностью незрелых кортикальных тимоцитов является одновременная экспрессия корецепторов CD4 и CD8, на их мембране появляется характерный для этой стадии развития тимоцитов антиген CD1. Результатом положительной селекции – взаимодействия тимоцитов с эпителиальными клетками, несущими на поверхности молекулы HLA II класса (HLA- human leukocyte antigens-лейкоцитарные антигены человека), является поддержание тех клонов тимоцитов, рецепторы которых обладают сродством к продуктам аутологичных генов MHC (MHC - Большой комплекс гистосовместимости) в сочетании с любыми антигенными пептидами. На этой стадии поддерживаются клоны, способные распознать как полностью аутологичные комбинации молекул HLA и пептидов, так и аутологичные молекулы HLA в комплексе с чужеродными пептидами. Отрицательная селекция осуществляется в мозговом слое и кортико-медулярной зоне тимуса в процессе взаимодействия с дендритными клетками с выраженной экспрессией молекул HLA I и II классов. В результате двух фаз отбора элиминируются клоны тимоцитов, которые несут рецепторы, специфичные к антигенам, не имеющим отношения к аутологичным антигенам HLA, а также к комплексам аутологичных антигенных пептидов с аутологичными молекулами HLA. В этот же период формируется другой тип гетерогенности лимфоцитов – субпопуляционный. Разделение Т-лимфоцитов на субпопуляции определяется характером распознавания антигенных пептидов. Т-клетки, распознающие комплекс антигенного пептида с продуктами генов MHC I класса, в функциональном отношении являются цитотоксическими Т-лимфоцитами, а Т-клетки, распознающие комплекс антигенного пептида с продуктами генов MHC II класса – хелперами.

В последнее время пристальное внимание уделяется регуляторным клеткам, которые обладают выраженной супрессорной активностью. Т-регуляторные клетки имеют фенотип CD3⁺CD4⁺CD25^{bright}CD127^{dim-to-neg}FOXP3⁺ CD45RO⁺CD95⁺. Исследования показали, что FOXP3, который

кодирует фактор транскрипции скурфин (scurfin), является главным регулирующим геном для развития и функционирования CD4⁺CD25^{high} регуляторных Т клеток. CD127 представляет из себя α-цепь гетеродимерного рецептора ИЛ-7 (интерлейкин 7), состоящего из CD127 и общей γ-цепи, которая представлена и в других рецепторах цитокинов ИЛ-2Р, ИЛ-4Р, ИЛ-9Р, ИЛ-15Р и ИЛ-21Р). CD127 экспрессируется на тимоцитах, Т- и В-предшественниках, зрелых Т-клетках, моноцитах и некоторых других лимфоидных и миелоидных клетках. Показано, что ИЛ-7Р играет важную роль в пролиферации и дифференцировке зрелых Т клеток.

Высокое содержание в периферической крови Т-регуляторных клеток наблюдается у пациентов с гиперреактивным иммунным ответом. Вероятно, такая ситуация отражает попытку иммунной системы ограничить избыточную активацию клеток..

Натуральные киллерные клетки являются особой популяцией лимфоцитов, не экспрессирующих на поверхностной мембране специфических ТКР в комплексе с CD3 (только ζ цепь), ВКР (В-клеточный рецептор), представленных иммуноглобулинами, т.е. эти клетки не способны специфически взаимодействовать с антигенными детерминантами как экзо-, так и эндоантигенов, они осуществляют в организме неспецифическую иммунную защиту, являясь компонентом врожденного иммунитета.

Условно НК-клетки делят на две субпопуляции, которые отличаются по фенотипу и функциональным особенностям. Такое деление обусловлено уровнем экспрессии на поверхностной мембране антигенов CD56 и CD16. НК-клетки, характеризующиеся высоким уровнем экспрессии CD16 и низким уровнем CD56 (CD16^{bright} CD56^{dim}), составляют приблизительно 90 %, преобладают в циркуляции, а также локализуются в красной пульпе селезенки. Лимфоциты с фенотипом CD56^{bright} CD16^{dim} или CD56^{bright} CD16⁻ локализуются в печени, слизистой оболочке матки, в децидуальной оболочке. В крови их содержание минимально.

Как уже говорилось, CD56^{bright} НК-клетки, характеризуются низким уровнем экспрессии CD16 или ее отсутствием. Эта субпопуляция составляет не более 10 % от всех НК-клеток, циркулирующих в периферической крови, характеризуется высоким уровнем экспрессии высоко- и среднеаффинных рецепторов к ИЛ-2 (интерлейкин 2) и отвечает на низкие дозы этого цитокина *in vitro*. Для НК-клеток CD56^{bright} характерны более высокие уровни продукции цитокинов в сравнении с другой субпопуляцией, имеющей низкую экспрессию CD56 (CD56^{dim}), высокую плотность CD16, более значимый цитотоксический потенциал. Доказано, что самой высокой цитотоксической активностью характеризуются клетки, имеющие в покое фенотип CD56^{dim}, низкий

пролиферативный ответ и, по-видимому, являющиеся терминально дифференцированными.

Несмотря на разную локализацию и различия в уровне экспрессии молекул поверхностных мембран обе субпопуляции НК-клеток относятся к эффекторным клеткам иммунной системы, осуществляющим киллинг клеток-мишеней. НК-клетки синтезируют широкий спектр цитокинов, участвующих в межклеточных взаимодействиях и обеспечивающих развитие полноценного иммунного ответа, т.е. вторая важная функция этих клеток - регуляторная.

НК-клетки не реализуют цитотоксическую активность в отношении нормальных аутологичных клеток.

Роль натуральных киллерных клеток обусловлена способностью реализовать специфическую антителозависимую цитотоксичность по отношению к клеткам-мишеням, антигены которых, приобретая свойства иммуногенности, запускают специфический иммунный ответ.

В-лимфоциты - предшественники плазматических клеток, которые продуцируют антитела, в том числе аутоантитела - специфические маркеры аутоиммунных заболеваний. Участие аутоантител в патогенезе заболеваний реализуется в механизмах тканевой деструкции, которые опосредованы иммунными комплексами, специфической антителозависимой цитотоксичностью НК-клеток, стимуляцией циркулирующими иммунными комплексами, содержащими аутоантитела, гиперпродукцией провоспалительных цитокинов ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-1 β (интерлейкин 1 β).

В настоящее время среди В-клеток выделяют три основные субпопуляции, а именно: В-1, В-2 и В-клетки памяти. Согласно литературным данным, в сравнении с В-2, В-1 клетки относительно длительно живущие, несут на своей поверхности низкоаффинный В-клеточный рецептор, преобладают в брюшной и плевральной полостях, а также в миндалинах.

Доказано множественными исследованиями, что характер и течение любой соматической патологии зависит от состояния иммунной системы, более того, нарушения иммунитета являются одним из механизмов и патофизиологической основой для формирования соматической патологии.

Выделяют три основных группы заболеваний иммунной системы (Б. В. Пинегин, 1997):

- количественная или функциональная недостаточность того или иного звена иммунитета, вследствие чего развивается иммунодефицитное состояние;
- нарушение в распознавании антигена иммунной системой и срыв механизмов иммунологической толерантности обуславливают развитие аутоиммунных процессов;

- гиперреактивный или “извращенный” иммунный ответ, который проявляется аллергическими заболеваниями.

Бесспорно, что совершенствование единой государственной системы предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций (РСЧС), предназначенной для защиты населения и территорий от чрезвычайных ситуаций (ЧС) природного и техногенного характера. требует повышения готовности сил и средств РСЧС, в том числе одной из их составляющих – поисково-спасательных формирований МЧС России. На специализированные аварийно-спасательные подразделения МЧС РФ возлагается особая роль по обеспечению законного права и национальных интересов граждан РФ в области сохранения их жизни и здоровья при развитии ЧС

Для обеспечения максимальной эффективности профессиональной деятельности особое значение приобретают мероприятия по сохранению здоровья спасателей

Совокупность неблагоприятных факторов условий труда профессиональных спасателей МЧС и сотрудников ГПС требует особого контроля и мониторинга их здоровья.

В соответствии с приказами МЗМП РФ от 14.03.96 г., МЗСР РФ от 16.08.2004 г. №83 с изменениями от 16.05.05 г. требования к состоянию здоровья данной когорты лиц исключительно высоки, при этом набор разработанных диагностических и профилактических мероприятий явно недостаточен для выявления и предупреждения патологии, ассоциированной с профессиональными факторами.

В связи с выше сказанным, иммунологическое обследование и анализ состояния здоровья спасателей поисково-спасательных формирований МЧС России были выполнены у 104 мужчин поисково-спасательных формирований: Северо-Западного региона (ПСФСЗ) – 63 человека и Центрального аэромобильного спасательного отряда (ЦАМО) – 41 человек. Также обследованы 34 пожарных Санкт-Петербурга.

Характеристика группы обследованных спасателей и выявленные нарушения иммунитета

Возрастные пределы в группе спасателей составили 19 – 60 лет , в среднем 33 года. Средний возраст спасателей ПСФСЗ 33 года, ЦАМО -34.7 года. Стаж работы по группе составил от 0 до 13 лет, в среднем 4,3 года. Вся когорта спасателей была распределена на три подгруппы в зависимости от стажа : первая подгруппа – до 3 лет, вторая от 3 до 6, третья – более 6 лет.

В таблице 2.2.1 представлено распределение обследованных по стажу работы в должности спасателя.

Как видно из представленных в таблице данных в отряде спасателей Северо-Западного региона лица работающие более 6 лет представлены в

небольшом количестве, в отличие от ЦАМО, количество лиц со стажем работы от 3 до 6 лет были сопоставимы в отрядах.

Таблица 2.2.1.

Распределение обследованного контингента по стажу работы

Стаж	ПСФСЗ (n=63)	ЦАМО (n=41)	Всего (n=104)
До 3-х лет	33 (52.38 %)	6 (14,63 %)	39 (37,5 %)
От 3 до 6 лет	24 (38.1 %)	16 (39,03 %)	40 (38,46 %)
Более 6 лет	6 (9.52 %)	19 (46,34 %)	25 (24,04 %)

Для оценки интенсивности труда спасателей в сравниваемых поисково-спасательных формированиях было оценено количество поисково-спасательных работ, приходящихся на 1 человека в год. Результаты оценки интенсивности труда представлены в таблице 2.2.2.

Таблица 2.2.2.

Показатели интенсивности поисково-спасательных работ (ПСР) в ПСФСЗ и ЦАМО в год

Отряд	ПСР	Количество человек	Количество ПСР на 1 человека.
ПСФСЗ	119	31	3,8
ЦАМО	1149	120	9,6*

- – P < 0.05

Как видно из представленных данных интенсивность работы в ЦАМО достоверно превышала показатели в ПСФСЗ (более чем в 2 раза)

При анализе диагностированной соматической патологии во всей когорте обследованных ведущие позиции занимали болезни органов пищеварения, дыхания, эндокринной, костно-мышечной систем и органов кровообращения.

Частота выявленных заболеваний была следующей:

- хронический гастрит, ассоциированный с НР-инфекцией, у 35 спасателей (33,65 %),

- язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки у 7 (6,73 %),
- жировой гепатоз у 6 (5,77 %), дискинезия желчного пузыря у 4 (3,85 %),
- хронический необструктивный бронхит у 17 (16,35 %),
- хронический обструктивный бронхит у 11 (11,58 %),
- диффузный зоб у 12 (11,54 %),
- ожирение у 7 (6,73 %),
- остеохондроз позвоночника у 24 (23,08 %),
- гипертоническая болезнь у 9 (8,65 %),
- ишемическая болезнь сердца у 4 (3,85 %),
- нарушение углеводного обмена у 6 (5,77 %),
- близорукость у 7 (6,73 %).

При анализе среднего числа заболеваний у 1 спасателя выявлено, что это число в ЦАМО достоверно выше ($P < 0,05$), чем в ПСФСЗ.

При анализе заболеваний, диагностированных у спасателей ЦАМО и ПСФСЗ, установлено, что ведущее место в обеих группах занимает патология желудочно-кишечного тракта, причем в ЦАМО уровень данной патологии достоверно выше ($P < 0,05$), чем в ПСФСЗ. В структуре патологии желудочно-кишечного тракта доминируют следующие нозологические формы - хронический гастрит, ассоциированный и неассоциированный с Нр-инфекцией (47,12 %), а также язвенная болезнь (6,73 %). В ЦАМО достоверно выше уровень заболеваний сердечно-сосудистой системы, органов дыхания, эндокринной, нервной и костно-мышечной систем.

При анализе заболеваемости у спасателей диагноз «Практически здоров» при стаже от 0 до 3-х лет установлен у 33,3 % обследованных, от 3 до 6 лет - у 17,5 %, от 6 и более лет - у 7,8 %.

Результаты изучения иммунологических показателей

При сравнении данных иммунологического обследования сотрудников ЦАМО и ПСФСЗ были выявлены ряд достоверных различий. Результаты обследования представлены в таблице 2.2.3.

При анализе результатов, представленных в таблице 3, выявлено, что в обеих группах спасателей показатели выходили за пределы референтных значений.

В группе ПСФСЗ иммунологические показатели характеризовались активацией- CD25, HLAII, CD95- относительные и абсолютные значения, уровень в сыворотке ФНО- α были выше верхней границы референтных значений.

Таблица 2.2.3

Сравнительная характеристика показателей иммунитета у спасателей
из ПСФСЗ и ЦАМО

Критерий	ПСФСЗ (n=63)	ЦАМО (n=41)	Референтные значения
Лейкоциты в 1 мкл	6596 ± 302	7111 ± 254	4000-9000
Лимфоциты, %	33,71 ± 1,32	36,36 ± 1,26	19-37
Лимфоциты в 1 мкл.	2099 ± 80	2541 ± 105*	1200-2500
CD3, % (Т-клетки)	61,93 ± 1,39	70,33 ± 1,72*	52-76
CD3, абс. в 1 мкл.	1314 ± 66	1812 ± 99*	950-1800
CD 4, % (Т-хелперы)	36,39 ± 1,08	45,83 ± 1,70*	31-46
CD 4, абс. в 1 мкл.	776 ± 45	1168 ± 79*	570-1100
CD 8, % (Т-киллеры)	26,74 ± 0,74	24,47 ± 1,07	23-40
CD 8, абс. в 1 мкл.	560 ± 24	619 ± 37	450-830
CD 4/ CD 8	1,41 ± 0,07	2,05 ± 0,16*	1,0-1,7
CD 16, % (NK-клетки)	16,06 ± 0,67*	11,00 ± 1,02	9-19
CD 16, абс. в 1 мкл.	332 ± 17	275 ± 27	180-420
CD 20, % (В-клетки)	12,87 ± 0,81*	6,69 ± 0,59	6-18
CD 20, абс. в 1 мкл.	275 ± 22	168 ± 14	150-400
CD 25, % (рецептор для ИЛ-2)	12,73 ± 0,99*	5,50 ± 0,47	0,1-5
CD 25, абс. в 1 мкл.	260,47 ± 21,81*	130,63 ± 12,06	5-140
HLAII, % (антигены гистосовместимости II класса)	16,22 ± 1,17*	7,00 ± 0,57	6-22
HLAII, абс. в 1 мкл.	349,47 ± 31,14*	157,33 ± 15,61*	120-250
CD 95, % (маркер готовности к апоптозу)	15,07 ± 1,35*	4,50 ± 0,52	2-7
CD 95, абс. в 1 мкл.	324,83 ± 32,83*	110,38 ± 15,54	50-160
Спонтанная продукция ИЛ 1β, пг/мл	161,21 ± 23,32	218,33 ± 35,90	0-50
Спонтанная продукция ФНО-α, пг/мл	29,52 ± 3,93	241,19 ± 61,79*	0-50
Индукцированная продукция ФНО-α, пг/мл	454,90 ± 62,24	850,42 ± 89,34*	500-1500
Содержание в сыворотке ФНО-α, пг/мл	60,22 ± 11,07	48,46 ± 21,00	0-50

*- P < 0,05

В группе ЦАМО изменения характеризовали напряженность иммунной системы – было увеличено по сравнению с референтными

интервалами абсолютное число лимфоцитов , абсолютное число Т-клеток и Т-хелперов, ввиду чего коэффициент соотношения Т-хелперов и Т-киллеров было выше нормы. Показатели спонтанной продукции ИЛ-1 β были выше референтных значений в обеих группах спасателей. При сравнении иммунологических показателей в двух группах были выявлено достоверные различия, которые связаны , по-видимому, с тем, что в отряде ЦАМО почти половина сотрудников работала в отряде 6 лет и больше , а интенсивность труда была достоверно выше, чем у спасателей в ПСФСЗ.

Достоверные различия представлены в таблице 2.2.4.

Таблица 2.2.4.

Достоверные различия в показателях иммунитета в двух отрядах спасателей

Критерий	ПСФСЗ (n=63)	ЦАМО (n=41)
Лимфоциты в 1 мкл.	2099 \pm 80	2541 \pm 105*
CD3, % (Т-клетки)	61,93 \pm 1,39	70,33 \pm 1,72*
CD3, абс. в 1 мкл.	1314 \pm 66	1812 \pm 99*
CD 4, % (Т-хелперы)	36,39 \pm 1,08	45,83 \pm 1,70*
CD 4, абс. в 1 мкл.	776 \pm 45	1168 \pm 79*
CD 4/ CD 8	1,41 \pm 0,07	2,05 \pm 0,16*
CD 20, %(В-клетки)	12,87 \pm 0,81*	6,69 \pm 0,59
CD 25, % (рецептор для ИЛ-2)	12,73 \pm 0,99*	5,50 \pm 0,47
CD 25, абс. в 1 мкл.	260,47 \pm 21,81*	130,63 \pm 12,06
HLAII, % (антигены гистосовместимости II класса)	16,22 \pm 1,17*	7,00 \pm 0,57
HLAII, абс. в 1 мкл.	349,47 \pm 31,14*	157,33 \pm 15,61
CD 95, % (маркер готовности к апоптозу)	15,07 \pm 1,35*	4,50 \pm 0,52
CD 95, абс. в 1 мкл.	324,83 \pm 32,83*	110,38 \pm 15,54
Спонтанная продукция ФНО- α , пг/мл	29,52 \pm 3,93	241,19 \pm 61,79*
Индукцированная продукция ФНО- α , пг/мл	454,90 \pm 62,24	850,42 \pm 89,34*

*- P < 0,05

У спасателей ЦАМО выявлено достоверно более высокое абсолютное число лимфоцитов, абсолютное и относительное количество зрелых Т-лимфоцитов (CD3+) и Т-хелперов (CD4+ лимфоциты). Индекс соотношения Т-хелперов и Т-киллеров также был достоверно выше. Спонтанная продукция ФНО- α , указывающая на системное иммунное

воспаление, не только выходила за пределы референтного интервала, но и была достоверно выше, чем у спасателей ПСФСЗ. В ответ на антигенный стимул продукция ФНО- α в группе спасателей из ЦАМО была в норме и достоверно выше, чем в группе спасателей ПСФСЗ (в этой группе она была ниже референтных значений).

В группе спасателей ПСФСЗ наблюдалось достоверное повышение относительного количества В-лимфоцитов (CD20+ лимфоциты) по сравнению с этим показателем у ЦАМО, а также абсолютного и относительного количества лимфоцитов, несущих активационные маркеры CD25, HLAII и CD95.

При сравнении показателей иммунитета у спасателей в зависимости от стажа работы были выявлены следующие закономерности (табл.2.2.5).

Таблица 2.2.5

Особенности показателей иммунитета в зависимости от стажа работы в спасательном отряде

Показатель	Стаж		
	0-3 лет	3-6 лет	Более 6 лет
Лейкоциты, в 1 мкл (4000-9000)	6100 ± 295*	7405 ± 364	6754 ± 354
Лимфоциты, % (19-37)	34,95 ± 1,70	32,99 ± 1,63**	37,57 ± 1,13
Лимфоциты в 1 мкл (1200-2500)	2076, ± 126**	2302 ± 94	2510 ± 130
CD4, % (31-46)	41,71 ± 1,73*	37,28 ± 1,41**	42,86 ± 2,50
CD 4 в 1мкл (570-1100)	910 ± 91	867 ± 54**	1082 ± 102
CD 8, % (23-40)	26,61 ± 1,28	25,81 ± 0,93	24,77 ± 0,93
CD 8 в 1мкл (450-830)	545 ± 35	593 ± 33	621 ± 42
CD 4/ CD 8 (1,0-1,7)	1,71 ± 0,15	1,52 ± 0,09	1,85 ± 0,21
CD 16, % (9-19)	13,74 ± 0,92	14,25 ± 1,01	14,09 ± 1,47
CD 16 в 1мкл (180-420)	265 ± 18 **	326 ± 26	340 ± 35
CD 20, % (6-18)	9,58 ± 0,86*	12,49 ± 1,11**	8,05 ± 1,05
CD 20 в 1мкл (150-400)	193 ± 22*	287 ± 28**	192 ± 23
CD 25, % (0,1-5)	8,18 ± 1,10*	12,57 ± 1,21	8,79 ± 1,57
CD 25 в 1мкл (5-140)	149 ± 18*	277 ± 27	195 ± 32
HLAII, % (6-22)	10,23 ± 0,87*	17,61 ± 1,68**	11,24 ± 2,19
HLAII, в 1мкл (120-250)	197 ± 23*	396 ± 45**	252 ± 42
CD 95, % (2-7)	8,22 ± 1,22*	16,61 ± 1,93**	9,41 ± 2,14
CD 95, в 1мкл (50-160)	166 ± 27*	369 ± 47**	212 ± 45
Спонтанная продукция ИЛ 1 β , пг/мл (0-50)	150,97 ± 30,32	160,33 ± 53,90	246,17 ± 71,41
Спонтанная продукция ФНО- α , пг/мл (0-50)	60,31 ± 24,83**	180,80 ± 74,08	235,17 ± 92,29
Индукцированная продукция ФНО- α , пг/мл (500-1500)	493,14 ± 57,99*/**	783,65 ± 111,14	819,06 ± 154,18
Содержание в сыворотке ФНО- α , пг/мл (0-50)	25,97 ± 3,54*/**	58,16 ± 13,19	94,81 ± 37,03

P < 0.05 по сравнению со 2 группой, ** - P < 0.05 по сравнению с 3 группой

При анализе результатов сравнения нарушений показателей иммунитета в зависимости от стажа работы четкой зависимости от стажа работы большинства показателей не выявлено- независимо от стажа повышалось число клеток с активационными маркерами CD25, CD95 ,HLA-DR. Эти показатели повышались и выходили за пределы нормативных значений , независимо от сроков службы в отряде спасателей. Четкая зависимость от сроков работы спасателем выявлена в уровне продукции провоспалительных цитокинов- ИЛ 1 β и ФНО- α (уровень спонтанной продукции и количество цитокина в сыворотке крови прогрессивно увеличивается по мере увеличения сроков работы в спасательном отряде). При сроке работы более 6 лет увеличивается абсолютное число лимфоцитов, что отражает напряженность иммунитета.

Как известно дефекты нейроэндокриноиммунных взаимоотношений могут способствовать формированию хронического воспаления в отсутствие инфекционных возбудителей (ChiKanza I.C., Grossman A.B., 2000; I.C.Chikanza, A.B.Grossman, 2000). В обоих отрядах спасателей наблюдается сходная картина - снижена индуцированная продукция интерлейкина 1 β ,ФНО- α при их повышенной спонтанной продукции и высоком содержании в сыворотке. Нарушение синтеза и продукции ИЛ-1 β может являться как результатом, так и проявлением нейро-гормонального дисбаланса. В исследуемых группах спасателей независимо от стажа работы высокая спонтанная продукция ИЛ-1 β сочеталась с увеличением спонтанной продукцией ИЛ-1Ra, превышавшей значения популяционной нормы. Соотношение ИЛ-1Ra/ ИЛ1 в 1 и 2 группе были сопоставимы, однако в 3 группе этот показатель был почти в два раза ниже (4,3 – 4,3 – 2,4 соответственно). Таким образом, проявления плейотропного действия ИЛ-1 β в 3 группе могли быть более выражены. В иммунном ответе ИЛ-1 β стимулирует продукцию ростового фактора ИЛ-2, экспрессию низкоаффинного рецептора к данному цитокину CD25 и, как следствие, повышается пролиферативная активность лимфоцитов. Выявленные изменения в иммунной системе, являющейся одной из регуляторных систем, свидетельствуют о перманентной активации и напряжении иммунных механизмов, сочетающихся с нейро-эндокринными нарушениями.

Учитывая достоверное прогрессивное увеличения спонтанной продукции провоспалительных цитокинов по мере увеличения стажа работы и при наличии большей интенсивности работы (спасатели ЦАМО) можно говорить о постепенном срыве адаптационных процессов у спасателей. Это подтверждают клинические данные о значительно меньшем количестве практически здоровых спасателей в

центральном отряде по сравнению с ПСФСЗ. При анализе продукции ФНО- α в зависимости от соматической патологии, выявлено его максимальное повышение в группе спасателей, имеющих заболевания сердечно-сосудистой системы -ССС ($p < 0,05$). Учитывая современные представления о взаимосвязи уровня продукции клетками иммунной системы ФНО- α и болезнями сердечно-сосудистой системы, воспалительными заболеваниями дыхательной системы и желудочно-кишечного тракта целесообразно при иммунологическом мониторинге состояния здоровья спасателей оценивать в динамике продукцию провоспалительных цитокинов.

Нарушения параметров иммунитета в группе пожарных

Как известно, профессиональная деятельность пожарных осуществляется в условиях сложной оперативной и тактической обстановки, часто в чрезвычайных ситуациях. Эта работа сопровождается воздействием разнообразных опасных и вредных факторов, высокими физическими и психоэмоциональными нагрузками. В таких ситуациях возрастает риск возникновения аллергических заболеваний, обусловленных воздействием комплекса факторов биологического, химического и физического характера, что также может явиться причиной развития недостаточности в системе местного иммунитета слизистых оболочек, склонности к вирусным инфекциям. Для того, чтобы оценить особенности параметров врожденного иммунитета у действующих пожарных Санкт-Петербурга были обследованы 34 сотрудника ГПС в возрасте от 19 до 45 лет.

При оценке иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови и иммуноглобулина Е, который характеризует степень алергизации организма, было выявлено, что уровень иммуноглобулинов А, М, G не выходил за пределы референтных значений, в 29,5 % случаев отмечалось повышение иммуноглобулина Е выше нормы.

Уровень секреторного иммуноглобулина А в сыворотке крови у 25 обследованных (73,5 %) выходил за границы нормальных значений, так у 21 пожарного (61,7 %) он превышал верхнюю границу нормы, у 11,8 % значение этого показателя были ниже нормы.

Данные исследования секреторного иммуноглобулина А представлены в таблице 2.2.6.

Как видно из результатов, представленных в таблице 6, уровень секреторного IgA в сыворотке крови и, особенно, в слюне пожарных был выше нормальных значений, что может являться следствием воздействия разнообразных вредных факторов, проникающих в

дыхательные пути в составе вдыхаемого воздуха и оцениваться как защитная реакция местного и системного иммунитета.

Таблица 2.2.6

Средние значения секреторного иммуноглобулина А в сыворотке крови и в слюне

Показатель	Секреторный IgA в сыворотке крови (мкг/мл)	Секреторный IgA в слюне (мкг/мл)
Пожарные	5,22 ± 0,97	400,0 ± 24,8
Норма	1,5-3,0	57-260

Повышение уровня IFN γ в сыворотке крови отмечалось у 10 пожарных (28,2 %). Уровень IL-4 в сыворотке крови выше 250 пг/мл был выявлен у 3 (8,8 %) обследуемых. Цитотоксическая активность натуральных киллерных клеток была снижена в 70,7 % случаев. В таблице 2.2.7 представлены данные, характеризующие цитотоксическую активность натуральных киллеров в группе пожарных.

Таблица 2.2.7

Цитотоксическая активность натуральных киллеров в группе обследованных пожарных

Показатель	Цитотоксическая активность НК-клеток
Пожарные	32,3 ± 1,7 усл.ед
Норма	37-44 усл.ед.

Цитотоксическая активность натуральных киллерных клеток, осуществляющих элиминацию в организме «старых» клеток, клеток, инфицированных внутриклеточными возбудителями, а также опухолетрансформированных клеток, была ниже нормальных значений, что может указывать на снижение резистентности к вирусным и другим инфекциям, угнетение в организме синтеза регуляторных медиаторов, опосредующих реализацию киллерной функции НК-клеток.

Известно, что неблагоприятные факторы профессиональной деятельности пожарных оказывают влияние на параметры врожденного иммунитета, в частности на функцию нейтрофильных гранулоцитов.

Анализ результатов исследования количества нейтрофильных гранулоцитов, экспрессирующих CD16 показал, что только у 3 пациентов экспрессия этого антигена была снижена. Количество нейтрофильных гранулоцитов, экспрессирующих CD95, у 8 пациентов превышало верхние значения нормы.

Результаты изучения функциональных способностей нейтрофильных гранулоцитов в группе пожарных представлены в таблице 2.2.8.

Таблица 2.2.8

Функциональные способности нейтрофильных гранулоцитов в группе пожарных

Параметр	Пожарные	Контрольная группа
Адгезия спонтанная	36 ± 8	47 ± 5
Адгезия индуцированная	52 ± 9*	75 ± 10
Бактерицидность спонтанная	115 ± 8*	86 ± 14
Бактерицидность индуцированная	175 ± 9	150 ± 10
Фагоцитарное число	71 ± 5	80 ± 5
Фагоцитарный индекс	2,30 ± 0,3	2,5 ± 0,2
Индекс завершенности	1,0 ± 0,3	1,02 ± 0,1

P < 0,05 по сравнению с контрольной группой

Отмечается снижение индуцированной способности нейтрофильных гранулоцитов прилипать к эндотелию сосудов, что затрудняет накопление клеток в зоне повреждения.

Раздражающее воздействие газового состава вдыхаемого воздуха подтверждается высокой спонтанной бактерицидностью нейтрофильных гранулоцитов. Повышение этого показателя в большей степени свидетельствует о неспецифической активации системы естественной резистентности, при этом количество фагоцитирующих нейтрофилов и их поглотительная и переваривающая активность не выходит в целом за границы нормальных значений.

Заключение

Патогенетическими механизмами формирования соматической патологии спасателей являются нарушения в иммунной системе, а именно активация иммунитета, которая характеризуется увеличением числа клеток с активационными маркерами, с доминированием провоспалительного Th1 иммунного ответа, с высоким уровнем синтеза и продукции провоспалительных цитокинов ИЛ-1β и ФНО-α, что вносит свой вклад в формирование соматической патологии.

Полученные результаты указывают на необходимость проводить мониторинг параметров иммунитета спасателей и пожарных для исключения иммунологических нарушений, которые играют важную роль в формировании соматической патологии у лиц опасных профессий и в случае выявления нарушений проводить своевременную иммунокорректирующую терапию.

2.3. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА У СОТРУДНИКОВ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ПОЖАРНОЙ СЛУЖБЫ И ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧАЭС

Известно, что профессиональная деятельность сотрудников государственной противопожарной службы (ГПС) сопровождается высоким психоэмоциональным напряжением, что, как правило, приводит к формированию хронического стресса и развитию различных форм заболеваний. Кроме того, неблагоприятные факторы условий труда, влияют на защитные барьерные функции организма. Частой патологией у пожарных, связанной с воздействием профессиональных вредностей и хроническим стрессом, являются заболевания желудочно-кишечного тракта.

Было обследовано 37 мужчин - сотрудников ГПС в возрасте от 19 – 47 лет (в среднем 30 лет) и 94 мужчины – ликвидатора последствий аварии (ЛПА) на ЧАЭС в возрасте от 41 до 76 лет (средний возраст $56,0 \pm 0,8$). Сотрудникам ГПС проводилась плановая диспансеризация, а ликвидаторы проходили обследование и лечение по поводу хронического гастрита.

Оценку состояния слизистой оболочки желудка (СОЖ) проводили с использованием гастропанели (GastroPanel, Biohit Diagnostics, Финляндия).

Полученные результаты сравнивали со значениями в группе лиц, сопоставимых по возрасту и полу и не имевших профессиональных вредностей ($n = 37$).

Определение сывороточной концентрации проэнзима пепсиногена I (PGI) совместно с гастрином-17 (G17) и антителами к НР-инфекции позволило выявить группу пожарных с высоким риском пренеопластических изменений (табл. 2.3.1).

Таблица 2.3.1

Изменение концентрация гастрина-17 и пепсиногена I
в зависимости от функциональной активности СОЖ
в группе пожарных и у здоровых добровольцев

	Обозначение	PGI, мкг/л	G17, пмоль/л	Анти-НР, ЕIU
Атрофический гастрит антрального отдела желудка (n = 3)	A	$200 \pm 10,6$ ***	$0,4 \pm 0,0$ **	$105,5 \pm 0,3$
Неатрофический гастрит (n = 10)	S	$137,7 \pm 2,8$ ***	$10,1 \pm 0,7$	$87,6 \pm 0,9$
Нормальная слизистая (n = 24)	N	$118,9 \pm 1,7$	$16,1 \pm 2,4$	$18,9 \pm 0,9$ *
Группа сравнения (n=30)	D	$83,1 \pm 1,5$	$1,4 \pm 0,8$	$22,3 \pm 0,2$ *

Особую проблему в группе лиц, подвергающихся длительному воздействию загрязнений атмосферы и хронического стресса во время ликвидации пожаров, является ранняя диагностика атрофического гастрита, который часто протекает бессимптомно или проявляется неспецифической симптоматикой. Среди обследованных (средний возраст 30 лет) с использованием гастропанели в 33 % случаев диагностирована патология слизистой желудка. В 8 % случаев выявлен атрофический гастрит антрального отдела желудка, ассоциированный с инфекцией, вызванной *Helicobacter pylori*. У 27 % пожарных выявлен неатрофический гастрит с высоким риском язвенной болезни, а среди пациентов с нормальной слизистой чаще, чем в группе сравнения отмечались изменения, характерные для рефлюксных заболеваний. Частота Hр-ассоциированного гастрита среди обследованных пожарных по результатам определения уровня специфических антител к Hр составляла 35 %, что значительно ниже, чем в популяции.

Таблица 2.3.2

Изменение параметров тест-систем «GastroPanel» при различных состояниях СОЖ у мужчин-ЛПА (n = 94)

	PGI, мкг/л	PGII, мкг/л	PGI/II	G17, пмоль/л	Анти-Hр, ЕІU
Атрофический гастрит тела желудка (С) (n = 7) (7,4 %)	13,4 ± 1,8*	12,0 ± 0,9	0,99 ± 0,8*	25,3 ± 1,3	90,9 ± 0,0
Атрофический гастрит антрального отдела желудка(А) (n = 1) (1,1 %)	86,3 ± 0,0	2,8 ± 0,0	30,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0**	121,5 ± 0,0
Атрофический гастрит тела желудка и антрального отдела (АС) (n = 7) (7,4 %)	26,4 ± 2,0*	16,0 ± 1,6	1,5 ± 0,7*	4,4 ± 0,9	109,2 ± 0,0
Неатрофический гастрит (S) (n = 67) (71,3 %)	137,7 ± 2,8 ***	24,9 ± 1,5	5,4 ± 1,1	4,9 ± 1,4	122,6 ± 0,0
Норма (N) (n = 12) (12,7 %)	83,1 ± 1,5	12,5 ± 1,1	7,8 ± 1,2	1,4 ± 0,8	22,3 ± 0,0

* - различия с подгруппами А, S, N достоверны ($p < 0,05$);

** - различия с подгруппами С, АС, S достоверны ($p < 0,05$);

*** - различия с подгруппами С, А, АС, N достоверны ($p < 0,05$).

Распространенность Нр-инфекции, концентрации PGI, PGII и G17, а также частота атрофий существенно различаются в различных когортах населения. Ниже представлены данные по результатам выявления различных состояний функциональной активности СОЖ среди ликвидаторов (табл. 2.3.2)

Было показано, что у мужчин-ликвидаторов преобладают либо локальные атрофические изменения слизистой оболочки тела желудка, либо мультифокальные (тело и антрум). Атрофический гастрит антрального отдела желудка выявлен только у одного обследованного.

Частоты распределения возможных изменения слизистой оболочки по результатам GastroPanel среди пожарных и ликвидаторов в табл. 2.3.3.

Таблица 2.3.3

Частота распределения атрофических изменений СОЖ
у пожарных и ЛПА (%)

	Обозначение	Пожарные (n = 37)	ЛПА (n = 94)
Средний возраст, лет		27,4 ± 0,3	56,0 ± 0,8
Атрофический гастрит антрального отдела желудка	A	8	1,1
Атрофический гастрит тела желудка	C	–	7,4
Атрофический гастрит тела желудка и антрального отдела	AC	–	7,4
Хеликобактерный неатрофический гастрит	S	27	71,3
Нехеликобактерный гастрит или нормальная слизистая	N	65	12,7

Как видно из представленных данных, среди молодых лиц, занимающихся опасными профессиями, в отличие от группы ЛПА с хроническим гастритом, высока доля более глубоких поражения СОЖ – атрофических изменений антрального отдела желудка. Поэтому при дальнейшем фиброгастроскопическом исследовании именно этому отделу слизистой должен быть уделено пристальное внимание.

В настоящее время эндоскопическое исследование с прицельной биопсией и последующей морфологической оценкой гастробиоптатов является единственным методом диагностики атрофических и диспластических изменений СОЖ. Однако, учитывая неравномерность и

очаговость распространения данных изменений в желудке, гистологическим методом зачастую бывает очень сложно оценить характер изменений СОЖ. В силу инвазивного характера исследования, необходимости высокого профессионализма морфолога, гистологический анализ гастробиоптата не может быть скрининговым методом диагностики и профилактики рака желудка.

Одним из путей решения проблемы ранней диагностики атрофических и пренеопластических изменений СОЖ, по мнению Международного согласительного комитета гастроэнтерологов и патологов (апрель 2004 г., Парма, Италия) может быть серологическая индикация биомаркеров поражения фундального и антрального отделов желудка, а затем проведение эндоскопического исследования.

Подобный алгоритм скрининга был предпринят нами при обследовании ликвидаторов. Всем пациентам выполнялась эзофагогастродуоденофиброскопия с одновременной биопсией СОЖ. Биопсийный материал СОЖ был использован для проведения гистологических исследований. В таблице 2.3.4 представлены результаты распределения выявленных нами дисрегенераторных изменений СОЖ у ликвидаторов.

Дисрегенераторные изменения (нарушения клеточного обновления) эпителия слизистой желудка проявляющиеся различными типами кишечной метаплазии и атрофии слизистой были диагностированы у 45 пациентов (что составляло 47,9 % от всех биопсий желудка); из них у 2 пациентов - язвенная болезнь (ЯБ), в 1 случае - рак желудка (перстневидноклеточный).

Таблица 2.3.4

Распределение дисрегенераторных изменений СОЖ
и их различных сочетаний среди обследованных ЛПА (n = 94)

Число пациентов (%)	Атрофия (тело и/или антрум)	Тонко кишечная метаплазия	Толсто кишечная метаплазия	Рак желудка	Язвенная болезнь желудка
n = 9 (9,5)	+				
n = 7 (7,4)	+	+			
n = 1 (1,1)	+		+		
n = 1 (1,1)	+	+	+		
n = 2 (2,1)		+	+		
n = 4 (4,3)			+		
n = 18 (19,1)		+			
n = 1 (1,1)		+		+	
n = 2 (2,1)					+
n = 49 (52,1)	Нет дисрегенераторных изменений СОЖ				

Следует отметить, что только у одного из всех пациентов с морфологически подтвержденными нарушениями клеточного обновления

СОЖ (n = 49) не были выявлены антитела к Нр. У этого пациента была выявлена кишечная метаплазия СОЖ, отмечены аномально низкий уровень G17 и высокие значения PGI, что являлось признаком гастрита нехеликобактерной природы. Для пациентов с ЯБ желудка характерным было превышение концентрации PGI более 260 мкг/л, а концентрация PGI более 120 мкг/л, по мнению ряда авторов, в 3 раза повышает риск ЯБ (Решетникова О.В. и др., 2007).

У пациента с впервые выявленным раком желудка концентрация PGI в сыворотке крови в 5 раз была ниже границы допустимой нормы и составляла 4,4 мкг/л.

Сравнение результатов использования тест-систем «GastroPanel» и гистологического исследования биоптатов СОЖ представлено в таблице 2.3.5.

Таблица 2.3.5

Результаты использования тест-систем «GastroPanel»
и гистологического исследования биоптатов СОЖ

«GastroPanel»	Гистологическое исследование биоптатов СОЖ			
	Атрофия	Дисрегенераторные изменения СОЖ	NA	Итого:
Атрофия	5	8	2	15
NA	13	17	49	79
Всего:	18	25	51	94

NA – неатрофический (поверхностный) гастрит или нормальная СОЖ.

Нами показано, что совпадение результатов анализов по выявлению атрофии СОЖ у обследованных пациентов наблюдалось у 5 человек, неатрофический (поверхностный) гастрит или нормальная СОЖ – у 49 человек. Атрофические изменения СОЖ по данным неинвазивного анализа выявляются в 16 % случаев (n = 15), а по результатам гистологического исследования – у 18 человек (19 %).

На примере обследования ликвидаторов нами показана высокая степень совпадений результатов серологического исследования функциональной активности СОЖ и гистологического диагноза.

Таким образом, неблагоприятные условия деятельности сотрудников ГПС, их воздействие на здоровье, определяют необходимость регулярного определения широкого спектра лабораторных показателей у пожарных с целью профилактики и ранних лечебных мероприятий, направленных на предупреждение заболеваний органов пищеварения и одним из таких методов может быть «GastroPanel».

Раздел III
ПРИЛОЖЕНИЕ

**3.1. КАРДИОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ БИОМАРКЕРЫ
КАК ПРЕДИКТОРЫ КОРОНАРНЫХ КАТАСТРОФ**

Сердечно-сосудистые заболевания остаются главной причиной высокой смертности населения. Несмотря на очевидные успехи в лечении острого инфаркта миокарда (ОИМ) с помощью тромболитической терапии и транслюминальной ангиопластики на их долю приходится более 50 % от общей смертности.

Из числа пациентов, обратившихся к врачу с загрудинной болью, госпитализируется приблизительно 60 %, при этом около 5 % случаев ОИМ оказывается не диагностированным.

Согласно рекомендациям ВОЗ, для точной диагностики ОИМ необходимо комплексное обследование, включающее оценку клинических симптомов, регистрацию ЭКГ и лабораторное определение кардиоспецифичных маркеров.

Вместе с тем, в 15 % случаев инфаркт миокарда (ИМ) протекает бессимптомно, а данные ЭКГ в 50 % случаев оказываются неубедительными. Поэтому одна из важнейших задач современной кардиологии заключается в поиске и обосновании эффективности факторов коронарного риска (КР), среди которых центральное место занимают лабораторные тесты.

Сегодня уже не вызывает сомнения необходимость применения кардиоспецифичных тропонинов (кТн) при стратификации риска у пациентов с нестабильной стенокардией (НС) и при диагностике инфаркта миокарда (ИМ). Маркеры воспаления – высокочувствительный С-реактивный белок (hsCRP), белок амилоида А (SAA), молекулы клеточной адгезии, А-протеин плазмы крови (РААР) и др. открывают новые направления в изучении патофизиологических механизмов развития коронарных катастроф и некоторые из них уже рекомендованы для клинического применения. Активно изучаются другие многообещающие маркеры, например, натрийуретический пептид типа В как предиктор летальности у пациентов с ИМ с подъемом сегмента ST и НС без подъема сегмента ST.

В настоящее время разработаны схемы определения маркёров коронарного риска, позволяющие усовершенствовать работу врача-кардиолога на трёх основных этапах ведения больного:

1. Постановка диагноза: тропонины; КФК-МВ; миоглобин.
2. Оценка риска: hsCRP; гомоцистеин; тропонины; миоглобин.
3. Выбор метода лечения: тропонины; миоглобин; КФК-МВ; hsCRP; гомоцистеин.

Первым этапом при оказании помощи больным с загрудинной болью является безошибочная сортировка больных и выбор соответствующей лечебной тактики в минимальные сроки.

Появление новых высокочувствительных и высокоспецифичных лабораторных диагностических методов, позволяющих выявлять небольшие области некроза клеток, по массе не превосходящие 1 г, способствовало пересмотру традиционного определения ИМ.

Рабочая группа Европейского общества кардиологов (ЕОК) и Американской коллегии кардиологов совместно с Национальной Академией клинической биохимии (2000) открыла эру кардиоспецифичных тропонинов для диагностики ИМ. После завершения многочисленных многоцентровых рандомизированных исследований (2002) было рекомендовано обязательное использование как минимум двух биохимических маркёров для диагностики ИМ: раннего (миоглобина), уровень которого достоверно повышается в первые часы после появления клинической симптоматики, и позднего – тропонина либо КФК-МВ, позднее (2007) – усовершенствованы схемы назначения кардиоспецифичных биомаркеров некроза миокарда.

В документе рабочей группы АКК (2007) некроз миокарда определяется повышением уровня тропонина выше 99-го перцентиля для нормальной популяции. Если к повышению уровня тропонина добавляются характерные изменения ЭКГ, то диагностируется ИМ. ИМ может быть установлен в отсутствие изменения уровня тропонина, если есть доказательства новой потери жизнеспособности миокарда.

Серия определений кардиоспецифичных маркеров в динамике в течение первых 6-9 часов после госпитализации обеспечивает наибольшую информативность обследования пациентов. Кроме того, важную информацию по тактике ведения больного могут дать результаты того во сколько раз уровень диагностических биомаркеров превышает норму.

Описание кардиологических маркеров в крови при инфаркте миокарда

	Миоглобин	Тропонин	КФК-МВ
Начало подъёма	0,5 -2,0 часа	3-6 ч	4-6ч
Пик подъёма	5 -12 ч	14-20 ч	9-30ч
Степень превышения верхнего предела нормы на вершине подъёма	5-20 раз	20-50 раз	5-20 раз
Время нормализации	18-30 часов	5-7 дней	24-48 часов

Миоглобин

Миоглобин появляется в крови раньше других маркеров ИМ. Чувствительность этого маркера очень высока, но его специфичность ниже по сравнению с КФК-МВ или тропонином.

Фракция МВ-креатинфосфокиназы

КФК-МВ при высокой диагностической чувствительности обладает значительно более высокой специфичностью, чем миоглобин.

До эры «тропонинов» определение активности, а затем и концентрации КФК-МВ оставалось «золотым стандартом» лабораторной диагностики ИМ. Однако КФК-МВ является менее чувствительной и менее специфичной, чем Тн. Низкие концентрации КФК-МВ обнаруживаются у здоровых людей и при повреждении скелетных мышц.

КФК-МВ имеет меньший период полужизни, чем Тн, в связи с чем позволяет обнаружить диагностическое новое повышение после первоначального пика. По этой причине определение КФК-МВ целесообразно проводить для выявления раннего расширения зоны инфаркта (повторного инфаркта) или для диагностики перипроцедурного ИМ. Рекомендованным методом анализа КФК-МВ является иммунохимическое определение концентрации фермента в крови.

Кардиоспецифичные тропонины

В настоящее время получены убедительные данные, что субъединицы Т и I тропонинового комплекса выделяются только из кардиоспецифичных генов, в связи с чем они получили название «кардиоспецифичные тропонины». ТнТ и ТнI и дают возможность высокоспецифичной поздней диагностики острого ИМ. Сегодня признано абсолютное преимущество кардиоспецифичных Тн относительно других маркеров повреждения сердечной мышцы при выявлении некроза клеток.

ТнТ и ТнI обычно не обнаруживаются в крови здоровых людей и в настоящее время являются маркерами выбора при диагностике ИМ. Уровень кТн повышается через 6-9 часов после болевого приступа и сохраняется высоким в течение нескольких дней, при этом специфичность диагностики составляет 96-100 %.

Пограничное значение для повышенных уровней кТн может устанавливаться несколько выше верхней границы медианы значений для нормальной здоровой популяции, определенной высококачественными аналитическими методами. В настоящее время установлена дискриминационная граница «CutOff» 0,1 нг/мл только для одного из кардиоспецифичных тропонинов ТнТ. Для количественного определения ТнТ в сыворотке и плазме крови предложен единственный иммунохимический метод анализа, в котором используются рекомбинантные антитела.

Для количественного определения ТнI разработано множество методов анализа, каждый из которых отличается чувствительностью и

специфичностью. Следовательно, врачам для принятия клинических решений необходимо уточнить в лаборатории референтные величины концентрации ТнІ для применяемых наборов реагентов. Обычно верхняя граница определения ТнІ находится в диапазоне значений 0,5 – 1,0 нг/мл. В редких случаях можно получить ложноотрицательные результаты из-за присутствия у пациентов блокирующих антител к части молекулы кТн.

Клиническое использование оценки уровня миокардиальных маркеров некроза

Исследования последних лет продемонстрировали, что диагностика ИМ с использованием кТн приводит к значительному увеличению случаев ИМ – до 41 % по сравнению с использованием только КФК-МВ. Определение кТн в диагностическом алгоритме приводит, и к более высокой, по сравнению с результатами определения КФК-МВ, выживаемости при ИМ. Также установлена положительная зависимость между степенью увеличения уровня Тн и риском смерти.

Последние исследования продемонстрировали, что совместное определение нескольких кардиоспецифичных маркеров обеспечивает наиболее точную оценку риска смертности в 30-дневный постинфарктный период. Показано, что пациенты, у которых уровень Тн не повышен, могут все же подвергаться существенному риску неблагоприятного исхода.

Тн идентифицирует некроз миокарда, но не дает информации о причинах его возникновения. Таких причин может быть несколько: кардиальные – тахикардия, травма сердца вследствие аварии или оперативного вмешательства, стенокардия напряжения, гипертрофия левого желудочка, миокардит и перикардит; внекардиальные – сепсис, ожоги, дыхательная недостаточность, острые неврологические заболевания, легочная эмболия, легочная гипертензия, отравления лекарственными веществами, химиотерапия и почечная недостаточность.

При всех вышеперечисленных ситуациях для диагностики некроза миокарда можно использовать один из кардиоспецифичных тропонинов ТнТ либо ТнІ. Исключение составляют пациенты с почечной дисфункцией. Для таких пациентов тропонином выбора является ТнТ. В ряде исследований было показано, что среди пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности и отсутствием клинических признаков острого некроза миокарда у 15-53 % повышен уровень ТнТ, но менее чем у 10 % повышен уровень ТнІ; при диализе в целом повышается уровень ТнТ и понижается – ТнІ. Причины подобного диссонанса изменения кардиомаркеров до настоящего момента не установлены, они могут быть связаны с агрессивными превентивными мерами при лечении, особенностями клиренса тропонинов у пациентов с почечной дисфункцией, биохимическими или метаболическими нарушениями. Для пациентов с почечной недостаточностью рекомендуется динамическое в

течение 24 ч определение кТн для исключения острого коронарного синдрома.

Рекомендуемый протокол исследования кардиоспецифичных маркеров в клинике

Диагностически значимая ЭКГ

Определение миоглобина, кТн (КФК-МВ)

- при поступлении в отделение
- через 2-4 ч

Отсутствие однозначно трактуемой ЭКГ

Определение миоглобина, кТн (КФК-МВ)

- при поступлении в отделение
- через 2-4 ч
- через 6-9 ч
- через 12-24 ч

Исследование кардиоспецифичных маркёров помогает клиницисту в решении следующих задач:

- оценке риска отдалённых событий;
- краткосрочном прогнозе большинства неблагоприятных кардиальных событий;
- срочном выборе тактики лечения.

Выделение группы «тропонин-положительных» пациентов важно для определения дальнейшей тактики их ведения, исключения риска неблагоприятных последствий острого коронарного синдрома.

Новым методом, позволяющим как идентифицировать, так и исключить ИМ в течение 6 ч после возникновения симптомов, является использование дельты (разницы) значений уровней маркеров в течение укороченного периода времени, например 2 ч. Результаты исследований с участием более 1000 пациентов показали, что использование 3-х кратного увеличения КФК-МВ или 2-х кратного увеличения ТнI и КФК-МВ обеспечивает 93 % чувствительность и 94 % специфичность в выявлении ИМ. Подобный подход интерпретации результатов определения кардиоспецифичных маркеров стал вполне оправданным, поскольку возросла воспроизводимость, чувствительность и специфичность результатов анализов. Такой подход позволяет раньше выявить пациентов группы более высокого риска с высокими значениями дельты для более агрессивной антиишемической терапии. Важно, чтобы значения прироста дельты измерялись с помощью одних и тех же реагентов и на одном анализаторе, так как незначительные расхождения калибровочных кривых для кардиомаркеров могут играть существенное значение при интерпретации результатов.

Другой подход в диагностике ИМ – мультимаркерный подход, при котором применяется динамическое измерение миоглобина (раннего

маркера), кТн и/или КФК-МВ (позднего маркера) исходно или через 90 мин. после поступления в отделение. В данном случае высокой прогностической ценностью обладает отрицательный результат, что в совокупности с клиническим заключением позволяет раньше исключить ИМ. Положительный мультимаркерный тест из-за низкой специфичности результатов определения миоглобина не является достаточным основанием для диагностики ИМ и нуждается в подтверждении в виде появляющихся позднее кТн и/или КФК-МВ.

Миоглобин содержится как в сердечных, так и в скелетных мышцах и не является кардиоспецифичным белком. Однако при инфаркте миокарда он выделяется в кровоток быстрее, чем кТн и КФК-МВ, и может быть обнаружен уже через 2 ч после начала некроза. Серийное определение миоглобина может иметь значение только в течение первых 24 ч после приступа, повышение значений миоглобина при диагностике ИМ должно быть дополнено определением кардиоспецифичных маркеров - кТн и/или КФК-МВ.

Известно, что кардиоспецифичные биомаркеры имеют различные временные интервалы выброса в периферическую кровь. Поэтому в оценке результатов измерений биомаркеров врачи обязаны учитывать время, прошедшее после возникновения симптомов у пациентов.

Чаще всего у пациентов с подозрением на острый коронарный синдром (ОКС) выполняется совместное определение кТн и КФК-МВ иммунохимическим методом. Результаты многочисленных исследований показали, что группу повышенного риска смерти или ИМ составляют «КФК-МВ и/или тропонин- положительные» пациенты, в то время как риск в случае изолированного повышения уровня КФК-МВ был ниже и незначительно отличался от риска при отрицательных КФК-МВ и тропонинах.

кТн служат маркерами выбора при диагностике ИМ. Они обладают самой высокой клинической чувствительностью и специфичностью, позволяющими выявлять небольшие участки некроза миокарда. Эти маленькие очаги инфаркта возникают вследствие выраженной ишемии и/или дистальной микроэмболии продуктами разрушения нестабильной тромбообразующей бляшки. Такие нестабильные бляшки являются причиной высокого риска ОКС. Таким образом, кТн выступают маркерами не только некроза кардиомиоцитов, но и активности тромбообразующей бляшки, т.е. они отражают прогноз и полезны при выборе тактики лечения пациентов. К преимуществам кТн относится то, что они являются мощным инструментом для стратификации риска, выявляют недавние ИМ (до 2 недель после возникновения и реперфузии), полезны как отдельный тест для эффективной диагностики ИМ без подъема сегмента ST (включая незначительное повреждение миокарда) при использовании серийных измерений. К недостаткам тропонинов относится их низкая

чувствительность на ранней стадии ИМ (менее 6 ч после возникновения симптомов) и необходимость в повторном измерении через 8-12 ч, если показатели отрицательные.

КФК-МВ является вторым по предпочтительности маркером и используется при диагностике расширения зоны ИМ и перипроцедурного ИМ. До появления тропонинов биохимическое определение КФК-МВ являлось диагностическим стандартом ИМ. В настоящее время скрининговое определение КФК-МВ не рекомендуется.

Другие маркеры и мультимаркерные подходы

В настоящее время широко изучаются системные маркеры воспаления и дисфункции эндотелия, связанные с механизмами развития ОКС. У пациентов с ИМ повышены уровни лейкоцитов, и это повышение имеет прогностическое значение.

Минувшее десятилетие предоставило огромное количество научных доказательств того, что «атеросклероз-это воспалительное заболевание». Так, в течение многих лет считалось, что холестерин и богатая жирами пища повреждают артерии, являясь причиной атеросклероза. В действительности, у половины пациентов с ОИМ имеются повышенные уровни холестерина; у другой половины - уровень холестерина нормальный или низкий.

На основании последних данных можно предположить, что важную роль в возникновении атеросклероза и тромбоза может играть воспаление. В этом контексте определение концентраций С-реактивного белка в интервале «субклинических» значений, т.е. до 10 мг/л, может быть использовано для прогнозирования отдаленных кардиальных событий, более полной оценки риска и выбора тактики лечения.

Доказано, что те концентрации СРБ (около 2,0-2,5 мг/л), которые раньше рассматривались в пределах нормальных значений, могут отражать риск первичного ИМ, ишемического инсульта и заболеваний периферических сосудов на период 6 лет и более, одинаково как у мужчин, так и у женщин, независимо от уровня липидов и наличия других факторов риска (Ridker P., 1997, 2000).

Большинство биохимических методик позволяют определять концентрацию СРБ в диапазоне от 3,0 до 20 мг/л. Этот интервал позволяет охватить колебания уровня СРБ у больных острыми воспалительными заболеваниями (Титов В.Н., 2004).

И только анализ высокочувствительного (ультрачувствительного) С-реактивного белка (hsCRB) имеет более низкие пределы чувствительности от 0,05 до 0,2 мг/л и позволяет использовать этот показатель как острофазный белок и как маркер развития инфаркта миокарда у больных с ОКС (Whicher J., 2001).

Повышенный уровень гомоцистеина является независимым фактором, связанным с заболеваниями сердечно-сосудистой системы, рестенозом артерий после проведённой ангиопластики, деменцией и болезнью Альцгеймера.

Как следует из представленной далее схемы, для разных патофизиологических звеньев, приводящих к острому коронарному синдрому, характерно появление различных лабораторных маркеров повреждения клеток миокарда, белков воспаления или дисфункции эндотелия.

Повышенные уровни hsCRB и гомоцистеина могут выявлять скрытые процессы задолго до их манифестации.

Прогрессирующий атеросклероз

(маркёры воспаления: hsCRB, гомоцистеин)

Повреждение эндотелия

(маркеры воспаления: hsCRB, гомоцистеин, антифосфолипидные антитела)

Интракоронарный тромбоз

(коагуляционные факторы и белки: растворимый фибрин и D-димер)

Ограничение потока крови

(перфузионная или функциональная визуализация, 2-D эхокардиография)

Миокардиальная ишемия

(ранние индикаторы ишемии, ЭКГ: снижение сегмента ST)

Миокардиальный некроз

(тропонин, КФК-МВ, миоглобин.

ЭКГ: повышение сегмента ST, новые Q-волны).

По мере прогрессирования кардиоваскулярной патологии маркёры неспецифического повреждения, такие как миоглобин, КФК-МВ, hsCRB и D-димер, отражают активацию воспалительного процесса. Специфичные маркёры некроза миокарда – тропонин выявляет миокардиальный инфаркт. Определение КФК-МВ и hsCRB у «тропонин-положительных» пациентов позволит своевременно определить расширение зоны инфаркта или повторный ИМ.

В настоящее время к числу современных факторов коронарного риска, которые можно определить высокочувствительными и высокоспецифичными методами иммунохимического анализа, относятся:

1. Тропоины – как прогностические факторы неблагоприятного развития нестабильной стенокардии (НС) .
2. С-реактивный белок – как прогностический маркер коронарных катастроф (внезапная смерть, ИМ) у больных НС, стабильной стенокардией, а также у здоровых лиц определенного возраста и пола (мужчины старше 45 лет, женщины в менопаузе).

3. Гомоцистеин – независимый фактор развития атеросклероза и тромбоза коронарных артерий.
4. Липопротеин (а) (ЛПА) – один из генетических детерминированных маркеров коронарного риска.

Рекомендуемая схема определения маркеров коронарного риска при различной кардиальной патологии:

При ОКС:

Тропонин, КФК-МВ, миоглобин
С-реактивный белок

При коронарной болезни сердца

(КБС) в популяции:

С-реактивный белок,
Гомоцистеин

Натрийуретические пептиды типа В.

Натрийуретический пептид типа В (В-НУП) – это кардиоспецифичный нейрогормон, который секретируется преимущественно клетками желудочков сердца. Основным стимулом для его выделения является повышение напряжения миокарда при увеличении давления в левом желудочке сердца. В-НУП образуется из про-NT-В-НУП при ферментативном расщеплении про-В-НУП. Диагностическая ценность определения В-НУП первоначально была показана для пациентов со стенокардией напряжения (СН). В ряде крупных исследований, охватывающих более 6000 человек, была показана прогностическая значимость определения В-НУП у пациентов со стабильной и нестабильной коронарной болезнью сердца. При ОКС повышение В-НУП является предиктором как непосредственной, так и отдаленной летальности у пациентов с ИМ с подъемом сегмента ST и нестабильной стенокардией (ИМ без подъема сегмента ST). Эта прогностическая ценность не зависела от предшествующего анамнеза СН и от клинических или лабораторных признаков дисфункции левого желудочка при поступлении или во время пребывания больного в стационаре.

Анализ современных данных литературы свидетельствует о прогрессе в области изучения лабораторных маркеров повреждения миокарда, риска сердечно-сосудистых заболеваний, дисфункции эндотелия, которые в дальнейшем могут стать полезными при проведении дифференциальной диагностики острой сердечно-сосудистой патологии, разработке индивидуальных схем терапии и оценке терапевтических эффектов.

3.2. ВЗАИМОСВЯЗЬ ИЗМЕНЕНИЯ МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ КОСТНОЙ ТКАНИ И АТЕРОКАЛЬЦИФИКАЦИИ СОСУДОВ

Сердечно-сосудистые заболевания, по данным ВОЗ занимают лидирующее место в структуре смертности среди взрослого населения, ишемическая болезнь сердца играет в этом ведущую роль. Очень часто развитию острой коронарной катастрофы предшествует воспаление атеросклеротической бляшки, атерокальцификация и местное формирование тромба. Помимо маркеров некроза миокарда, активно изучаются кардиомаркеры патофизиологических звеньев, связанных с ОКС.

В последнее время многие исследования показали, что остеопороз (ОП), кальцификация аорты и клапанов сердца и атеросклеротическое поражение сосудов – взаимосвязанные патологические процессы (Нак А. et al., 2000; Adler Y. et al., 2001). И хотя большинство работ направлено на установление простой прямой связи между снижением минеральной плотности костной ткани (МПКТ) и увеличением содержания кальция в коронарных артериях по данным электронно-лучевой компьютерной томографии, их результаты значительно варьируют. Вероятно, что связь между снижением МПКТ и атерокальцинозом сосудов определяется рядом патофизиологических механизмов и состояний, которые считаются ответственными за развитие ССЗ и патологии костной системы.

ОП и атеросклероз, последствиями которых являются соответственно переломы костей скелета и сердечно-сосудистые катастрофы, наиболее частые причины снижения качества жизни и летальности населения старше 50 лет (Нагорнев В.А и др., 2006).

ОП относится к дегенеративно-метаболическим заболеваниям скелета, частота которого увеличивается с возрастом. Сегодня среди лиц старше 50 лет хотя бы один остеопоротический перелом развивается у каждой третьей женщины и у каждого восьмого мужчины. Суммарный риск остеопоротических переломов в возрасте 50 лет составляет 39,7 % для женщин и 13,1 % для мужчин, больных ОП. Прирост заболеваемости ОП по регионам России за 2001-2002 гг. составил от 13,7 % в Центральном и до 55,1 % в Северо-Западном федеральном округе, в среднем заболеваемость ОП по стране за год увеличилась на 25 % (Остеопороз..., 2006). Низкая инсоляция, прогрессирующее старение населения – основные факторы риска, объясняющие прогрессивное увеличение ОП в Северо-Западном федеральном округе.

Фиброзные бляшки, основной морфологический субстрат атеросклероза, обнаруживаются примерно у каждого шестого

умершего во втором десятилетии жизни и в 95-99 % случаев смерти после 50 лет. Осложненные изменения и кальциноз обнаруживаются у мужчин обычно на третьем, а у женщин начиная с четвертого десятилетия жизни. В последующие десятилетия частота их выявления нарастает, но до 70 лет они значительно чаще обнаруживаются у мужчин, чем у женщин.

У женщин с остеопоротическими переломами отмечено нарастание частоты кальцификации аорты, выраженности которой коррелирует со снижением МПКТ (Нак А. et al., 2000). На основании эпидемиологического исследования 9700 женщин в возрасте старше 65 лет было обнаружено, что снижение МПКТ на одно стандартное отклонение от нормы увеличивает риск преждевременной смерти от ССЗ на 40 % в течение последующих двух лет (Browner W. et al., 1991). Выявлена связь между снижением МПКТ позвоночника и проксимального отдела бедренной кости и увеличением содержания кальция в коронарных артериях (Barengolts E. et al., 1998). По данным ряда авторов, адекватный прием кальция ассоциируется с достоверным снижением систолического артериального давления (АД).

Все эти данные позволяют предположить, что нарастание частоты ОП, эктопической кальцификации и атеросклероза в целом у одних и тех же пациентов невозможно объяснить только неспецифическими возрастными факторами, обуславливающими независимое накопление этих патологических состояний в пожилом возрасте, вероятно, они имеют общую патогенетическую основу (Parhami F. et al., 1997; 2000). Экспериментальные и клинические исследования показали, что нарушение кальциевого гомеостаза может быть одним из таких патогенетических механизмов.

Накопление внутриклеточного кальция, стимулирует клеточную пролиферацию, ускоряет развитие структурно-функциональных изменений резистивных сосудов. В последние несколько лет доказано, что атеросклеротическое поражение сосудов нередко осложняется кальцификацией атеросклеротической бляшки. А это увеличивает риск сосудистых осложнений (инфаркт миокарда, инсульт), ухудшает исходы сосудистых операций. Примечательно, что аортальные кальцификаты могут появляться благодаря тому, что основной элемент костной ткани фосфор образует комплексы с кальцием с образованием гидроксиапатита.

Нами обследовано 75 ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС с метаболическим синдромом. Проведение компьютерной томографии грудной клетки в режиме «кальций скоринг» позволило выявить неинвазивным путем пациентов высокого риска коронарных событий по кальцию в 38 % случаев (при этом у 5 % получены данные в пользу ранее перенесенного туберкулезного процесса; у 3 % обследованных выявлена

внутригрудинная лимфоаденопатия и у 3 % - нодулярное образование в легочной ткани.).

Имеющиеся данные позволяют предположить, что именно дефицит кальция является общим механизмом, определяющим прогрессирование не только остеопороза, но и внекостной кальцификации, в том числе в сосудистой стенке. Многолетними исследованиями доказана чрезвычайная важность кальция для обеспечения жизнедеятельности человека. Кальций, существующий в ионизированном и связанном с другими молекулами состоянии, принимает участие в регуляции важнейших физиологических процессов, составляющих основу функциональной активности большинства клеток организма. Эти процессы опосредуются селективными кальциевыми каналами, которые являются универсальными компонентами биомембран различных клеток. Кальций участвует в регуляции секреции ряда ключевых гормонов, ферментов и белков. Электрическая активность нервной ткани определяется балансом между уровнем внутриклеточного и внеклеточного кальция, а в ассоциации с тропонином кальций участвует в сокращении и расслаблении скелетной мускулатуры. Именно «скелетный» кальций определяет прочность костей скелета и служит основным резервуаром кальция в организме. В теле взрослого человека содержится в среднем примерно 1 кг (25 000 ммоль) кальция, из которого 99 % приходится на скелет. Преобладающим компонентом костной ткани является гидроксиапатит, основная формула которого – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Во внеклеточной жидкости содержится около 22,5 ммоль кальция, из них 9 ммоль приходится на плазму. Между костной тканью и внеклеточной жидкостью постоянно осуществляется обмен кальция. В течение суток в среднем обменивается 500 ммоль. Концентрация кальция в сыворотке крови человека удерживается на постоянном уровне (2,25–2,75 ммоль/л) и тщательно контролируется (дневные колебания составляют 3–4 %). Физиологической активностью обладает не весь кальций плазмы, а только его ионизированная форма (меньше 1 % общего содержания кальция в организме). Концентрация Ca^{2+} тщательно регулируется гормональными механизмами, направленными на сохранение его стабильных концентраций. Уровень ионизированного кальция и, следовательно, кальция сыворотки крови, зависит от взаимодействия процессов, всасывания кальция в кишечнике, фильтрации и реабсорбции в почках, депонирования и «вымывания» из костей и контролируется тремя кальцийрегулирующими гормонами – паратиреоидным, кальцитриолом и кальцитонином. Кроме кальцийрегулирующих гормонов, обновление костной ткани и минеральный обмен регулируются некоторыми системными гормонами (половыми, глюкокортикоидными, соматотропным), местными факторами, продуцируемыми самими костными клетками – простагландинами, остеокластактивирующим фактором, интерлейкинами и др.,

парактринными факторами – инсулиноподобным фактором роста (ИФР 1, 2), тромбоцитарным фактором роста и фактором роста фибробластов. Все факторы, регулирующие и контролирующие обмен кальция, участвуют в регуляции костного ремоделирования. Наиболее важен паратиреоидный гормон - ПТГ, который быстро (время действия – минуты) повышает уровень кальция, влияя на все три органа–мишени: увеличивает костную резорбцию, абсорбцию кальция в кишечнике и почечную канальцевую реабсорбцию кальция. Как и ПТГ, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (кальцитриол) регулирует перестройку костной ткани. Было установлено, что кальцитриол усиливает резорбцию костной ткани. В опытах на культурах клеток парашитовидных желез было показано, что $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ подавляет секрецию ПТГ. Кальцитриол это главный стимулятор всасывания кальция в кишечнике. Благодаря действию $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ концентрация Ca^{2+} во внеклеточной жидкости поддерживается на уровне, необходимом для минерализации органического матрикса костной ткани. Дефицит данного гормона обуславливает низкий уровень кальция в сыворотке крови, при этом нарушается образование аморфного фосфата кальция и кристаллов гидроксиапатита в органическом матриксе, однако в отличие от ПТГ кальцитриол действует более медленно (от нескольких часов до дней). Данный гормон является производным витамина D. Под названием витамин D объединяют несколько жирорастворимых веществ, в том числе - $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (1,25-гидроксивитамин D3), холекальциферол (витамин D3) и эргокальциферол (витамин D2).

Холекальциферол поступает с пищей и синтезируется в коже под влиянием ультрафиолета солнечных лучей из 7-дегидрохолестерола, а эргокальциферол поступает только с пищей. После гидроксирования в печени холекальциферол и эргокальциферол превращается в $25(\text{OH})\text{D}_3$ (кальцидиол) путем 25-гидроксирования. Образовавшийся в печени кальцидиол в комплексе с витамин-D-связывающим белком поступает в кровь и выводится почками. В клетках проксимальных извитых канальцев $25(\text{OH})\text{D}_3$ подвергается 1-гидроксированию или 24-гидроксированию. В результате образуются гормонально-активная форма витамина D - $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ либо гормонально-неактивная форма – $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Обе реакции катализируются митохондриальным ферментом почек 1 α -гидроксилазой.

$25(\text{OH})\text{D}_3$ – это основной циркулирующий метаболит холекальциферола и эргокальциферола. Поэтому по концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$ можно судить о содержании в организме всех форм витамина D. Гормональная активность $25(\text{OH})\text{D}_3$ в 10-100 раз ниже активности $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

Метаболизм любых производных витамина D и, в частности, холекальциферола и эргокальциферола оценивают по концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$ в сыворотке. При дефиците холекальциферола и

эргокальциферола концентрация $25(\text{OH})\text{D}_3$ бывает очень низкой, тогда как уровень $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ может быть нормальным, пониженным или даже повышенным.

По механизму действия кальцитриол напоминает стероидные гормоны. После синтеза в почках он транспортируется кровью в кишечник, где в клетках слизистой стимулирует синтез специфического гликопротеида (кальций-связывающего белка кальбиндина D). Кальбиндин D располагается на поверхности клеток слизистой и благодаря своей высокой способности связывать ионизированный кальций облегчает его транспорт в клетку. При непосредственном воздействии Са-АТФазы ионизированный кальций из клетки попадает в кровоток. Уровень $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в сыворотке повышен примерно у половины больных с первичными гиперпаратиреозами и коррелирует со степенью гиперкальциурии. Напротив, при гипопаратиреозе уровень $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ падает, что приводит к снижению всасывания кальция в кишечнике.

Влияние андрогенов на костный обмен не вполне ясен, хотя имеются сообщения, что гормоны стимулируют пролиферацию остеобластов и остеокластов. Это обстоятельство доказывается тем, что прямой эффект андрогенов на кость обусловлен наличием андрогенных рецепторов на остеобластах человека (Зилов А.И. и др., 2007). Недостаточность андрогенов является одной из основных причин потери костной массы у мужчин. У мужчин с ОП, обусловленным андрогенной недостаточностью, отмечается ухудшение состояния как трабекулярных, так и кортикальных костей: гистологическое исследование демонстрирует повышение костной резорбции и снижение минерализации.

При увеличении уровня кальция в крови быстро активизируется выделение клетками щитовидной железы кальцитонина – пептидного гормона, который уменьшает активность остеокластов, способствует поддержанию кальциевого гомеостаза, предотвращает дальнейшую резорбцию костной ткани. Ввиду того, что 99 % кальция находится в скелете, костная ткань является основным депо данного иона. В случае кальциевого дефицита (отрицательного кальциевого баланса) гомеостатические механизмы будут работать в ущерб кости (резорбируя ее) для нормализации уровня кальция в сыворотке крови. Изменение гомеостаза кальция наблюдается при наиболее распространенных формах инволюционного остеопороза.

Одной из ведущих причин сенильного ОП является нарушения функции желудочно-кишечного тракта (снижение секреции лактазы, малабсорбция и др.), которое приводит к значительному уменьшению поступления кальция с пищей. Уменьшение инсоляции приводит к снижению синтеза витамина D₃ в коже. Нарушение двигательной активности (вне зависимости от инсоляции) в результате расстройств координации, ухудшения нервно-мышечного проведения, снижение

физической активности (вследствие нарастания явлений недостаточности кровообращения), способствует снижению уровня витамина D в плазме крови, что может являться дополнительным фактором риска развития ИБС, наряду со снижением содержания в плазме крови липопротеидов высокой плотности. В то же время у пожилых людей вследствие снижения синтетической функции почек (дефицит 1α -гидроксилазы) уменьшается образование активной формы витамина D. В результате появляется тенденция к развитию гипокальциемии, которая наблюдается примерно у 70 % больных старшей возрастной группы. Как было показано, дефицит витамина D, как правило, ассоциируется со снижением сывороточной концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$, а не активного метаболита $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. В недавних исследованиях, выполненных в 11 странах Европы в рамках программы Euronut Seneca, было показано, что снижение уровня кальцидола (менее 30 ммоль/л) имеет место у 36 % мужчин и 47 % женщин пожилого возраста. В других исследованиях, включавших 2900 пациентов пожилого возраста (средний возраст 62 года) и 1560 пациентов более молодого возраста (средний возраст 50 лет), включенных в эпидемиологическое исследование SUVAMAX, дефицит витамина D, вызывающий гиперпродукцию ПТГ, был обнаружен соответственно в 57 % и 14 % случаев. Таким образом, создается ситуация, при которой поддержание нормального уровня кальция в плазме крови возможно только за счет его усиленной мобилизации из костной ткани, что обеспечивается повышенным уровнем паратгормона.

Изучение истинной распространенности гиповитаминоза D свидетельствует о том, что у мужчин старше 70 лет и женщин, особенно ведущих малоподвижный образ жизни, наблюдается прогрессирующее нарастание концентрации ПТГ, коррелирующее с увеличением уровня маркеров костной резорбции и риска переломов костей скелета. Например, в недавних исследованиях было показано, что увеличение уровня ПТГ имеет место более чем у 50 % пожилых инвалидов. Кроме того, отмечена связь между низким потреблением кальция, зависимым от возраста увеличением концентрации ПТГ, недостаточностью витамина D, причем ПТГ снижается при введении адекватного количества витамина D и кальция. Становится очевидным, что именно дефицит кальция/витамина D следует рассматривать, как весьма распространенное патологическое состояние, создающее предпосылки для развития широкого круга болезней, прежде всего сердечно-сосудистой системы, у лиц пожилого возраста. Даже при так называемом нормальном старении сердечно-сосудистая система претерпевает значительные изменения, которые заключаются в тенденции к повышению АД, в увеличении гипертрофии миокарда левого желудочка, уменьшении эластичности артерий. Все эти процессы объединяют хронически активированные нейрогормональные системы. Сегодня правильнее говорить не о чрезмерной активации, а о

дисбалансе разных по направленности своего действия факторов – вазоконстрикторных и антидиуретических, вызывающих пролиферацию клеток и ремоделирование органов. К ним относятся ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС) или симпато-адреналовая система (САС), а также эндотелин и вазопрессин. Противостоят им вазодилатирующие, диуретические и антипролиферативные факторы – оксид азота (NO), брадикинин, простаглицин и др. Эти возрастные изменения вносят свой вклад в патогенез заболеваний сердечно-сосудистой системы – способствуют их прогрессированию и стабилизации на более тяжелом уровне. Вследствие этого наиболее перспективным является поиск общих патофизиологических особенностей заболеваний пожилого возраста, прежде всего сердечно-сосудистых и остеопороза, в основе которых лежат нарушения обмена кальция с целью их коррекция на ранних стадиях для профилактики ССЗ и остеопороза. Патогенетические механизмы, участвующие в кальцификации сосудов, до конца не ясны. Предполагается участие, по крайней мере, нескольких медиаторов, регулирующих ремоделирование костной ткани, таких как ПТГ, витамин D, половые гормоны, кальцитонин, ангиотензинпревращающий фермент.

Увеличение ионов кальция в цитоплазме гладких миоцитов способствует также повышению миотической активности, что может способствовать формированию атеросклеротических бляшек в сосудах эластического и смешанного типа. При этом ПТГ обладает способностью ингибировать активность ферментов, регулирующих синтез липопротеидов, а активные метаболиты витамина D подавляют экспрессию рецепторов на миоцитах/макрофагах, участвующих в захвате липопротеидов низкой плотности. Примечательно, что у больных хронической почечной недостаточностью наблюдается ускоренное развитие атеросклеротического поражения сосудов, связанное с нарушением метаболизма кальция и гиперпродукцией ПТГ. Важнейшим фактором развития сердечно-сосудистых заболеваний является хроническая гиперактивация РААС основным продуктом, которой признан АПФ. Повышение активности АПФ, расположенного на поверхности эндотелиальных клеток, приводит к снижению синтеза NO и повышению тонуса гладкомышечных клеток. Как известно, NO и АПФ в сосудистой стенке оказывают прямо противоположные эффекты. Если NO представляет собой «биологический вазопротектор» (вазодилатирующее и антипролиферативное действие, подавление выработки молекул адгезии и самой адгезии клеток воспаления и тромбоцитов, блокада синтеза эндотелина), то АПФ делает все «с точностью наоборот». Последствия такого дисбаланса многогранны и включают активизацию процессов сосудистого ремоделирования, воспалительные реакции в сосудистой стенке, облегчение разрыва бляшки с последующим тромбозом и многое другое. Не так давно были обнаружены высокоспецифичные рецепторы к

АПФ на остеокластах, стимуляция которых при активации РААС приводит к ускоренной костной резорбции и включению кальцийзависимых вазоконстрикторных механизмов. Таким образом, в настоящее время есть основания признать существование общих медиаторов, участвующих в развитии сердечно-сосудистых заболеваний и остеопороза, вклад которых в формирование данной патологии можно считать частично доказанным или косвенно свидетельствующим о возможной их взаимосвязи.

Установлено, что костная и сосудистая ткани имеют ряд общих морфологических и молекулярных свойств.

Сосудистый кальцификат состоит из тех же компонентов, что и костная ткань, таких как соли кальция, фосфаты, связанные с гидроксиапатитом, остеопонтин, матриксный Gla-белок, коллаген I типа, остеонектин, остеокальцин (Katsuda S. et al., 1992; Giachelli C. et al., 1993; Shanahan C. et al., 1994). Наличие морфогенного белка-1a в стенке артерий свидетельствует о том, что взаимодействие эндотелия и мезенхимальных клеток, приводящее к сосудистой кальцификации, сходно с клеточными взаимодействиями, лежащими в основе остеогенеза эмбриональной костной ткани.

Предполагается определенное сходство между механизмами развития ОП и атеросклероза, поскольку оба процесса связаны с вовлечением моноцитарных клеток, которые при атеросклерозе дифференцируются в сосудистой стенке в макрофагоподобные «пенистые» клетки, а при ОП – в остеокласты. Кроме того, в стенке артерии, пораженной атеросклерозом, имеются предшественники остеобластов, которые обладают способностью синтезировать минеральные компоненты, характерные для костной ткани (Parhami F. et al., 1997).

Особенно большое значение может иметь тот факт, что окисленные ЛПНП, принимающие участие в развитии атеросклеротического поражения сосудов, стимулируют минерализацию, опосредованную как костными остеобластами (Witztum J. et al., 1991), так и остеобластоподобными клетками, изолированными из сосудистой стенки (Parhami F. et al., 1997). Кроме того, окисленные ЛПНП индуцируют экспрессию клетками сосудистого эндотелия моноцитарного хемотаксического фактора и макрофагального колониестимулирующего фактора, которые в свою очередь являются индукторами дифференцировки остеокластов. Таким образом, окисленные ЛПНП потенциально могут стимулировать опосредованную остеокластами резорбцию костной ткани и развитие остеопороза (Parhami F. et al., 2000). По данным других авторов (Watson K. et al., 1994), трансформирующий фактор роста (TGF- β) и витамин D, участвующие в ремоделировании костной ткани, обладают способностью стимулировать активность

остеобластоподобных клеток в сосудистой стенке. У больных с хронической почечной недостаточностью наблюдается ускоренное развитие ОП и атеросклеротического поражения сосудов. Полагают, что оба процесса связаны с нарушением метаболизма кальция и гиперфункцией паратгормона – ПТГ (Shane E. et al., 1997). ПТГ подавляет активность ферментов, регулирующих синтез липопротеинов, а активные метаболиты витамина D ингибируют экспрессию рецепторов на моноцитах/макрофагах, участвующих в захвате ЛПНП. Следует также подчеркнуть, что в развитии атеросклеротического поражения сосудов важную роль играет гиперпродукция провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ФНО- α (Libby P. et al., 1995; Woods A. et al., 2000), которые в свою очередь индуцируют резорбцию костной ткани. В исследованиях приведенных N.Viscay и соавт. (1998) показано, что у мышей, лишенных гена остеопротегерина (представитель суперсемейства рецепторов ФНО- α , ингибирующий активность лиганда остеопротегерина, индуцирующего костную резорбцию) развивается тяжелый ОП в сочетании с выраженной кальцификацией сосудов.

По данным других авторов, введение мышам ФНО- α вызывает эктопическую кальцификацию сосудистой стенки (Tintut Y. et al., 2000). Вероятно, существуют и другие механизмы, определяющие связь между ОП и эктопической кальцификацией сосудов. Например, имеются данные о том, что повышение уровня гомоцистеина, с одной стороны, является фактором риска атеросклероза (Welch G. et al., 1998), с другой – развитие гипергомоцистеинемии ассоциируется со снижением МПКТ (Browner W. et al., 1991).

Особенно большой интерес представляют результаты экспериментальных и клинических исследований, свидетельствующие о том, что гиполипидемические препараты – статины, не только снижают кардиоваскулярную летальность (Vaughan C. et al., 2000), но и обладают антиостеопоретической активностью у лабораторных животных (Mundy G. et al., 1999) и человека (Edwards C. et al., 2000). По данным экспериментальных исследований, назначение симвастатина крысам-самцам, подвергнутым овариэктомии, в дозе 1-10 мг/кг (доза сопоставима с используемой у человека) в течение 35 дней приводит к усилению формирования костной ткани, увеличению объема трабекулярных костей (позвоночник, бедренная кость) на 40-90 % (Mundy G. et al., 1999).

В исследованиях (Cui Q. Et al., 1997) было показано, что статины тормозят развитие стероидного ОП и остеонекроза у лабораторных животных. Лечение статинами ассоциируется с увеличением МПКТ у пациентов с сахарным диабетом II типа (Baue

D. et al., 1999). Были проведены исследования, касающиеся связи между приемом статинов и развитием переломов костей скелета (Chan K. et al., 2000; LaCroix A. et al., 2000; Meier C. et al., 2000; Wang P. et al., 2000; Reid I. et al., 2001; van Staa T. et al., 2001). По данным одних авторов (Chan K. et al., 2000; Meier C. et al., 2000; Wang P. et al., 2000), прием статинов ассоциируется с достоверным снижением риска переломов костей скелета, особенно наиболее опасных в отношении жизненного прогноза переломов проксимального отдела бедренной кости, в то время как другие авторы не обнаружили связи между приемом статинов и риском переломов (LaCroix A. et al., 2000; Reid I. et al., 2001; van Staa T. et al., 2001). Следует отметить, что все исследования были ретроспективными, что несколько снижает значимость полученных результатов. Не всегда учитывался вклад ожирения, которое часто ассоциируется с гиперхолестеринемией, служащей основанием для назначения статинов. В то же время избыточная масса тела является протективным фактором в отношении развития остеопоротических переломов. Неясна связь между длительностью лечения и дозой статинов и снижением частоты переломов костей скелета. Тем не менее, анализ материалов всех исследований позволяет сделать предварительный вывод, что на фоне лечения статинами все же наблюдается снижение риска переломов бедра (Hennessy S. et al., 2001). Важно, что фибраты и другие гиполипидемические препараты вообще не оказывают влияния на риск переломов костей скелета. Следовательно, снижение частоты переломов на фоне лечения статинами нельзя объяснить только гиполипидемическим действием этих препаратов. Очевидно, что вопрос о том, обладают ли статины клинически значимой антиостеопоротической активностью, требует дальнейшего изучения.

Следует особенно подчеркнуть, что молекулярные механизмы действия статинов и наиболее мощных антиостеопоротических препаратов – аминобисфосфонатов – имеют определенное сходство, поскольку обе группы препаратов влияют на разные этапы синтеза холестерина их ацетилкоэнзима А (Cummins S. et al., 2000). Статины блокируют ранний этап, связанный с превращением ГМГ-КоА-редуктазы в мевалонат, а бисфосфонаты – образование геранилгеранил- и фарнесилпирофосфата, что в свою очередь приводит к подавлению фенилирования транспептидаз и апоптозу остеокластов. Следует отметить, что сами бисфосфонаты обладают способностью снижать уровень ЛПНП и повышать уровень ЛПВП (Adami S. et al., 2000). Кроме того, статины стимулируют экспрессию костного морфогенного белка 2, являющегося стимулятором дифференцировки остеобластов (Sugiyama M. et al., 2000). Наконец, в

связи с важной ролью провоспалительных цитокинов в развитии остеопороза и атеросклероза определенное значение может иметь противовоспалительное действие статинов (Davinghон J. et al., 1999).

Таким образом, расшифровка механизмов, определяющих связь между развитием остеопороза и атеросклероза, имеет существенное значение для разработки новых подходов к изучению факторов риска атеросклеротического поражения сосудов, разработки новых методов профилактики и лечения этих заболеваний.

Исходя из представленных данных литературы видно, что многие вопросы, связанные с пониманием роли и механизмов взаимосвязи изменения минеральной плотности костной ткани и атерокальциноза сосудов при патологии сердечно-сосудистой системы человека еще не получили окончательного решения и требуют их дальнейшего изучения.

3.3. РОЛЬ ВОСПАЛЕНИЯ В АТЕРОГЕНЕЗЕ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Клинические проявления атеросклероза весьма разнообразны. Они могут быть представлены, в частности, ишемической болезнью сердца (ИБС). Связанная с атеросклерозом сердечно-сосудистая патология с середины XX века стала одной из ведущих причин заболеваемости и смертности населения и приобрела характер эпидемии. Каждый третий случай смерти происходит по причине сердечно-сосудистых заболеваний (WHO CVD-Risk management package., 2002). Каждый год в мире по оценкам экспертов ВОЗ 17 миллионов человек умирают от сердечно-сосудистых заболеваний (The world health report, 2002; WHO, 2005). Известно, что атеросклероз вносит существенный вклад в общий уровень заболеваемости и инвалидизации участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС (Алексанин С.С. и др., 2002; Дерюгин М.В. и др., 2005) в том числе. Подобная тенденция также характерна для населения индустриально-развитых стран. Прогнозы не утешительны: к 2010 г. смертность от сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений станет ведущей причиной смерти трудоспособного населения всех стран земного шара (The world health report, 2002; WHO, 2005). Затраты на лечение различных форм атеросклероза и его осложнений составляют значительную часть в структуре расходов на здравоохранение любой страны. Такие традиционные факторы риска, как артериальная гипертензия, курение, гиперлипидемия и сахарный диабет, не могут до конца объяснить высокую частоту распространенности данного заболевания. Поэтому в последние годы большое внимание уделяется поиску недостающих звеньев и новых факторов риска в патогенезе атеросклероза.

Исследования последних лет существенно расширили представления о механизмах развития атеросклероза. Активно изучается взаимосвязь атеросклероза и воспаления (Комаров А.Л. и др., 2007). Общность воспаления и атеросклероза вполне естественна, поскольку оба синдрома формируют одни и те же клетки рыхлой соединительной ткани (PCT). Современные исследования представляют этот процесс как системное хроническое воспалительное заболевание интимы артерий крупного и среднего калибра с вовлечением моноцитов/макрофагов, Т-лимфоцитов и гладкомышечных клеток (Моисеев В.С. и др., 2003; Ross R., 1999). Известно, что воспаление – это универсальная защитная компенсаторно-приспособительная реакция на повреждение. Когда внешние повреждающие факторы постепенно теряют первостепенное значение, нарушается баланс между воспалительной реакцией и последующими репаративными процессами. В этом случае

воспалительный процесс приобретает вялотекущий характер и становится не столько защитным механизмом, сколько одним из важнейших пусковых механизмов атерогенеза и острых сердечно-сосудистых осложнений. Современные исследования молекулярной биологии раскрыли механизмы гуморальных и клеточных реакций, которые формируют этапы воспаления, однако вопрос об этиологическом факторе, который инициирует атеросклероз, остается предметом дискуссий (Ridker P. et al., 1998).

В качестве индукторов воспаления рассматриваются различные факторы – окисленные липопротеины низкой плотности (ЛПНП), резистентность к инсулину, провоспалительные свойства эстрогенов, генетические факторы и др. (Титов В.Н., 2003; Карпов Ю.А. и др., 2003; Лутай М.И., 2004). Наличие воспалительных процессов в сосудистой стенке у больных с атеросклерозом и ишемической болезнью сердца (ИБС) подтверждает обнаружение в составе бляшек иммунных комплексов, компонентов комплемента, а также IgG (Климов А.Н., 1986).

Как при воспалении, так и при атеросклерозе, в ответ на секрецию клетками РСТ ИЛ-6, гепатоциты усиливают синтез и секрецию в кровь белков острой фазы, таких как С-реактивный белок (СРБ), сывороточный амилоид, липопротеин (а), фибриноген и др. Важная роль в модуляции воспалительных реакций при атеросклерозе и ИБС придается СРБ, рост концентрации которого взаимосвязан с риском дестабилизации заболевания и увеличении смертности (Насонов Е.Л., 1999; Mach F. Et al., 1997). В настоящее время уровень СРБ в сыворотке крови рассматривается в качестве интегрального показателя воспаления. Его концентрация в крови может увеличиваться в несколько десятков раз, с этого момента воспаление из локального превращается в генерализованный процесс. По данным В.Н. Титова (2003), СРБ обладает высокой тропностью к липидам и циркулирует в крови в ассоциации с различными классами липопротеидов. Было показано, что при воспалении СРБ может выступать в роли белка-вектора, который активирует воспаление путем «переключения» потока насыщенных жирных кислот в клетки рыхлой соединительной ткани. При атеросклерозе и ИБС значение СРБ заключается в следующем. СРБ является показателем активности атероматоза как симптома атеросклероза, блокады активного поглощения клетками эссенциальных полиеновых жирных кислот и насыщенных жирных кислот, формирования эндогенных патогенов, перекисления и сиилирования их нейтрофилами с образованием эндогенных патогенов, транцитоза эндогенных патогенов через эндотелий. Атеросклероз – эндогенное воспаление, основными патогенами которого являются эндогенные патогены. Присоединение к эндогенным патогенам интеркуррентной инфекции (токсины, вирусы, хламидии, микроорганизмы), будет активировать воспаление, способствуя

формированию атероматоза. Не исключено, что многогранность функционального действия СРБ в биологической реакции воспаления опосредована тем, что белок циркулирует в биологических жидкостях в разных изоформах с неустановленной особенностью их действия:

- циклической пентамерной, нативной форме, содержание которой в наибольшей степени возрастает при действии инфекционного агента;
- модифицированной мономерной;
- промежуточной по длине между пентамером и мономером.

При атероматозе установлена положительная зависимость между повышенным в сыворотке крови содержанием СРБ и перекисным окислением липидов (ПОЛ). Причиной этого может быть нарушение целостности клеток и тканей, в том числе, при действии микробных токсинов или экзогенных патогенов – микроорганизмов (Титов В.Н., 2004). При этом закономерно повышается содержание ТГ, снижается уровень общего холестерина и холестерина в ЛПВП (Culler P. et al., 2000). Уровень СРБ в сыворотке крови определяется при использовании высокочувствительного метода анализа в «субклиническом» интервале. При этом содержание hsСРБ выше 3.0 мг/мл расценивается как повышенное. Многократное измерение hsСРБ в течение года показало, что данный показатель является таким же стабильным, как и уровень холестерина в сыворотке крови (Ridker P. et al., 1997, 1998). В 2004 г. Danesh J. и соавт. опубликовали мета-анализ 22 проспективных исследований (7068 больных, наблюдавшихся в среднем 12 лет), подтвердивший прогностическую значимость СРБ в развитии ИБС. По данным мета-анализа, относительный риск развития коронарных событий увеличивается в 1,58 раз (95 % доверительный интервал – 1,48-1,68) по мере возрастания уровня СРБ.

Изменение уровня hsСРБ в сыворотке крови в зависимости от пола и возраста и наличия клинических симптомов атеросклероза показало, что повышение показателя происходит с возрастом, и у мужчин оно более значимо, чем у женщин (Ridker P. et al., 2002). Курящие мужчины имеют более высокий уровень СРБ; с содержанием СРБ положительно коррелируют систолическое артериальное давление, ТГ, индекс массы тела и фибриноген. По данным Комарова А.Л. и соавт. (2007), воспаление и окислительный стресс являются тестами атеросклероза. Как полагают авторы, hsСРБ отражает присутствие во внутренней среде организма эндогенных патогенов, по-видимому, таковыми являются модифицированные в ходе окислительного стресса липидтранспортные молекулы. hsСРБ является независимым предиктором возникновения ишемических событий в бассейнах различных сосудов, свидетельствует об активности воспалительной реакции и его определение в сыворотке крови как у здоровых, так и у пациентов с документированным

атеросклерозом, рекомендовано Европейским обществом кардиологов при оценке сердечно-сосудистого риска (European guidelines..., 2003)

Обнаружено, что ранние атеросклеротические поражения могут появляться уже с начала первой декады жизни, выражаясь в долипидных изменениях интимы, липидных пятнах и липидных полосках. Последующие стадии поражений включают развитие липосклероза, атером, фиброатером и фиброзных бляшек, вслед за которыми следует появление осложненных поражений, к которым относится кальцификация (атерокальциноз). Завершающая стадия атеросклероза – атерокальциноз – характеризуется обызвествлением фиброзных бляшек, т.е. отложением в них солей кальция. Бляшки приобретают каменистую плотность, стенки сосуда в месте периферии резко деформируются.

Длительное время сосудистая кальцификация считалась пассивным нерегулируемым дегенеративным процессом, происходящим в развитых атеросклеротических бляшках. Только в последние 10 лет появилась концепция регулируемой оссификации как механизма, лежащего в основе сосудистой кальцификации. В настоящее время показано, что сосудистая кальцификация включает высокоорганизованный регулируемый процесс биоминерализации, воспроизводящий эмбриональный остеогенез. Так, в кальцифицированных бляшках человека идентифицированы такие белки костного матрикса и позиционные регуляторы, как коллаген I типа, щелочная фосфатаза, сиалопротеин кости, остеоонектин, остеокальцин, BMP-2, остеоопонтин, остеопротегерин, Msx-2 и Cbfa-1.

Несмотря на определенные успехи, достигнутые в изучении механизмов сосудистой кальцификации, имеется недостаточно данных по выявлению специфических клинико-лабораторных маркеров атерокальциноза.

В последнее время все большее внимание исследователей привлекают неколлагеновые белки, цитокины и молекулы клеточной адгезии, вовлеченные в процессы остеогенеза, а также реконструкции костной ткани и дентина. Изучаются молекулярные механизмы действия данных белков, регуляция экспрессии их генов, распределение в различных типах тканей. Причиной такого пристального внимания является не только необходимость получения фундаментальных знаний о структурных основах их биологической активности, но и изучение роли этих белков в развитии целого ряда заболеваний человека, прежде всего, остеопороза и сосудистой кальцификации.

Остеопонтин (OPN) представляет собой кислый кальцийсвязывающий гликопротеин, преимущественно представленный в костном матриксе. Первоначально OPN был описан как основной неколлагеновый белок кости и был назван секреторным сиалопротеином I (Franzen A. et al., 1985). OPN состоит

из приблизительно 300 аминокислот. Белок высоко фосфорилирован и гликозилирован и имеет аргинин-глицин-аспарагиновая кислота (PRG)-связывающий домен, также как и два гепарин-связывающих сайта, один сайт расщепления тромбином и предполагаемый кальций-связывающий сайт (Weber G., 2001). Матриксные металлопротеиназы 3 и 7 также расщепляют OPN (Agnihotri R. Et al., 2001). Известно, что в природе за счет альтернативного сплайсинга генерируются три типа изоформ человеческого OPN, а именно: остеопонтин-а, остеопонтин-б, остеопонтин-с, их м.м. составляет от 44 до 66 кДа в зависимости от типа строения. Предполагают, что среди них только от OPN-а при секреции отщепляется сигнальный пептид с образованием зрелой формы OPN. Зрелый OPN расщепляется тромбином организма человека на два функциональных фрагмента – N-концевой и C-концевой. Зрелый OPN и его N-терминальный фрагмент имеют в своем составе PRG-последовательность, отвечающую за взаимодействие с рецепторами интегринов. C-концевой фрагмент взаимодействует с CD44. C-концевой фрагмент также содержит два гепарин-связывающих сайта (Weber G., 2001). Как расщепленный, так и нативный OPN может связывать интегрины, хотя некоторые клетки сильнее прикрепляются к расщепленному OPN, чем к нативному (Helluin O. Et al., 2000). Расщепление OPN тромбином демаскирует эпитопы, скрытые в нативном белке, а также в некоторых случаях делает более доступным RGD-мотив.

OPN имеет различные физиологические и патологически значимые функции. Растворимый OPN действует как цитокин, а иммобилизованный – функционирует как белок внеклеточного матрикса, обе формы OPN служат защитой от апоптоза и индуцируют выживание и пролиферацию клеток некоторых типов. Белок участвует в клеточной адгезии, связывании остеокластов на поверхности кости, миграции клеток в зону воспаления, онкогенезе и метастазирования, иммунном ответе и ингибировании опосредованного комплементом цитолиза (Standal T. Et al., 2004).

Первоначально OPN был описан как белок, ассоциированный с клеточной трансформацией. В процессе выделения OPN было обнаружено, что белок способен довольно прочно связываться с гидроксиапатитом (Franzen A. et al., 1985). Это может объясняться функциями OPN в минерализованной костной ткани. Следует подчеркнуть, что в настоящее время активно изучается ряд неколлагеновых белков костного матрикса: BSP (костный сиалопротеин), BAG-75 (кислый костный гликопротеин-75), DSP (сиалопротеин денты) и OPN, однако имеются лишь предположения о их возможной функциональной роли. Ни один из этих белков не является уникальным с точки зрения локализации в костной ткани.

Все они также присутствуют и в других типах тканей, при этом OPN несколько более ограничен в локализации по сравнению с остальными белками. Так высокий уровень мРНК OPN был выявлен в плазме, моче, молоке. Данный белок, как было показано рядом исследователей, выявляется в злокачественных тканях, при атеросклерозе и сосудистых патологиях, обусловленных диабетом (Standal T. Et al., 2004). OPN входит в состав почечных камней и, вероятно, влияет на их формирование (Nishio S. et al., 2000). Значительный уровень OPN был выявлен в тканях головного мозга (Nomura S. et al., 1988).

OPN включает в себя RGD-последовательность. Формы интегринов, распознающие RGD-последовательность, такие как $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_1$ и $\alpha_v\beta_5$, являются главными рецепторами OPN, которые опосредуют клеточную адгезию в гладкомышечных клетках сосудов. Далее $\alpha_v\beta_3$ рецептор участвует в миграции макрофагов, лимфоцитов, эндотелиальных и гладкомышечных клеток и таким образом участвуют в воспалительных реакциях. В ходе исследовательских работ было показано, что зрелый OPN, а также его N-концевые фрагменты могут связываться с различными видами интегриновых субъединиц. Связывание изолированных остеокластов с OPN, по-видимому, опосредуется $\alpha_v\beta_3$ -интегрином (Bautista D. et al., 1994). Данный тип интегринов является рецептором витронектина и локализуется на мембране изолированных остеокласт-подобных гигантских клетках человека. Возможно, что микроокружение на поверхности остеокластов может индуцировать специфическую конформацию $\alpha_v\beta_3$ -интегрина, которая позволяет ему связываться только с OPN (Cheng S. et al., 2001). В проксимальной области OPN за RGD-последовательностью находится сайт расщепления тромбином. Проведенные за последние несколько лет исследования показали, что происходящее *in vivo* расщепление OPN имеет существенное физиологическое значение (O Regan A. et al., 2000; Asou Y. et al., 2001; Denhardt D. et al., 2001). В частности, полученные данные позволили убедительно продемонстрировать, что в отличие от нативного OPN, его N-терминальный фрагмент, который также содержит RGD-домен, поддерживает адгезию линий клеток меланомы. Таким образом, предполагается, что адгезивные свойства OPN контролируются через расщепление тромбином. Было обнаружено, что OPN содержит скрытые сайты связывания, которые могут взаимодействовать с отличными от $\alpha_v\beta_3$ типами рецепторов, отвечающими за взаимодействие OPN с поверхностью разных типов клеток. Гиперэкспрессия OPN выявлена при раке легкого, молочной железы, простаты, яичников, желудка и раке пищевода (Standal T. et al., 2004). Связь OPN с раком отчасти можно объяснить его

антиапоптотическим и пролиферативным действием на опухолевые клетки.

С целью изучения роли OPN в процессах формирования кости, было проведено начальное исследование влияния на уровень накопления OPN мРНК в остеобластах из остеосаркомы различных факторов, влияющих на регуляцию роста и восстановление кости: $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, основного фактора роста фибробластов, $\text{TNF}\alpha$, IL-1 , липополисахаридов (Hijiya N. Et al., 1994). Показано, что $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в несколько раз повышает как уровень накопления мРНК, так и секрецию зрелого белка из клеток. Эти данные убедительно доказывают, что синтез OPN положительно регулируется кальцитриолом, фактором, индуцирующим мобилизацию кальция из кости (Heingard D. et al., 1990). Позднее было показано, что OPN влияет на костный гомеостаз, как подавляя минеральное отложение, так и стимулируя дифференцировку остеокластов и усиливая их активность.

Иммобилизованный OPN является одним из основных неколлагеновых белков кости. Его электроотрицательные остатки глутаминовой и аспарагиновой кислот, также как и предполагаемый Ca^{2+} -связывающий мотив, позволяют ему крепко связываться с гидроксиапатитом. OPN является мощным ингибитором процесса минерализации, так как связывание OPN с гидроксиапатитом подавляет рост кристаллов гидроксиапатита (Steiz S. et al., 2002; Rampena D. et al., 2004).

В минерализованных тканях OPN секретируют как остеобласты, так и остеокласты. OPN преимущественно локализуется в областях, где встречаются предсуществовавшая и только что сформированная кость (цементные линии, cement lines), и в костных поверхностях, взаимодействующих с клетками (laminae limitantes). Некоторые исследования позволяют предположить, что OPN в laminae limitantes опосредует прикрепление остеокластов к кости. Интегрин $\alpha_v\beta_3$ локализован в зоне уплотнения (sealing zone) остеокластов и взаимодействует с OPN в нижней части костного матрикса. OPN через $\alpha_v\beta_3$ и CD44 стимулирует миграцию остеокластов, а также усиливает экспрессию CD44 на остеокластах. Экспрессия CD44 необходима для подвижности остеокластов (Chellaiah M. et al., 2003). Остеокласты, лишённые OPN, не мигрируют и неспособны резорбировать кость.

В последние годы получены данные, свидетельствующие, что остеопороз, кальцификация аорты и клапанов сердца, а также атеросклеротическое поражение сосудов – взаимосвязанные патологические процессы. Остеопротегерин (OPG) претендует на роль долго разыскиваемого недостающего звена между остеопорозом и поражением артерий. OPG относится к белкам-цитокинам, он

близок по структуре к ФНО, является независимым фактором риска прогрессирования атеросклероза и развития ССЗ.

Таким образом, имеющиеся на сегодняшний день экспериментальные и клинические данные убедительно свидетельствуют о том, что эндогенное воспаление является ответом организма на прогрессирование ряда сердечно-сосудистых заболеваний, демонстрируя важную роль С-реактивного белка и белков-цитокинов в патогенезе атерогенного воспаления, а, следовательно, и их высокую прогностическую значимость в клинической практике. В то же время, очевидно, что механизмы формирования атерокальцификатов еще далеки от полного понимания и требуют дальнейшего изучения.

3.4. СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКИ

Ухудшение экологической обстановки, часто возникающие техногенные аварии и чрезвычайные ситуации, включая аварию на ЧАЭС, интенсивная профессиональная деятельность спасателей и пожарных обусловили значительный рост аллергических заболеваний среди сотрудников МЧС.

Известно, что частота аллергических заболеваний (АЗ) среди представителей взрослого и детского населения увеличивается из года в год. Помимо экологического неблагополучия, к причинам широкого распространения АЗ среди населения индустриально развитых стран можно отнести:

- частые инфекции (вирусные, паразитарные, грибковые), а также дисбактериозы;
- несбалансированное питание и рост потребления продуктов «новых технологий» (в том числе, генетически модифицированных продуктов, консервантов, красителей и др.);
- необоснованный прием лекарств и злоупотребление биологически-активными пищевыми добавками.

АЗ являются важной медико-социальной проблемой современности, значение которой будет возрастать в последующие годы. Как правило, дебют заболевания отмечается уже в детском возрасте, и каждому врачу в повседневной практике приходится неоднократно сталкиваться с различными проявлениями аллергических заболеваний. В таблице 3.4.1 представлен краткий обзор статистики заболеваемости АЗ в Западной Европе и на территории бывшего СССР.

Таблица 3.4.1

Заболеваемость аллергическими заболеваниями
(Р. М. Хаитов, И. С. Гущин, 1998)

В Западной Европе	25-30 %
В отдельных экологически неблагоприятных регионах	50-60 %
В промышленных районах России	15-35 %
В крупных промышленных городах заболеваемость среди детей	10-40 %
Поллиноз: аллергический ринит, конъюнктивит	20 %

Согласно официальной статистике, аллергическими заболеваниями в нашей стране страдают от 10 до 15 % населения. Однако эти данные не соответствуют истинным величинам заболеваемости и распространенности АЗ среди населения России, т.к. эпидемиологическому учету подлежат, в основном, среднетяжелые и тяжелые формы заболеваний.

Таблица 3.4.2

Нозологические формы, преобладающие в структуре аллергических заболеваний (Л.В.Лусс и др.)

Заболевание	Распространённость в структуре аллергических заболеваний
Бронхиальная астма	23 - 60 %
Поллиноз: аллергический ринит, аллергический конъюнктивит	10 - 70 %
Аллергодерматозы (атопический дерматит, острая крапивница и др.)	7 - 73 %
Лекарственная и пищевая аллергия	10 - 30 %
Инсектная аллергия	0,5 - 3,5 %
Анафилактический шок	0,1 - 1,5 %
Прочие аллергические заболевания	3,5 - 5,2 %

Как видно из приведенной выше таблицы 3.4.2, основное внимание уделяется выявлению и поиску подходов к лечению тяжелых, в том числе угрожающих жизни форм заболеваний – бронхиальной астмы, анафилактического шока. Данные по таким распространенным аллергопатологиям как поллиноз и аллергодерматозы гораздо более расплывчаты, и это неудивительно: по данным популяционных исследований, 70-75 % подобных АЗ протекают в легкой форме, и пациенты редко обращаются к врачу.

Подобная картина свидетельствует о том, что в настоящее время имеет место гиподиагностика аллергических заболеваний, в результате которой больные с легкими формами заболеваний выпадают из-под врачебного контроля, не получают адекватной терапии и составляют группу риска развития тяжелых форм АЗ.

Решение этой проблемы в значительной степени зависит от уровня профессиональной подготовки по аллергологии и иммунологии не только иммунологов и аллергологов, но и врачей общей практики и клинической лабораторной диагностики.

Эпидемиология аллергических заболеваний

По данным эпидемиологических исследований, проведенных в разных странах, распространенность аллергических заболеваний варьирует в широких пределах, и зависит от географической зоны, состояния промышленности и сельского хозяйства в регионе, чистоты окружающей среды и целого ряда других факторов, оказывающих менее выраженное, но, тем не менее, существенное влияние.

По мнению большинства отечественных и зарубежных авторов, фактором, который наиболее часто провоцирует рост аллергических заболеваний, является загрязнение окружающей среды веществами, обладающими высокой сенсibiliзирующей активностью - промышленными аллергенами, к которым в первую очередь относятся продукты химического производства и нефтеперерабатывающей промышленности, а также отходы и побочные продукты пищевой промышленности и сельского хозяйства. К сожалению, содержание в атмосфере большинства таких химических веществ не контролируется.

В то же время установлено, что длительное воздействие малых доз химических веществ способно вызывать снижение барьерных функций слизистых оболочек человека, а затем может привести к развитию сенсibilизации химическими агентами, которые сами по себе не относятся к сенсibilизаторам, но обладают способностью связываться с белком и образовывать структуры со свойствами антигена (аллергена).

Не менее важную роль в формировании аллергических заболеваний имеет так называемая «малая экология». Это понятие включает социально-экономические условия проживания, состояние жилища, наличие фактора курения.

Эпидемиологические исследования последних лет показывают, что каждый четвертый человек в той или иной степени имеет симптомы АЗ при контакте с бытовой химией, животными, при употреблении пищевых продуктов, лекарственных препаратов и т. д.

Следует помнить, что в настоящее время аллергенная нагрузка одного типа практически не встречается: в формировании аллергических заболеваний действие природных факторов нередко дополняется химическими, биологическими, промышленными воздействиями, и именно сочетание перечисленных факторов и их синергизм и определяет характер, структуру, частоту и тяжесть развивающихся АЗ.

Таким образом, факторы, которые представляют опасность развития АЗ для человека, можно разделить на две группы:

Природные факторы:

- неинфекционного происхождения:
 - бытовые (домашняя пыль),
 - эпидермальные (шерсть, пух, волосы, перхоть животных),
 - пылевые и т. д.
- инфекционного происхождения:
 - бактериальные, вирусные, грибковые антигены
 - пищевые факторы животного и растительного происхождения
 - химические факторы
 - извержение вулканов,
 - грязевые и водные источники
 - физические - инсоляция и др.

Антропогенные факторы:

- промышленные аллергены
- лекарственные препараты
- аллергены современного жилища

Диагностика аллергических заболеваний базируется на традиционных методологических принципах. Но для эффективного лечения важно не только диагностировать сам факт наличия АЗ: необходимо выявить индивидуальные источники и проследить патогенез заболевания для каждого конкретного больного. Поэтому и врачу, назначающему диагностические процедуры, и врачу, проводящему их, необходимо хорошо представлять себе патогенетические механизмы развития аллергических заболеваний.

ПАТОГЕНЕЗ РАЗВИТИЯ АЗ

Основные понятия

Первоначально аллергией или гиперчувствительностью называли измененную форму реакции организма при повторном контакте с аллергеном.

Гиперчувствительность - это патологическая чрезмерно сильная иммунная реакция на чужеродный агент, которая приводит к повреждению тканей организма.

Аллергия (*allos* – иной *ergos* – действие) - это неадекватный по силе иммунный ответ на аллерген, т.е. гиперчувствительность к данному аллергену.

Аллерген - это антиген или группа внешних антигенов, способных вызывать описанные выше изменения иммунного ответа организма и опосредованные этими изменениями другие типы реакций при повторном контакте.

Организм, ткани и клетки которого способны отвечать на воздействие того или иного вещества-аллергена при повторном контакте реакцией гиперчувствительности, называют *сенсibilизированным*.

Аллергическая реакция – это иммунный ответ на аллерген, в результате которого образуются аллергенспецифические антитела или аллергенспецифические Т-лимфоциты.

В современном понимании аллергия включает в себя все формы иммунологически опосредованных *реакций гиперчувствительности* (РГЧ).

Механизм развития РГЧ

Этапы аллергической реакции

Выделяют три главные стадии развития аллергических реакций, которые являются общими для всех типов гиперчувствительности.

- Иммунологическая (период сенсibilизации)
- Патохимическая (период высвобождения медиаторов)
- Патофизиологическая (период клинических проявлений)

В состав основных, распознающих антиген, единиц иммунной системы входят лимфоциты, секретируемые ими иммуноглобулины, и связанные с этим процессом продукты жизнедеятельности Т-клеток.

Аллергические реакции могут быть связаны с двумя видами антител – иммуноглобулинами класса G (IgG) или E (IgE).

Кроме того, в процессе РГЧ активно участвуют циркулирующие лейкоциты, а также клетки, фиксированные в тканях: макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, тучные клетки, тромбоциты и лимфоциты.

Безвредные в норме антигены внешней среды проникают через слизистые оболочки и поглощаются местными антиген-презентирующими клетками (АПК), которые осуществляют их процессинг и представление Тх-клеткам. Дальнейшая последовательность развития РГЧ обусловлена взаимодействием между клетками различных типов.

Образование той или иной субпопуляции Т-клеток из Тх₀-клеток и, соответственно, IgE- или IgG-обусловленная РГЧ зависит от участия в этом процессе тех или иных цитокинов.

Так, продукция ИЛ-4 и ИЛ-13 способствует образованию Тх₂-клеток и переключению В-клеток на синтез IgE. Цитокин ИЛ-10, который продуцируется Тх₂-клетками, ингибирует Тх₁-ответ, влияя на АПК. Таким образом, именно Тх₂-ответ обуславливает продукцию IgE в ответ на аллергены.

Напротив, Тх₁-ответу на такие антигены, как столбнячный анатоксин, компоненты неполноценного катаболизма пищевых продуктов и др., способствует продукция ИФ-γ, ИЛ-2 и ИЛ-12, которые одновременно ингибируют образование Тх₂-клеток. Тх₁-ответ стимулирует продукцию IgG и формирование Т-клеточного иммунного ответа.

Антитела

Первый вид антител – иммуноглобулины класса E (IgE). Свободные антитела IgE циркулируют в кровотоке и внесосудистых тканях и имеют период полужизни всего 2,5 дня. Скорость синтеза иммуноглобулина E – 0,016 мг/кг в день. В норме относительное содержание IgE в крови незначительно, максимальные концентрации наблюдаются в подростковом возрасте (до 87 МЕ/л в 13-15 лет), и снижается у взрослых и пожилых людей в связи с общей десенсибилизацией организма. Единицы измерения концентрации IgE являются условными: согласно ВОЗ 1 МЕ/мл IgE соответствует весовой концентрации 2,4 нг/л (МЕ – международная единица, в англоязычной литературе обозначается как IU/mL – Интернациональная единица в соответствии с требованиями Second Reference Preparation of IgE ВОЗ).

В крови больных АЗ они чаще всего существуют в виде мономеров в составе комплексов АнтиIgE-IgG:IgE. Но наиболее важной особенностью иммуноглобулина E является способность прочно фиксироваться Fc-фрагментом к рецепторам тканевых базофилов, базофилов крови и эозинофилов. Фиксированные на поверхности клеток IgE-антитела удаляются из ткани очень медленно (полупериод жизни IgE, фиксированных на мембранах клеток, достигает четырех недель), что и обеспечивает длительную сенсibilизацию этих клеток. При повторном контакте с аллергеном происходит связывание би- или поливалентного аллергена как минимум с двумя соседними молекулами IgE, фиксированными на тучной клетке, что вызывает дегрануляцию последней и выделение из гранул гистамина и других медиаторов.

На настоящий момент зарегистрировано несколько изоформ IgE - по разным источникам их число колеблется от 2 до 4, причем у каждой изоформы подразумеваются различные функции. На настоящий момент выявлено, как минимум, два функционально отличных подкласса IgE: так, IgE выделенный от лиц с atopическими заболеваниями, в отличие от IgE, определяемого у практически здоровых людей, способен повышать чувствительность базофилов человека к действию эндогенных гистамин-высвобождающих факторов. Возможно, этим и объясняется образование новых форм биологически активных молекул белков, входящих в структуру молекулы IgE в условиях патологии, что, в свою очередь, и обеспечивает протекание биохимических процессов на ином уровне, чем в нормальных физиологических условиях.

Сенсибилизирующая активность сыворотки крови человека связана не только с IgE, но и с IgG антителами, однако вклад в развитие аллергии IgG-антител значительно меньше, чем роль IgE. *IgG антитела* значительно слабее фиксируются на клетках-мишенях, и потому быстрее удаляются с их поверхностей, поэтому говорить об истинной сенсибилизации в этих условиях случае достаточно сложно. В данном случае, скорее, имеет место прямое образование иммунных комплексов аллерген-IgG-антитела. Этот вид иммунного ответа более характерен для пищевой и некоторых видов лекарственной аллергии.

В настоящее время разработаны *in vitro* тесты по определению концентрации специфических IgG к различным пищевым продуктам, однако диагностическая значимость их количественного определения в сыворотке крови не однозначна. Кроме того, такой тип аллергии не выявляется *in vivo* методами аллергологического тестирования (кожными пробами) и не поддается лечению противоаллергическими препаратами. Исключение аллергена из списка употребляемых пациентом продуктов также является решением проблемы отнюдь не во всех случаях, в первую очередь, потому, что подобный тип аллергии, развивающийся по IgG-механизму, чаще всего сопровождается какую-либо другую патологию обмена веществ (ферментопатии наследственного характера, дисбиозы, и др.), на самом деле и являющуюся основной определяющей причиной заболевания.

Рассмотрим механизмы развития IgE- и IgG-обусловленной аллергии подробнее.

IgE-опосредованные реакции гиперчувствительности

<i>Эффекторные</i>	<i>Тучные клетки</i>	<i>Эозинофилы</i>
<i>клетки:</i>	-	<i>Макрофаги</i>
	<i>Базофилы</i> -	<i>Нейтрофилы</i>
		<i>Лимфоциты</i>

Продукция В-клетками IgE зависит от презентации аллергена АПК и кооперации между В- и Тх₂-клетками. При развитии иммунного ответа по I типу (на рисунке ему соответствует верхняя ветвь развития РГЧ), продуцируемые В-лимфоцитами IgE сначала сенсибилизируют местные тучные клетки, а после проникновения в кровь связываются посредством Fc-фрагментов со специфическими рецепторами FcεR циркулирующих базофилов и тканевых тучных клеток всего организма. Не связанный свободный IgE, циркулирующий в кровотоке, быстро разрушается сывороточными протеазами.

На поверхности тучных клеток и базофилов имеются два типа рецепторов для связывания IgE: высокоаффинный FcεRI и низкоаффинный FcεRII.

Важное свойство IgE – высокая аффинность связывания с FcεRI, благодаря чему тучные клетки и могут оставаться сенсibilизированными в течение многих месяцев.

В результате активации IgE тучных клеток и базофилов выделяется ряд цитокинов. При этом ИЛ-3 и ИЛ-4 могут оказывать аутокринный эффект на сами тучные клетки и базофилы, а другие цитокины (ИЛ-5, ИЛ-6 и опять же ИЛ-4) способствуют продукции IgE В-клетками.

При повторной встрече аллергена с сенсibilизированной тучной клеткой или базофилом, он перекрестно связывается с фиксированными на поверхности эффекторных клеток IgE, что приводит к повышению внутриклеточной концентрации Ca^{2+} . В результате клетка выделяет медиаторы аллергической реакции: ранее синтезированные – гистамин, протеазы; вновь синтезированные – лейкотриены, простагландины, а так же цитокины, усиливающие воспалительную реакцию и IgE-ответ.

IgG-опосредованные реакции гиперчувствительности

Дегрануляция тучных клеток и базофилов может индуцироваться не только в ответ на IgE и антиген, но и на другие стимулы, например - анафилотоксины C3a и C5a, которые продуцируются в ходе альтернативного (участвуют IgG₄) или классического (участвуют IgG₁, IgG₂, IgG₃) пути активации комплемента.

IgG-зависимые реакции повреждения клеток-мишеней при контакте с аллергеном (гиперчувствительность II типа, гиперчувствительность III типа, см. приведенную в следующей главе классификацию) обусловлены последовательностью взаимодействий антител либо иммунных комплексов с комплементом и различными эффекторными клетками. При этом реакция протекает либо по альтернативному, либо по классическому пути активации комплемента.

Эффекторные клетки:

Киллерные клетки

Тромбоциты

Нейтрофилы

Лимфоциты

Эозинофилы

Макрофаги/моноциты

В качестве антигена обычно выступают лекарства, фрагменты неполноценного катаболизма пищевых продуктов, консерванты и др. Эти антигены (например, большинство лекарственных препаратов) могут активировать эффекторные клетки как при участии определенного

субкласса IgG и продуктов распада комплемента – C3a и C5, так и самостоятельно, действуя по Ig-независимым механизмам.

На эффекторных клетках имеются три типа рецепторов FcγR: FcγRI (CD₆₄) FcγRII (CD₃₂) FcγRIII (CD₁₆), посредством которых они взаимодействуют с Fc-фрагментами антител класса IgG.

Эффекторные функции антител

Изотип

иммуноглобулинов:

IgG ₁	Классический путь активации комплемента
IgG ₂	Классический путь активации комплемента
IgG ₃	Менее эффективная активация комплемента по классическому пути
IgG ₄	Классическому пути
IgE	Альтернативный путь активации комплемента
	Не активируют комплемент

Высокой аффинностью для мономерного IgG характеризуется FcγRI. Низкоаффинный FcγRIII в основном связывает иммунные комплексы. На эффекторных клетках также присутствуют рецепторы CR₁ для фиксации комплемента. Все эти рецепторы опосредуют лизис клетки.

Возможны следующие механизмы повреждения клеток-мишеней, опосредованные IgG.:

- Первый – антиген адсорбируется на поверхности клеточных мембран. Образованные к этому антигену антитела (субклассы IgG₁, IgG₂, IgG₃), циркулирующие в крови, связываются с клеткой и обуславливают ее комплемент-опосредованный лизис по классическому пути.
- Второй – иммунные комплексы антитело-антиген-антитело, адсорбируются на эффекторных клетках. Они взаимодействуют с системой комплемента, способствуя образованию анафилотоксинов C3a и C5a. Повреждение обусловлено комплемент-опосредованным лизисом клеток.

Эозинофильный катионный белок (ЭКБ)

Эозинофильному катионному белку принадлежит особая роль в патогенезе РГЧ, поэтому описанию его структуры и функциональной активности посвящена отдельная глава.

Зрелые эозинофилы содержат четыре главных белковых компонента. К ним относятся: главный белок со свойствами основания (*major basic protein* - MBP), катионный белок эозинофилов (*eosinophil cationic protein* - ECP), пероксидаза эозинофилов, и нейротоксин эозинофильного происхождения (*eosinophil derived neurotoxin* - EDN) или белок X

эозинофилов. На их долю приходится 90 % содержимого всех белковых гранул эозинофилов.

Эозинофильный катионный белок (ЭКБ) – положительно заряженный протеин, обладающий основными свойствами и входящий в состав цитоплазматических гранул эозинофилов. Белок характеризуется высоким содержанием аргинина, имеет уникальную последовательность аминокислот, что позволяет его идентифицировать с помощью моноклональных антител. Молекулярная масса ЭКБ составляет 18-21 кДа. ЭКБ имеет 70 % гомологии первичной структуры с белком X, что находит отражение в сходстве их некоторых функциональных свойств.

ЭКБ попадает в кровоток при дегрануляции эозинофилов и отражает степень выраженности этого процесса, возрастая в крови больных аллергическими заболеваниями (бронхиальная астма, атопический дерматит, популезная эритема), а также при гельминтозах. Этот, строго специфичный для эозинофилов, белок обладает цитотоксическим действием по отношению к паразитам (гельминты, шистосомы), а также секретируется сенсibilизированными эозинофилами при аллергических и воспалительных реакциях. Во всех перечисленных случаях выброс ЭКБ стимулирует секрецию слизи в бронхах, тормозит пролиферацию Т-лимфоцитов, связывает и нейтрализует гепарин.

Активация секреторной деятельности эозинофилов может достигаться разнообразными стимулами. Секрецию гранулярных белков вызывают агенты, действующие через рецепторный механизм (рецепторы для IgG, IgA, IgE и C3b). Наиболее активны в этом отношении стимулы, действующие через рецепторы для C3b и секреторного IgA.

Итак, как мы видим, реакции гиперчувствительности различаются по патогенезу, механизму взаимодействия основных эффекторов и медиаторов иммунного ответа, и, как следствие – по клиническим проявлениям и способам дифференциальной диагностики.

Классификация реакций гиперчувствительности

В зависимости от времени возникновения клинических проявлений все аллергические реакции гиперчувствительности можно условно разделить на три типа это - *немедленные, отсроченные и замедленные* реакции гиперчувствительности.

В 1963 г. Кумбсом и Джеллом (Coombs, Gell) были выделены четыре типа РГЧ, подробно описанные. Каждый их четырех описанных типов имеет собственный патогенетический механизм с участием разных классов антител и/или их сочетаний, что приводит к значимым различиям как в клинических проявлениях, так и в выборе необходимых лабораторных признаков. Так, первые три типа реакций гиперчувствительности опосредованы антителами, а четвертый – преимущественно Т-клетками и макрофагами.

Следует иметь в виду, что и в клинических проявлениях, и в механизмах развития отдельных нозологических форм аллергии принимает участие, как правило, не один, а несколько типов гиперчувствительности. Например, в развитии анафилактических реакций, помимо ведущего 1-го типа гиперчувствительности, может участвовать и 2-й тип РГЧ, а в развитии лекарственной аллергии принимают участие все четыре типа гиперчувствительности.

В связи с этим, в 2001 г. проблемной комиссией ЕААСИ была предложена следующая классификация заболеваний (*Allergy, 2001; 56; 813-824*):

Гиперчувствительность - реакция организма, вызванная объективно повторяющимися симптомами и признаками, которые проявляются после воздействия определенных стимулирующих факторов в дозах, к которым здоровые люди толерантны

Аллергия - гиперчувствительная реакция организма, опосредованная иммунными механизмами

Атопия - является персональной или семейной предрасположенностью к выработке иммуноглобулинов класса Е даже к малым дозам аллергенов. В этом случае в роли аллергенов чаще всего выступают протеины, а клиническими проявлениями процесса являются такие заболевания как астма, риноконъюнктивит, экзема (дерматит).

Таким образом, согласно пересмотренной классификации понятие гиперчувствительность объединяет I-IV тип РГЧ, аллергия – I-III тип РГЧ, а атопия – только I тип РГЧ.

Аллергические реакции немедленного типа

Аллергические реакции немедленного типа являются результатом *in vivo* взаимодействия антигена с фиксированными на клетках антителами. *Возникновение аллергической реакции немедленного типа возможно только после предварительного контакта организма с антигеном.* Первичное воздействие антигена (аллергена) вызывает накопление IgE, которые, фиксируясь на тучных клетках, тканях, базофилах крови обеспечивают их сенсibilизацию.

Вторичное воздействие антигена на такой сенсibilизированный организм вызывает высвобождение медиаторов из клеток-мишеней. Эти медиаторы вызывают расширение периферических сосудов, нарушение гемодинамики, падение артериального давления, развитие шокового состояния.

Описаны случаи пассивной сенсibilизации, в частности, к антибиотикам, когда повышение чувствительности было достигнуто при переливании крови, полученной от лиц с аллергией к этим медикаментам.

Понятие аллергические и атопические заболевания часто смешивают. Как уже отмечалось выше, в патогенезе аллергических заболеваний могут играть роль аллергические реакции любого типа, в то время как под атопией подразумевают клинические формы аллергических реакций 1-го типа.

Термин «атопия» («чужеродная болезнь») был предложен в 1931 г. американским исследователем Кока (Coca). Под атопией понимают наследственную предрасположенность к аллергическим реакциям в ответ на сенсibilизацию определенными аллергенами.

Клинические признаки атопии многообразны и могут проявляться в виде атопического дерматита, бронхиальной астмы, сенной лихорадки, атопического ринита, мигрени, гастродуоденита или их сочетания. Доказано, что в патогенезе атопических заболеваний главную роль играет наследственная предрасположенность.

Отмечено, что при наличии атопических заболеваний у обоих родителей, симптомы атопии возникают у 75 % детей, если заболевание имеется у одного из родителей, то частота снижается до 50 %.

По мнению некоторых авторов, предрасположенность к атопии связана с несколькими генами, находящимися в различных локусах различных генов и различных хромосом (HLA, гены комплемента, гены ИЛ-4 и ИЛ-5). Генетически обусловленная предрасположенность может проявляться в виде повышенной проницаемости барьерных тканей к аллергену, высокой степени высвобождения медиаторов, в более высокой чувствительности периферических тканей к этим медиаторам. Таким образом, когда используют термин атопия, имеют в виду *семейную* склонность к сенсibilизации естественными (чаще ингаляционными) аллергенами.

Несмотря на то, что эта точка зрения является общепринятой, конкретные механизмы подобной предрасположенности не всегда ясны. До настоящего времени остаётся непонятным, когда выявляемые нарушения являются отражением генетической предрасположенности к заболеванию, а когда – следствием воспалительного процесса. В то же время именно нарушение проницаемости барьерных слизистых тканей является решающим фактором возникновения аллергического ответа и поддержания его клинической выраженности у сенсibilизированных больных.

Поэтому в последнее время все больше специалистов приходит к необходимости включения в программу по лечению аллергических заболеваний мер, ориентированных на диагностику и восстановление функциональной полноценности барьерных тканей.

Анафилаксия, которая также относится к гиперчувствительности 1-го типа, не имеет столь явного наследственного фактора предрасположенности и может развиваться у более широкого круга лиц, чем атопия.

Однако следует заметить, что опасность возникновения анафилаксии у больных, имеющих семейную предрасположенность к атопии, значительно выше, чем у лиц, не имеющих признаков предрасположения к атопии.

Клинические проявления РГЧ I типа

Говоря о наиболее распространенных клинических примерах атопии, можно упомянуть:

- Бронхиальную астму
- Аллергические риниты, конъюнктивиты и комплексные риноконъюнктивиты
- Кожные заболевания:
 - Синдром атопической экземы/дерматита
 - Крапивница
 - Контактная экзема/дерматит
- Некоторые виды реакций гиперчувствительности на пищевые продукты, лекарства, яды
- Аллергический шок

Все перечисленные выше заболевания могут протекать с различной степенью тяжести, однако два из них – бронхиальная астма и атопический дерматит – практически всегда имеют достаточно тяжелое клиническое течение, а в ряде случаев могут угрожать дееспособности и даже жизни пациента.

Бронхиальная астма

Бронхиальная астма (*от греческого astma – тяжелое дыхание, удушье*) – хроническое заболевание легких, поражающее людей всех возрастных групп. Может протекать в виде единичных приступов, либо иметь тяжелое течение с астматическим статусом и летальным исходом. За период 1990-1994 г. заболеваемость бронхиальной астмой возросла на 34 % и в 1994 г составила 405 случаев, а летальность – 3,8 случая на 100 000 населения.

Изучение астмы с позиций аллергической теории оказалось весьма плодотворным, привело к созданию теории этиологии и патогенеза отдельных форм этого заболевания, и дало практике действенные методы лечения.

Аллергическая теория не отрицает роли генетических факторов в формировании болезни, а также учитывает нейрогенный механизм и возможное влияние ряда факторов внешней среды, способных играть значимую роль в клиническом течении заболевания. Однако непосредственной причиной, вызывающей начало болезни она считает аллергическую реакцию, развертывающуюся в тканях бронхиального дерева.

Исходя из этого, этиологическим фактором бронхиальной астмы следует считать тот аллерген (или группу аллергенов), который вызвал эту аллергическую реакцию.

Атопическая форма бронхиальной астмы вызывается аллергенами неинфекционного происхождения – экзоаллергенами, к которым относятся ингаляционные, энтеральные и парентеральные аллергены (классификация А.А. Адо):

- пыльца растений,
- пыль бытовая и производственная,
- споры непатогенных грибов,
- частицы эпидермиса животных и человека, частицы тел насекомых,
- продукты химического производства,
- лекарства, пищевые продукты, вакцины и сыворотки.

Наибольшее значение в этиологии бронхиальной астмы у взрослых имеет группа ингаляционных аллергенов, а у детей первых лет жизни – пищевая аллергия.

Частицы шерсти и эпителия животных и человека обладают выраженным аллергенным действием. Широко описаны случаи бронхиальной астмы на человеческий волос у женщин-парикмахеров Швеции, бронхиальная астма от «запаха лошадиного пота». Источником сенсibilизации при бронхиальной астме могут быть практически все домашние и лабораторные животные.

Лекарства сравнительно редко являются единственной причиной бронхиальной астмы. В этом случае речь может идти, скорее, о профессиональной сенсibilизации ингаляционным путем медицинских работников, фармацевтов и персонала фармацевтических производств.

Роль пищевых продуктов в патогенезе этого заболевания у взрослых до сих пор остается сомнительной, тогда как на долю пищевой аллергии при детской бронхиальной астме приходится довольно большой процент случаев. Наиболее частые аллергены в детском возрасте – это молоко, яйца, арахис, крупы, рыба и орехи. У взрослых наиболее часто встречающиеся аллергены – различные сорта орехов, рыба и морепродукты.

У пациентов с аллергией к определенному продукту клинические симптомы могут проявляться даже при потреблении крайне малых количеств аллергена.

С другой стороны, в формировании устойчивого синдрома, типичного для бронхиальной астмы, могут принимать участие сразу несколько механизмов, включающих разнообразные эффекторы и медиаторы и, как следствие, разные типы описанных выше механизмов иммунного ответа. Поэтому у больных бронхиальной астмой, с одной стороны, достаточно часто имеет место перекрестное реагирование между отдельными пищевыми продуктами, а также между другими аллергенами,

не относящимися к пищевым. И в то же время, в ряде исследований было показано, что, напротив, у некоторых больных перекрестное реагирование между отдельными видами пищевых аллергенов, происходящими из одной группы, не обязательно приводит к появлению клинических симптомов на все аллергены этой группы.

Инфекционно-аллергическая бронхиальная астма является наиболее трудной проблемой клинической аллергологии. Большинство исследователей полагают, что при заболеваниях органов дыхания защитные функции слизистых оболочек резко снижаются, и микроорганизмы (бактерии и вирусы), обитающие в ротовой полости, попадают в бронхи, вызывая сенсibilизацию организма. В настоящее время установлены аллергенные свойства 14 микроорганизмов. Респираторно-аллергические заболевания вызывают условно-патогенные стафилококки, стрептококки, грибы рода кандиды и, как предполагается рядом исследователей, нейссерии.

Маркеры тяжести бронхиальной астмы

Определение иммуноглобулинов класса E является эффективным для выявления специфических аллергенов, послуживших запусковыми для данного заболевания. Однако, поскольку по мере развития патологического процесса в легких может развиваться как перекрестное реагирование, так и «присоединение» к процессу новых аллергенов, *определение аллерген-специфических антител наиболее эффективно на ранних этапах заболевания.*

Уровень эозинофильного катионного белка коррелирует с клиническими симптомами астмы и показателями функции дыхания (спирометрия), позволяя оценить степень воспалительных процессов в дыхательных путях бронхиального дерева. Поэтому *мониторинг уровня ЭКБ в сыворотке крови позволяет оценить тяжесть течения астмы, особенно у детей, прогнозировать развитие астматического приступа, контролировать эффективность лечения воспалительного компонента у больных астмой и подобрать оптимальную дозу лекарственных препаратов.*

Атопический дерматит

Атопический дерматит – термин, включенный в Международную классификацию болезней 9-ого и 10-ого пересмотра, принятую в России. Заболевание проявляется в виде поражения кожи у детей и взрослых, и характеризуется хроническим стадийным течением с определенными клинико-морфологическими симптомами в различные возрастные периоды. Общепризнанной является концепция патогенеза атопического дерматита как мультифакторного заболевания с наследственной детерминированностью ряда аномалий и реализующим влиянием факторов внешней среды.

Достоверным фактором риска заболевания является неблагоприятная экологическая обстановка внутри помещений и загрязнение окружающей среды. Возможным объяснением роста распространения атопического дерматита являются: усиление воздействия домашней пыли, включение в окружающую среду и компоненты пищи значительного количества новых антропогенных факторов, а также снижение продолжительности грудного вскармливания. Ослабление барьерной функции кожи и аллергическая направленность кожных реакций приводит к усилению раздражающего действия *контактных раздражителей*: шерсть, детергенты (моющие средства), дезинфектанты, никель, кобальт, ароматизаторы, ланолин, латекс, антибиотики и др. Среди *ингаляционных аллергенов* выделяют: домашнюю пыль, пыльцу цветущих растений, плесень, перхоть человека и домашних животных. Обострения атопического дерматита, вызванные воздействием микрокleshей домашней пыли, связаны как с непосредственным контактом, так и с вдыханием продуктов их жизнедеятельности. Основными аллергенами микрокleshей считаются секретируемые ими ферменты.

Роль климатических условий в патогенезе заболевания подтверждается большим количеством случаев сезонного течения атопического дерматита.

Кроме того, отмечается огромная роль врожденной, генетически опосредованной ферментопатии пищеварительной системы, создающей состояние выраженной эндогенной интоксикации. Ферментная недостаточность желудка и кишечника, сопровождающаяся дисбактериозом, проявляется неполноценным, патологическим усвоением важнейших ингредиентов пищи и синтезом аутоагрессивных комплексов токсического и аллергического характера. На этом фоне возникают нейроэндокринные расстройства, патологические состояния калликреин-кининовой системы, нарушение продукции катехоламинов, развивается гиперпродукция как IgE, так и, чаще – IgG.

Больные и родители зачастую переоценивают влияние пищевой аллергии (пищевой непереносимости) как прогностического показателя тяжелого течения атопического дерматита и развития атопии дыхательных путей. Очень важно объективно определить ее наличие, прежде всего по повышению концентрации аллерген-специфического IgE. При этом, повышение концентрации аллерген-специфического IgG не является основанием для небезопасной практики исключения пищевых продуктов из рациона пациентов.

Маркеры тяжести атопического дерматита

В первую очередь, особенно на ранней стадии процесса, необходимо исследовать аллерген-специфические IgE для выявления запусковых механизмов заболевания.

У больных умеренной или тяжелой формой атопического дерматита часто отмечается повышение, в сравнении с контрольной группой, уровня ЭКБ в сыворотке крови. Динамика концентрации сывороточного ЭКБ коррелирует с тяжестью заболевания, и снижается по мере стихания клинических проявлений на коже, что позволяет использовать этот лабораторный показатель для мониторинга течения процесса и оценки эффективности лечения. В то же время, тяжесть течения атопического дерматита не коррелирует с уровнями IgE и рецепторов к ИЛ-2, поэтому использование этих параметров для мониторинга течения заболевания и/или эффективности лекарственной терапии неэффективно.

Клинические проявления РГЧ неатопического характера

Как было сказано выше, не все виды РГЧ, которые мы привыкли считать аллергическими, являются истинной аллергией. Аллергоподобные клинические проявления могут быть связаны с другими типами РГЧ. В то же время, при длительном развитии истинно аллергических заболеваний может начаться присоединение целой группы дополнительных патогенетических факторов. Наибольшее количество сочетанных реакций и клинических проявлений с неясным патогенезом приходится на долю РГЧ, связанных с пищевыми продуктами.

Пищевая аллергия и пищевая непереносимость

Пищевые аллергены значительно реже, чем принято считать, вызывают истинную IgE-зависимую аллергию. В порядке убывания аллергологической значимости пищевые продукты можно расположить следующим образом: *яйца, арахис, молоко, соя, лесные орехи, морепродукты, пшеница.*

Серьезную угрозу для здоровья представляет наличие «скрытых аллергенов» в пищевых продуктах. К числу таких аллергенов можно отнести новые пищевые добавки, например, фитазу. Атопические реакции возникают при потреблении трансгенных продуктов, потребление которых раньше не вызывало сенсибилизацию организма (например, картофель «новой технологии» и аллергия на томаты и др.). Считается, что пищевая аллергия может быть причиной многих клинических проявлений атопического характера, но главными считаются острый и хронический гастрит, энтерит, колит, поражения печени и поджелудочной железы, мигрень, отек Квинке, атопический дерматит, крапивница.

Несмотря на это, в практике врача более часто приходится сталкиваться с проявлениями пищевой непереносимости.

Пищевая непереносимость (гиперчувствительность замедленного типа) – это реакция, опосредованная IgG и характеризующаяся замедленным типом течения. Симптомы пищевой непереносимости вызваны, в основном, образованием иммунных комплексов с иммуноглобулином G и комплемент-опосредованным лизисом эффекторных клеток. Поэтому главным отличием пищевой непереносимости от пищевой аллергии, являющейся РГЧ I типа, следует считать не столько менее острое развитие клинических проявлений, сколько тот факт, что для развития пищевой непереносимости наличие в анамнезе предварительного контакта с тем же аллергеном и появление предварительно сенсибилизированных клеток не является обязательным.

Пищевая непереносимость часто является проявлением хронических заболеваний, может быть обусловлена неполноценным ферментативным расщеплением пищевых продуктов при дисбиозах кишечника, либо низким содержанием секреторного IgA.

При пищевой непереносимости концентрации общего IgE и аллерген-специфических IgE к данным продуктам могут находиться в пределах нормы, тогда как уровень IgG обычно повышен. Однако при выявлении пищевой непереносимости нет необходимости проводить поиск аллерген-специфических IgG для выявления пищевого продукта или группы продуктов, на которые реагирует организм, и исключения их из рациона питания.

Поэтому в данном случае лабораторные и клинические исследования должны быть направлены на четкую дифференциацию *пищевой аллергии* или *непереносимости* того или иного продукта, и на поиск истинной причины заболевания, которая зачастую взаимосвязана с ферментопатией.

Поэтому при возникновении острых реакций на те или иные пищевые продукты и подозрении на пищевую непереносимость рекомендуется провести дополнительное обследование на наличие:

- дисбиозов (с поиском ключевой причины их возникновения)
- инфекционно-воспалительных процессов ЖКТ и других органов (в частности - определение *H. pylori* и их серологических маркеров);
- гаммаглобулинопатий различной природы (рекомендуется исследование соотношения уровней иммуноглобулинов всех классов, а также поиск ЦИК) в целях верификации истинной причины наблюдаемого симптомокомплекса.

Не следует также исключать вероятность вторичного присоединения РГЧ замедленного типа к классическим IgE-опосредованным аллергиям.

Аллергены

Понятие истинной аллергической реакции включает в себя патологическую иммунную реакцию на внешний антиген, сопровождающуюся формированием специфических антител класса Е.

Как можно заметить из приведенных выше примеров, во всех случаях истинной аллергии основную роль в формировании того или иного типа аллергопатологии играют сами типы и индивидуальные виды аллергенов.

Аллергены – это антигены, способные вызывать сенсibilизацию организма и участвовать в развитии реакций гиперчувствительности I типа. Большинство естественных аллергенов имеют молекулярную массу в пределах 10-70 кДа. Антигены с меньшей молекулярной массой (неполные антигены или гаптены) становятся иммуногенными только после образования комплекса с тканевыми или сывороточными белками-носителями.

Структурной характеристикой каждого аллергена является наличие специфических последовательностей, которые называются антигенными детерминантами. Полноценный антиген должен иметь как минимум две антигенные детерминанты. Антигенные детерминанты распознаются В-лимфоцитами, которые начинают дифференцироваться и вырабатывать IgE под действием активированных Т-лимфоцитов.

Путь проникновения аллергена в организм, как правило, парентеральный, с преодолением барьера кожи и слизистых, хотя может быть оральным или контактным.

Большое значение имеет доза аллергена. Следует отметить, что для возникновения реакции гиперчувствительности первого типа достаточно *небольшого* количества антигена. Интересен тот факт, что острота клинических проявлений не всегда коррелирует с количеством полученного аллергена. Это связано с тем, что увеличение дозы аллергена способно привести к повышению активности Т-супрессоров – клеток-иммунорегуляторов, способных подавить выработку новых IgE-антител В-лимфоцитами.

Номенклатура аллергенов

В 1994 году номенклатура аллергенов была унифицирована Номенклатурным субкомитетом ВОЗ по аллергенам. В названии аллергена участвуют первые три буквы рода, первая буква вида, арабская цифра обозначает гомологичные аллергены (порядок открытия) разных видов.

Например:

Dermatophagoides farinae-Der f1

Der - род

f - вид

1 – гомологичные аллергены разных видов.

0.000 - изоформы аллергенов обозначают дополнительными четырьмя цифрами.

Обычно компании-изготовители аллергенов, предназначенных к использованию в медицинской практике, выпускают каталоги продукции с международным обозначением аллергенов и указанием их структуры.

Принципы классификации аллергенов

Перечень известных в настоящее время аллергенов чрезвычайно разнообразен. Существует несколько принципов, по которым группируют аллергены:

- *по происхождению:* аллергены пыльцы растений, аллергены грибов и плесеней, аллергены насекомых, аллергены животных, лекарственные аллергены;
- *по способам поступления в организм:* аэро- (ингаляционные) аллергены, пищевые, инъекционные, контактные аллергены;
- *по встречаемости в тех или иных условиях:* бытовые, профессиональные.

Очень часто аллерген из одной группы может относиться и к другим группам аллергенов.

Общепринятые группы аллергенов так же имеют международное обозначение, состоящее из буквы латинского алфавита и порядкового номера аллергена. Такая нумерация позволяет быстро найти интересующий аллерген.

Основные классы аллергенов

Пыльцевые аллергены

Международное обозначение:

g1...n – пыльца луговых трав (каждый вид имеет индивидуальный порядковый номер, например, g1-колосок душистый);

w1...n – пыльца сорных трав;

t1...n – пыльца деревьев и кустарников.

Пыльца – мужские половые клетки растений, имеющие различное строение и размеры. На поверхности пыльцевых зерен имеются борозды, шипы, поры, по размерам которых проводится идентификация пыльцы.

Аллергены, относящиеся к группе пыльцевых аллергенов, являются одними из наиболее подробно изученных. Эта группа аллергенов имеет важное клиническое значение, т. к. имеются данные, что среди больных аллергическими заболеваниями сенсibilизация к пыльцевым аллергенам регистрируется в 30 -70 % случаев, однако этиологическая значимость отдельных групп

пыльцевых аллергенов в механизме развития заболевания неравнозначна.

Следует отметить, что из множества распространенных на Земле видов растений только 50 продуцируют пыльцу, обладающую аллергенной активностью. Чаще всего к развитию АЗ приводит контакт с пыльцой ветроопыляемых растений. Их пыльца обладает летучестью и во время цветения таких растений накапливается в воздухе в количестве, достаточном для того, чтобы создать определенную довольно высокую концентрацию.

Вес и размер пыльцевых зёрен также имеет большое значение. Так, пыльца большого диаметра - от 60 до 100 мкм и более - задерживается при вдыхании на слизистой оболочке верхних дыхательных путей, а пыльца диаметром от 20 до 30 мкм проникает в слизистую оболочку средних и мелких бронхов, что облегчает сенсibilизацию организма. Пыльца ветроопыляемых растений представляет собой достаточно малые гранулы размером 20-50 мкм, которые легко переносятся ветром и обладают аллергенной активностью. Поэтому такая пыльца обычно проникает вглубь дыхательной системы и индуцирует IgE-ответ.

С точки зрения возможной аллергизации, наиболее опасными являются пыльцевые аллергены весенних деревьев и кустарников, луговых и сорных трав.

Среди злаковых и луговых трав ярко выраженной аллергенной активностью обладает пыльца тимофеевки. Среди пыльцевых аллергенов сложноцветных и сорных трав преобладает пыльца полыни и амброзии, что особенно проявляется в южных регионах России с сухим и теплым субконтинентальным климатом, облегчающим длительное нахождение пыльцы в воздухе.

Хвойные растения вырабатывают пыльцу в больших количествах, но ее аллергенность низкая, так как диаметр пыльцевых зерен составляет от 30 до 100 мкм. Среди лиственных деревьев аллергические заболевания наиболее часто вызывают пыльца берёзы, ольхи, орешника, клёна, дуба и др.

Аллергенным действующим началом пыльцы являются альбуминоподобные белки, комплексы белков с углеводами.

Каждое растение имеет несколько аллергенов белковой природы, количество и многообразие которых влияет на аллергенную активность пыльцы в целом. Так, пыльца берёзы обладает наиболее выраженной аллергенной активностью среди аналогов – пыльцы лиственных ветроопыляемых растений – поскольку содержит около 40 белков, 6 из которых обладают свойствами аллергенов.

Химический состав пыльцевых аллергенов в настоящее время активно изучается. Аллергены пыльцы - это пептиды, содержат от 2 до 5 эпитопов; они обычно состоят из 8 – 15 аминокислотных остатков.

Например, из аллергена пыльцы амброзии методом электрофореза на бумаге были выделены пептиды, состоящие из трех аминокислот.

Очень важным как для диагностики, так и для последующего ведения больного является тот факт, что некоторые виды пыльцы имеют в своем составе идентичные эпитопы, что приводит к формированию общих аллергенных свойств. Так, между аллергенами пыльцы деревьев существует структурная гомология, причем выражена она гораздо слабее, чем также существующее сродство аллергенов пыльцы трав. Именно поэтому больные, которые имеют повышенную чувствительность к пыльце берёзы, одновременно реагируют на пыльцу орешника и ольхи. Сходные аллергенные свойства могут иметь и антигенные детерминанты пыльцевых и других классов аллергенов (например, при употреблении в пищу листьев и плодов тех же растений). Поэтому важность изучения перекрестного реагирования среди индивидуальных разновидностей растений, а также между пыльцевыми и пищевыми аллергенами, трудно переоценить.

Так, развитие технологии получения различных рекомбинантных аллергенов позволило установить, что общие аллергены белковой природы (например, «паналлергены», Bet v1 белок и Bet v2 профилин березы) являются ответственными за перекрестное реагирование среди весенних деревьев. Так же было показано и перекрестное реагирование между цветущими деревьями и некоторыми пищевыми продуктами.

Ниже представлена информация о роли основных аллергенов пыльцы березы - Bet v1, профилина березы Bet v2 и «паналлергенов» в развитии различных вариантов перекрестного реагирования между аллергенами пыльцы деревьев, кустарников, трав и инсектицидов.

<i>Vitulacea (береза, ольха) Corylacea (лещина) Fagaceae (бук, дуб)</i>	<i>Перекрестное реагирование между цветущими деревьями и кустарниками</i>	<i>Bet v1 – белок м.м. 17 кДа</i>
<i>Клен, береза, платан, дуб, вяз, тополь, олива, ольха</i>	<i>Перекрестное реагирование между ботанически невязанными деревьями и кустарниками</i>	<i>Профилин березы Bet v2 – белок м.м. 14 кДа</i>
<i>Береза, полынь, тимофеевка, инсектициды</i>	<i>Высоко устойчивые белки, ответственные за перекрестное реагирование между ботанически неродственными</i>	<i>«Паналлергены»</i>

видами деревьев, кустарников,
трав, сорных трав, овощей,
инсектицидов

Между цветущими растениями и пищевыми продуктами также существует перекрестное реагирование.

Пыльцевая аллергия

Продукты питания

Тополь

➤ *Сельдерей, морковь, перец (специи)*

Береза

➤ *Яблоко, персик, лесные орехи, груша, вишня*

Тимофеевка

➤ *Томаты, пшеничная мука*

К наиболее значимым с точки зрения возможной аллергизации организма *сорным травам* можно отнести пыльцевые аллергены растений класса *Ambrosia*, *Artemisia* и *Parietaria*.

Как показал экологический мониторинг, в последние годы в окружающей среде южных регионов нашей страны возросло количество пыльцевых аллергенов амброзии, что сопровождалось одновременным ростом числа случаев аллергии к этой пыльце. На самом деле, помимо прямого увеличения концентрации этого аллергена в воздухе, свою лепту внес и тот факт, что основной аллерген пыльцы амброзии *Amb a1* имеет перекрестное реагирование с целым рядом аллергенов других таксономических видов и семейств.

Artemisia (*тополь, полынь*)

Amb 1a

Heliantus (*подсолнечник*)

Ambrosia (*амброзия*)

Parietaria (*постенница лекарственная*)

Так же наблюдается высокая степень перекрестного реагирования среди трав, которые находятся в тесной корреляционной зависимости с их таксономической классификацией. Установлено перекрестное реагирование среди трав одного субкласса (например, *Poaceae*, *Avena*, *Triticeae*) или подкласса (например, *Pooideae/Panicoideae* либо *Panicoideae/Chloridoideae*).

Между аллергенами пыльцы трав существует ярко выраженная гомология. Пыльца мятлика, тимофеевки, полевицы, ежи сборной имеет сходные антигенные детерминанты и может вызвать перекрёстные аллергические реакции. Аллерген пыльцы полыни имеет сходные антигены и, следовательно, может вызывать перекрестные реакции с

аллергенами пыльцы амброзии, подсолнечника, одуванчика, мать-и-мачехи, березы.

С другой стороны, одно и то же растение может иметь несколько аллергенов, различающихся по свойствам. Так, пыльца амброзии содержит два основных антигена - антиген Е и антиген К, причем антиген Е в 200 раз активнее антигена К.

Полнота информации о перекрестных реакциях и, напротив, многообразии аллергенных свойств у одного и того же исходного продукта, особенно важна при назначении методов исследования и первичном поиске причин сенсibilизации организма. Так, именно общими аллергенными свойствами пыльцы можно объяснить проявление признаков заболевания у больного с аллергией к пыльце амброзии в климатической зоне, где амброзия не встречается, но растет в достаточном количестве подсолнечник либо тополь.

При обследовании и ведении пациентов с пыльцевой аллергией необходимо учитывать также сезонные и суточные колебания содержания пыльцы в окружающей среде. Аллергия к пыльце трав и деревьев развивается лишь в период их цветения, поэтому для каждого региона существуют свои сезонные пики заболеваемости. Максимальная концентрация пыльцы в воздухе приходится на ранние утренние часы с рассвета до 12 часов дня. Определение специфических IgE к распространенным в данном регионе ветроопыляемым растениям, с учетом сезонности их цветения, рекомендуется включать в схему обязательного лабораторного обследования больных atopической аллергией. Для проведения подобного обследования в Санкт-Петербурге и Ленинградской области в таблице 3.4.3 представлен сводный календарь пыления некоторых, свойственных этому ареалу, растений.

Перекрестные реакции существуют не только между пыльцевыми аллергенами, но и между пыльцой и плодами, листьями, стеблями растений, как внутри одного вида, так и среди растений разных видов. Именно поэтому у больных поллинозом симптомы заболевания могут проявляться в любое время года вследствие употребления в пищу орехов, меда или яблок. Так, по некоторым данным яблоки и персики могут спровоцировать приступ заболевания у пациентов с аллергией к пыльце *Artemisia*. Более распространенная ситуация – развитие симптомов пыльцевой аллергии при употреблении лекарственных препаратов из сырья растительного происхождения: коры крушины, берёзовых почек, ольховых шишек, ромашки, полыни и др. Примеры такой поливалентной непереносимости представлены в таблице 3.4.4.

Еще одной актуальной проблемой, приобретающей все большую роль в патогенезе АЗ в связи с ухудшающейся экологической обстановкой, является изменчивость аллергенных свойств. В последнее время появились данные о том, что химические соединения, загрязняющие окружающую

среду, могут изменять аллергенные свойства пыльцы растений и, как следствие, приводить к образованию новых свойств и комбинаций аллергенов.

Таблица 3.4.3

Календарь цветения растений в Санкт-Петербурге и Ленинградской области

Растения	Апрель	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь
Ольха	■					
Лещина	■					
Берёза		■				
Ива	■					
Тополь		■				
Дуб		■				
Вяз		■				
Ясень		■				
Клён		■				
Хвойные		■				
Липа			■			
Лисохвост		■				
Мятлик			■			
Другие злаки			■			
Лебеда				■		
Полынь				■		
Щавель				■		

Аллергены условно патогенных микроорганизмов и грибов (плесеней)
m1...n – грибы и плесени

Аллергены микроскопических грибов широко распространены благодаря огромному разнообразию и уникальной способности к выживанию. Условно патогенные микроорганизмы, микрогрибы и плесени, обитающие в жилых помещениях, часто служат причиной круглогодичных аллергических заболеваний. Они активно заселяют сырые помещения, ванные комнаты, туалеты, сантехнику, старую мебель, испорченные продукты и органические отходы.

Таблица 3.4.4

Возможные варианты непереносимости родственных растительных аллергенов, пищевых продуктов и фитопрепаратов при аллергии к пыльце растений.

Экологический фактор (пыльца)	Возможные перекрёстные реакции		
	Пыльца, листья и стебли растений	Растительные пищевые продукты	Лекарственные растения (фитопрепараты)
Берёза	Лещина, ольха, яблоня	Яблоки, черешня, персики, сливы, орехи (фундук), морковь, сельдерей, картофель, помидоры, огурцы, лук, киви	Берёзовый лист (почки), ольховые шишки
Злаки		Пищевые злаки (овес, пшеница, ячмень, и др.), щавель	
Полынь	Георгин, ромашка, одуванчик, подсолнечник	Цитрусовые, подсолнечное семя (масло, халва), цикорий, мед	Полынь, ромашка, календула, мать-и-мачеха, девясил, череда
Лебеда		Свекла, шпинат	
Амброзия	Подсолнечник, одуванчик	Дыня, бананы, подсолнечное семя	

Грибы, обитающие в природе, паразитируют на коре деревьев, в почве и листьях.

Споры грибов разносятся ветром, водой, животными и человеком. По современной классификации грибы делят на 4 класса: *Ascomycetes*, *Basidiomycetes*, *Ligimycetes*, *Oomycetes*. Грибы родов *Alternaria*, *Penicillium* и *Aspergillus*, которые относятся к классу *Ascomycetes*, вызывают аллергию чаще всего.

Как правило, грибы поражают дыхательные пути и вызывают тяжёлые аллергические заболевания, такие, как бронхолёгочный аспергиллёз, круглогодичный аллергический ринит, бронхиальную астму. Кроме того, при проведении дифференциальной диагностики необходимо учесть, что у лиц со сниженным иммунитетом в условиях постоянного контакта с микрофлорой могут развиваться истинные микозы, приводящие к деструкции тканей легких и носоглотки, что также способно привести к повышению суммарного уровня IgE и базофилов в крови.

Эпидермальные аллергены

e1...n – индивидуальные аллергены животных

К эпидермальным аллергенам относятся: эпидермис собак и кошек, перо (утиное, куриное), шерсть (чаще козья или овечья), слюна и моча

животных. Эпидермальные антигены обладают очень большой активностью, и даже кратковременный контакт с ними может спровоцировать бурный аллергический ответ. К наиболее активным эпидермальным аллергенам относят антиген эпидермиса кошек.

Ингаляционные аллергены

h1...n – домашняя пыль с различным содержанием эпидермальных аллергенов, микрочлещей и др.;

d1...n – микрочлещи;

i1...n – инсектные аллергены(аллергены насекомых)

Пыль является основным многокомпонентным ингаляционным аллергеном. Аллерген из домашней пыли по антигенному составу отличается многокомпонентностью и сложностью. Он состоит из грибов, пылевых частиц, продуктов жизнедеятельности насекомых, частиц эпидермиса животных и человека.

Мощным составляющим компонентом аллергена домашней пыли являются также микрочлещи *Dermatophagoides pteronyssimus* и *Dermatophagoides farinae* – крошечные членистоногие, невидимые невооружённым глазом. Диаметр тела – около 0,3 мм. Эти клещи питаются чешуйками слущенного рогового слоя кожи человека, который составляет наибольшую часть из компонентов домашней пыли. Однако только роговых чешуек этим клещам недостаточно. Они живут в симбиозе с микроскопическими плесневыми грибами, обитающими в матрасах и других постельных принадлежностях. Экскременты клещей также являются идеальными аллергенами. Численность микрочлещей возрастает осенью. Антигены клещей достаточно крупные, поэтому аллергические реакции на них возникают не так быстро, как на эпидермис кошек. Аллергия на домашнюю пыль наиболее часто проявляется в виде бронхиальной астмы, ринита, реже – конъюнктивита.

Результаты ряда зарубежных и отечественных исследований последних лет показали этиологическую значимость сенсибилизации к аллергену из таракана и других домашних насекомых (муравьи, моль, мошки, жуки) у больных с бронхиальной астмой. У 71 % больных бронхиальной астмой обнаружили сочетанную сенсибилизацию к аллергену домашней пыли, клещам рода *Dermatophagoides* и аллергену таракана. Эти данные имеют большое значение, так как позволяют предположить возможность появления новых комплексных аллергенов для диагностики и лечения аллергических заболеваний.

Пищевые аллергены

f1...n – пищевые продукты

Пищевые аллергены – это компоненты гликопротеиновой природы с молекулярным весом 10-60 кДа, хорошо растворимые в воде. Они устойчивы к температуре, действию кислот, протеаз и пищеварению. К наиболее распространённым пищевым аллергенам относят молоко, рыбу, яйца, мясо животных и птиц, злаки, бобовые, орехи, овощи, фрукты и др.

Считают, что более выраженными сенсibiliзирующими свойствами обладают продукты белкового происхождения, хотя прямая зависимость отсутствует. По данным ряда исследователей у 40 % больных, страдающих аллергическими заболеваниями, была выявлена пищевая аллергия к рыбе, у 26 % к молоку и яйцам, 34 % к рисовой муке, у 20 % к другим пищевым злакам, у 8 % к курице и у 2 % к говядине.

Нередко отмечается сочетание аллергии к рыбе с аллергией к речным и морским панцирным животным (раки, крабы, креветки и др.). В литературе имеются данные о развитии аллергических реакций при проведении профилактических прививок вакцинами, содержащими примеси тканей куриного эмбриона, у больных с пищевой аллергией к яйцу.

Также установлено наличие перекрестных аллергических реакций между аллергеном мяса и аллергенами сывороточных и других препаратов, полученных от этих животных (например, говядины и бычьего альбумина). Имеются сведения, что примерно 50 % больных, страдающих непереносимостью молока, не переносят также и клейковину, которая содержится в зернах пшеницы, ржи, в овсяной, ячменной, рисовой и кукурузной муке. Отмечено также, что больные, страдающие целиакией, не переносят ни клейковину, ни молоко.

Пищевая аллергия чаще всего наблюдается у детей, а также среди больных, страдающих заболеваниями желудочно-кишечного тракта и гепатобиллиарной системы, а встречаемость ее колеблется от 5 до 50 %. Нередко под маской пищевой аллергии протекают приобретённые энзимопатии, глистные инвазии, психические заболевания и др.

Симптомы пищевой аллергии могут вызывать также и экзогенные гистаминсодержащие вещества, вызывающие псевдоаллергические реакции, которое протекают без участия IgE. Такие вещества содержатся во многих продуктах питания, например, в клубнике, землянике, малине, грибах, пряностях, копчёностях и в алкоголе.

Некоторые пищевые добавки, разрешённые к употреблению, могут также вызывать псевдоаллергические реакции. Наиболее опасны в этом отношении консерванты: сульфиты E220-227, нитриты E249-252, бензойная кислота и её производные E210-219; антиоксиданты, например бутил-гидроксинизол E321; красители: E102, E110, E122-124, E127, E151; ароматизаторы: B 550-553.

У пациентов с аллергией на пыльцу деревьев и кустарников часто появляется аллергическая реакция после потребления орехов этих деревьев. Ответственным за эти реакции является профилин, выделенный из пыльцы деревьев, трав и сорных трав. Этот белок присутствует во всех эукариотических клетках – как цветов, так и плодов, и принимает участие в перекрестном реагировании между ингаляционными пыльцевыми аллергенами и широким спектром пищевых аллергенов.

В представленных ниже таблицах приведена информация по перекрестному реагированию между пищевыми, ингаляционными и контактными аллергенами, а также описан характер и частота клинических проявлений.

Аллергия на пищевые и пыльцевые аллергены

Тополь	Сельдерей Морковь Специи (перец)
Береза	Персик Яблоко Лесные орехи Груша Вишня
Тимофеевка	Томаты Пшеница

Перекрестная аллергия на продукты и латекс

Латекс	Томаты, бананы, киви, картофель, авокадо, каштан
--------	---

При определении специфических IgE к пищевым продуктам *in vitro* методами врач решает двоякую задачу. С одной стороны, при получении положительного ответа на IgE специфические этот пищевой продукт (или группа пищевых продуктов) исключается из потребления пациента. С другой стороны, при отрицательных результатах тестирования, решается задача расширения рациона питания у данного пациента.

**Перекрестное реагирование между индивидуальными пищевыми
аллергенами и наличие клинических симптомов**

Группы пищевых продуктов	Присутствие специфических IgE против различных видов пищевых продуктов одной группы	Клинические симптомы
Молоко: коровье, козье, овечье	Обычно имеются	Обычно есть
Бобовые: арахис, горох, соевые бобы, фасоль	Обычно имеются	Обычно нет
Крупы: пшеница, овес, рожь, ячмень, рис, кукуруза	Обычно имеются	Обычно нет
Рыба	Обычно имеются	Обычно нет
Орехи: грецкие орехи, фундук, фисташки	Обычно имеются	Обычно нет
Куриное мясо - яйцо	Иногда	Редко
Молоко - говядина	Иногда	Обычно есть

Кроме того, при поиске аллергенов у больных с пищевой аллергией следует четко дифференцировать пищевую аллергию и пищевую непереносимость (подробные различия были описаны выше), поскольку во втором случае патогенез РГЧ принципиально отличается от классической IgE-опосредованной аллергии, а исключение из рациона продукта, не являющегося аллергеном в полном смысле этого слова, может не привести к ожидаемым результатам даже при правильном его определении.

Лекарственные аллергены

s1...n – лекарственный препарат

Лекарственную аллергию в основном вызывают следующие группы препаратов:

- полноценные аллергены, к которым относят противостолбнячную и противодифтерийную сыворотки и инсулин
- гаптены, к которым относится большая часть лекарств или продуктов их метаболизма.

Ко второй группе можно отнести:

- антибиотики группы пенициллина,
- сульфаниламидные препараты,
- контактные сенсibilизаторы, вызывающие аллергический дерматит:
- аминогликозиды, формальдегид, соединения металлов, анестезин и др.

Преобладающее большинство групп других лекарственных препаратов - рентгеноконтрастные вещества, плазмозамещающие средства, производные пиразолона, антибиотики различных групп и др. – приводит к развитию псевдоаллергических реакций, подразумевающих IgG-опосредованную реакцию.

Очень часто аллерген из одной группы может входить в состав сложного многокомпонентного аллергена другой группы и быть виновником развития самых разных аллергических заболеваний.

Многообразие аллергенов и неоднозначность вариантов клинических проявлений, связанных с одним и тем же аллергеном, требует не только и не столько знания классификации аллергенов, сколько понимания общего принципа развития того или иного клинического проявления АЗ в зависимости от:

- основного эффекторного аллергена (группы аллергенов)
- пути попадания его в организм
- типа развивающейся РГЧ и соответствующего ей механизма
- локализации патологического процесса.

В следующей таблице (3.4.5) представлена сводная информация по наиболее распространенным типам аллергических заболеваний и первоочередным факторам, определяющим их развитие.

Российская алергологическая панель

Список основных аллергенов разных стран не одинаков, и связано это не только с климатической зоной, в которой находится то или иное государство, но и с промышленным развитием страны, традициями питания, и многими другими, зачастую, уникальными факторами.

Таблица 3.4.5

Типы основных аллергопатологий, их распространенность в общей структуре АЗ и основные факторы их возникновения и развития

Аллергические заболевания	Частота встречаемости, %	Аллергены, играющие первостепенную роль в развитии заболевания
Поллиноз	5 - 30 %	Пыльца трав и деревьев
Аллергический ринит круглогодичный	4 - 32 %	Грибы, микроклеши, шерсть, эпителий, слюна домашних животных, пищевые аллергены - редко
Аллергический конъюнктивит		Домашняя и библиотечная пыль, эпидермальные аллергены (шерсть, пух, перхоть животных), пищевые и лекарственные аллергены, косметические средства
Бронхиальная астма	2,6 – 20,3 %	Неинфекционные: пыльца, пыль, эпидермальные аллергены, пищевые продукты, лекарственные средства, укусы насекомых Инфекционные: бактерии и продукты их жизнедеятельности, грибковые патогенные и непатогенные, вирусные, паразитарные
Атопический дерматит	дети – 50,0-66,4 % взрослые – 45-60 %	Пищевые: яйцо, молоко, арахис, пшеница и т.д. Ингаляционные: грибковые, домашняя пыль, клещи домашней пыли, шерсть, эпителий, слюна домашних животных Лекарственные аллергены
Инсектная аллергия	17 – 20 %	Аллергены слюны насекомых, яды, аллергены насекомых и их метаболиты (при вдыхании частиц тела и при соприкосновении)
Пищевая аллергия	0,1 – 50 %	В порядке убывания значимости: молоко, рыба и рыбные продукты, яйца, мясо различных животных и птиц, пищевые злаки, бобовые, орехи, овощи, фрукты и др.
Лекарственная аллергия	1 – 30 %	Чужеродные сыворотки, антибиотики, сульфаниламидные препараты, анальгетики, витамины, салицилаты, препараты теофиллинового ряда

Отечественными аллергологами были проанализированы 12890 протоколов аллергологического обследования пациентов. По результатам проведенного исследования были выделены 50 наиболее опасных по

последствиям аллергенов. Ниже представлена композиция «российской аллергологической панели» для диагностики атопии *in vitro* у детей и подростков (*Педиатрия*, 2001, 4, .48-50).

t2 ольха, t3 береза, t4 лещина, t7 дуб, g3 ежа сборная, g4 овсяница луговая, gb тимофеевка, wb полынь обыкновенная, w8 одуванчик, w15 лебеда;

h1 домашняя пыль (greer), h2 (holister-stier), библиотечная пыль, клещи домашней пыли, шерсть кошки, шерсть собаки, шерсть овцы, e3 перхоть лошади, e85 перо курицы, e208 волос человека;

f1 яичный белок, f2 коровье молоко, f3 треска, f25 томаты, f26 свинина, f27 говядина, f33 апельсин, f44 клубника, f85 сельдерей, f156 подсолнечник;

f4 пшеничная мука, f5 ржаная мука, f7 овсяная мука, f9 рис, f11 гречневая крупа, f12 зеленый горошек, f17 фундук, f31 морковь, f49 яблоко, f53 персик;

m1 Penicillium notatum, m2 Cladosporium herbarum, m3 Aspergillus fumigatus, i1 яд пчелы, i6 таракан, p1 аскарид, p2 эхинококк;

ингаляционная панель: wb полынь обыкновенная, w15 лебеда, g3 ежа сборная, g4 овсяница луговая, t7 дуб.

По мнению специалистов, шесть приведенных выше вариантов диагностических алергонаборов «российской панели», позволили бы выявлять до 92 % случаев аллергии, сопровождающейся положительными реакциями *in vitro*, уже в детском возрасте.

Исходя из вышеизложенного можно рекомендовать примерный перечень аллергенов, которые должны исследоваться в клинко-диагностических лабораториях:

1. Шерсть и эпителий животных (панель либо индивидуально - кошка, собака, морская свинка, хомяк);
2. Бытовые аллергены (панель либо индивидуально - домашняя пыль, микроклещи);
3. Грибковые аллергены (панель);
4. Пыльцевые аллергены (панели, характерные для региона проживания пациента);
5. Пищевые аллергены (индивидуально для расширения возможного рациона питания пациента);
6. Аллергены лекарств (по усмотрению врача).

Приведенная выше информация – как о возможных механизмах развития аллергического процесса, так и об основных факторах запуска и

прогрессирования заболевания и их источниках, еще раз подчеркивает необходимость адекватной диагностики как самого факта АЗ, так и вызвавших его причин.

И для этого необходимо не только использовать наиболее современные, точные, специфичные и чувствительные методы, но и адекватно сформировать саму задачу для проведения диагностических мероприятий.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ IN VITRO АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКИ.

Основные задачи

Как уже было отмечено выше, в развитии одного и того же вида аллергопатологии могут участвовать разные факторы и даже целые группы таковых, а проявления аллергических заболеваний многолики и большой степени зависят не только от причины аллергии, но и от состояния иммунной и других систем организма пациента. Существуют и заболевания, не являющиеся истинно аллергическими, которые вовлекают иммунную систему в патогенез совершенно иными путями. Кроме того, целый ряд инфекционных, паразитарных и системных заболеваний может приводить к появлению аллергоподобной клинической, а иногда – и лабораторной картины, что также затрудняет диагностику.

С другой стороны, недостаточность своевременной диагностики АЗ, особенно, на ранних этапах заболевания, очевидна. По данным ряда отечественных исследователей, более чем у 50 % аллергологических больных установление точного диагноза и назначение эффективного лечения приходится на второй-третий год с момента проявления первых симптомов, тогда как число заболеваний, диагностированных в течение первого года, не превышает 20 % от общего количества вновь выявленных случаев АЗ.

Поэтому основными задачами лабораторной аллергодиагностики можно считать следующие:

- *ранняя диагностика факта наличия аллергии как заболевания и основных аллергенов, спровоцировавших ее развитие.* Решение этой задачи позволит снизить число запущенных случаев заболевания, в том числе – тех случаев, когда к первоначальным эффекторам присоединились новые компоненты из числа родственных аллергенов
- *дифференциальная диагностика аллергических и сходных с ними по симптоматике и лабораторной картине заболеваний не аллергической природы,* что позволит максимально повысить эффективность лечения
- *оптимизация методов выявления специфических аллергенов, приведших к развитию патологии и разработка методов нейтрализации их воздействия (определение возможных перекрестных реакций, рекомендации по ведению больного)*

мониторинг аллергологических больных для оценки эффективности и возможной коррекции проводимого лечения.

Алгоритмы обследования

В настоящее время методика обследования пациента врачом аллергологом-иммунологом регламентируется Приказом МЗ РФ № 269 от 16.07.2001 г. «О введении в действие отраслевого стандарта «Сложные и комплексные медицинские услуги. Состав» (ОСТ N 91500.09.0003-2001), Приказом МЗМП РФ от 8 апреля 1996 г. № 134 «О временных отраслевых стандартах объема медицинской помощи», приложением 3 к Приказу Минздравмедпрома России от 16 февраля 1995 г. № 33: «Положение о враче аллергологе-иммунологе». В этих руководящих документах подробно описаны объем работы врача аллерголога-иммунолога и перечень лабораторных тестов, которые он должен назначить при конкретной патологии.

Основные требования к выполнению лабораторных исследований, в том числе, необходимых для врача аллерголога-иммунолога отражены в Приказе МЗ РФ №380 от 25 декабря 1997 года «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения РФ» и в Приложении № 6 «Иммунологические исследования» к Приказу МЗ РФ №64 от 21 февраля 2000 г. «Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований».

Классическая аллергия – реакция организма, опосредованная IgE и характеризующаяся немедленным, как правило, в течение 2 часов, проявлением клинических симптомов.

Поэтому обычно *первичное* обращение пациента с подозрением на аллергию происходит в 1-3 сутки развития аллергической реакции и зачастую больной обращается не к специалисту-аллергологу, а к врачу общей практики.

Обследование пациента с аллергией всегда проводится в несколько этапов, первый из которых - *сбор аллергологического анамнеза*:

оценивается отягощенность наследственности;

сроки возникновения аллергических реакций;

клинические проявления аллергии,

- в какой период года возникают аллергические проявления, с чем связывает пациент возникновение аллергических реакций.

Затем проводится *специальное аллергологическое обследование*. Для проведения адекватного аллергологического обследования пациента необходимо проведение *in vivo* и *in vitro* тестов по определению уровня в крови пациентов общей концентрации IgE и аллерген-специфических IgE, а в ряде случаев – и некоторых дополнительных параметров. Следует отметить, что в настоящее время все большее число аллергологов пересматривает классические алгоритмы алергодиагностики, и чаще

используют методы *in vitro*, не прибегая к методам *in vivo*. Причины подобного подхода мы рассмотрим несколько позже.

Наиболее часто к развитию клинических проявлений атопии приводит контакт с эпидермальными (перхоть и эпителий животных), бытовыми (компоненты пыли жилища, микроклещей и др.), грибковыми (сапрофиты и условнопатогенные плесени) и пыльцевыми аллергенами (сорные травы, деревья, кустарники). Последнее место в этом ряду отводится пищевым аллергенам.

При наличии у пациента жалоб, характерных для аллергологического заболевания, врач общей практики обычно назначает определение общего уровня IgE и группы аллерген-специфических IgE на панелях (например, панель бытовых аллегенов, панель пыльцы раннецветущих трав и деревьев). В случае получения положительного результата пациент направляется на консультацию к аллергологу. Аллерголог, при необходимости, проводит кожные пробы, назначает определение IgE к индивидуальным аллергенам *in vitro*.

Дополнительные исследования, рекомендуемые при дифференциальной диагностике аллергий и псевдоаллергий:

- обследование на скрытые паразитарные инфекции (гельминты, лямблии, токсоплазмоз);
- обследование на скрытые системные вирусные инфекции;
- исследование на микогенные инфекции.

Таким образом, устанавливается природа заболевания – аллергическая или неаллергическая; дифференцируются истинно аллергические и псевдоаллергические заболевания; выявляется причинный аллерген или группа аллергенов.

Следует отметить, что при помощи лабораторной диагностики устанавливается только факт сенсибилизации организма. В динамике обследования степень сенсибилизации к конкретным аллергенам может изменяться. Поэтому раннее определение факта аллергии способно значительно повысить адекватность диагностики ее причин.

Эффективное лечение, направленное как на устранение аллергена из зоны потенциального взаимодействия с пациентом, так и на облегчение остроты клинических проявлений, также способно оказать влияние на получаемые результаты лабораторных исследований. Для мониторинга эффективности лечения используют дополнительные параметры, направленные не столько на диагностику взаимодействия «иммунная система организма – аллерген», сколько на оценку состояния иммунной системы и самого организма в целом.

Кроме того, немаловажным фактом является и стоимость анализа, также зависящая и от постановки изначальной клинической задачи и используемых в диагностических целях методов, и от адекватности

назначения того или иного теста, определяющего количество как оправданных, так и напрасных шагов до окончательного результата. Поэтому мы сочли нужным уделить отдельное внимание методам лабораторной диагностики маркеров аллергических реакций, их классификации и оценке востребованности тех или иных групп методов в зависимости от клинико-диагностической ситуации.

Лабораторные методы определения основных маркеров АЗ

Определение общего IgE особенно необходимо на начальных этапах обследования: в большинстве случаев уже одно только определение этого параметра позволяет отличить АЗ от других заболеваний и их проявлений, имеющих сходную симптоматику. В последнее время доступность и достаточное количество отечественных и импортных тест-систем для проведения этого теста позволяет направить больного на этот анализ не только специалисту-аллергологу, но и врачу общей практики – до проведения других специальных диагностических процедур. Для диагностики atopических аллергических заболеваний также принято использовать определение общего IgE в сыворотке или плазме крови.

Однако общий иммуноглобулин Е ни в коей мере нельзя считать однозначным маркером аллергического процесса. Следует учесть, что к повышению его концентрации, помимо АЗ, может привести:

- наличие скрытых вирусных или паразитарных инфекций (наиболее распространенный вариант - глистная инвазия),
- некоторые формы иммунодефицита, в частности - синдром Джоба и бронхопульмональный аспергиллез, а также изолированный дефицит секреторной формы IgA,
- IgE-миелома (неоплазия IgE-продуцирующих клеток), тимусная аплазия (синдром Ди-Джорджи), синдром Вискотт-Олдриджа и др.

В то же время, до 30 % больных atopией имеют «нормальный» уровень общего IgE, и это может объясняться целым рядом причин.

- Так, некоторые больные с atopией могут иметь выраженную сенсibilизацию всего к одному или нескольким аллергенам, при этом общий – суммарный - уровень IgE может оставаться в пределах нормы.
- Низкие концентрации общего IgE могут наблюдаться из-за конкурентного связывания аллергена со специфическими антителами других классов, например, IgG₄ (особенно при определяющих профиль АЗ РГЧ 3-4 типов).
- Снижение концентрации IgE в крови отмечается и при некоторых прогрессирующих опухолях, атаксии – телеангиэктазии.

Кроме того, даже клинически адекватное определение IgE как маркера аллергического процесса в сочетании с симптоматикой, жалобами больного и полным анамнезом не позволяют однозначно определить причину аллергии – основные аллергены, вызывающие сенсibilизацию.

Поэтому все большее значение приобретает определение аллерген-специфических иммуноглобулинов E (sIgE – specific IgE).

Выявление специфических IgE позволяет:

- Выявить факт сенсибилизации организма определенным аллергеном, даже в отсутствие существенно повышенного уровня общего IgE;
- Оценить степень сенсибилизации, т.е. прогнозировать остроту реакции именно на этот аллерген (в большинстве случаев, аллергия, имеющая множественные и остро выраженные клинические признаки не является монофакторной, поэтому необходимо оценить вклад каждого из участвующих аллергенов в развитие общего процесса);
- При достаточной информированности врача о перекрестных реакциях и типовых панелях аллергенов (см. главу 1), исследование индивидуальных sIgE позволяет прогнозировать риск развития у пациента аллергической реакции и на некоторые виды аллергенов, с которыми он пока еще не встречался (например, выявление среди причин АЗ аллергенов определенных тропических фруктов позволяет предположить сходную реакцию и на пыльцу тех же деревьев, несмотря на то, что они не входят в типовую для средней полосы России панель).

Методы определения специфических IgE многообразны: в настоящее время существует не просто несколько методов, а несколько принципиально различающихся подходов к определению sIgE. Выбор конкретного подхода определяется как клинической задачей и декларированными преимуществами того или иного метода, так и некоторыми специфическими ограничениями, существующими для большинства из них.

Классификация методов определения sIgE

Методы определения sIgE, в первую очередь, делятся на выполняемые *in vivo* и *in vitro*. Тесты *in vivo* имеют долгую историю, используются для определения сенсибилизации индивидуальными аллергенами, и популярны по сей день, но, к сожалению, имеют целый ряд не только аналитических, но и серьезных клинических ограничений. Тесты для определения специфических IgE *in vitro* разрабатываются с 60-х годов прошлого столетия, подход к *in vitro* диагностике sIgE несколько раз претерпевал ключевые изменения, что отражалось в понятии «новое поколение *in vitro* тестов для sIgE», и основными ограничениями *in vitro* методов до сих пор являлись их аналитические особенности и экономические показатели. Поэтому именно эти параметры и шлифуются создателями *in vitro* тестов от поколения к поколению.

Традиционным способом *in vivo* определения сенсибилизации индивидуальными антигенами по сей день являются кожные пробы. *Кожная проба – физиологический тест, позволяющий обнаружить сенсибилизированные тучные клетки в коже человека.* Классификация

кожных проб проводится по методу введения провокационного материала в зону исследования:

- аппликационные (накожные, patch-тесты, эпикутанные);
- внутрикожные пробы;
- прик-тест;
- скарификационные.

Перечисленные выше типы кожных проб различаются между собой по аналитическим характеристикам и имеют разное клинко-диагностическое предназначение. Так, внутрикожные пробы чаще применяются для выявления сенсибилизации к аллергенам бактериального и грибкового происхождения, а также для определения степени чувствительности к аллергенам неинфекционной природы; прик-тест чаще применяют для диагностики реактивного типа аллергических реакций, например пищевой, лекарственной, пыльцевой аллергии. Patch-тесты чаще всего используют для выявления сенсибилизации на косметические средства и металлы (стандартная Европейская панель содержит 23 аллергена-никель, хром, кобальт и т.д.). В России, благодаря невысокой стоимости и доступности определения, до настоящего времени наиболее распространенным является скарификационный тест.

Основным преимуществом кожной пробы является наглядность получаемых результатов для пациента, относительно невысокая стоимость определения и возможность определения факторов хронической сенсибилизации организма в состоянии ремиссии АЗ, так как IgE-антитела, иммобилизованные на поверхности сенсибилизированных тучных клеток способны функционировать более 10 недель. Основным клиническим недостатком кожной пробы является риск повторной провокации острого приступа АЗ и/или сенсибилизации *de novo* при неправильном выборе провокационного антигена. Кроме того, большинство тестов *in vivo* показывают ложно заниженные результаты, если пациент принимает антигистаминные препараты, поэтому при мониторинге эффективности лечения назначенную ранее терапию необходимо отменять как минимум за 3-5 дней до проведения теста. С точки зрения аналитического подхода ограничением можно считать мануальное выполнение пробы и визуальную оценку результатов без наличия четких стандартов их оценки, что приводит к полной субъективности получаемых результатов. Поэтому результаты кожных проб необходимо сопоставлять с клиническими данными и данными аллергологического анамнеза.

Все без исключения методы *in vitro* определения, напротив, абсолютно безопасны для пациента, т.к. не требуют внесения в организм большого дополнительных количеств аллергенов. Кроме того, при определении аллерген-специфических антител *in vitro* возможно определение не только индивидуальных аллергенов, но и определение «панелей» - групп из нескольких родственных аллергенов

иммобилизованных на твердофазном носителе. Подобный подход очень удобен при многофакторном АЗ, он позволяет значительно снизить количество итераций от первоначального направления на анализ до получения точной картины заболевания, а значит – уменьшить как общую стоимость исследования, так и его продолжительность, и более того – дает возможность прогнозировать риск развития аллергических реакций при контакте с новыми аллергенами, гомологичными к уже имеющимся в списке пациента.

Однако существенным ограничением их применения до последнего времени служил тот факт, что методы *in vitro* направлены на регистрацию аллерген-специфических IgE-антител, циркулирующих в крови. Поскольку продолжительность жизни свободных IgE не превышает нескольких дней, наибольшая достоверность результатов *in vitro* исследований достигается при анализе проб, отобранных в острой фазе АЗ. В то же время понятно, что при многофакторном АЗ приступы, возникающие в разных условиях (время года, смена зоны проживания пациента, новые продукты в рационе), могут иметь под собой различающиеся причины. Таким образом, в течение долгого времени бытовало мнение, что *in vitro* методы оптимальны для выявления причин «свежего» приступа АЗ, тогда как *in vivo* определение позволяет понять масштаб и оценить наличие всех основных факторов, провоцирующих АЗ.

Более того, приведенная выше таблица наглядно показывает, что основные ограничения, препятствующие широкому распространению *in vitro* методов в отечественной лаборатории, обусловлены их стоимостью, продолжительностью анализа и возможной недостаточностью чувствительности тест-системы при обследовании пациентов с ожидаемыми низкими уровнями IgE – в стадии ремиссии АЗ или же в самом начале аллергического заболевания.

История развития *in vitro* диагностики sIgE показывает, что с подобными же ограничениями сталкивались производители и пользователи тест-систем первого и второго поколений. За время своего существования технология исследования аллерген-специфических IgE претерпевала не только уточнение аналитических характеристик, но и неоднократную принципиальную смену аналитического принципа метода. В самых ранних тестах использовались частицы микрокристаллической целлюлозы с иммобилизованными на поверхности аллергенами, на смену ему пришел радиоиммунный метод исследования (РИА, mRAST). Производители РИА-методов для определения аллерген-специфических антител также совершенствовали свое детище на протяжении всего периода существования метода. Именно поэтому результаты, полученные РИА-методом, по своей специфичности и клинической адекватности до сих пор считаются референсными. К сожалению, для РИА-систем характерны все отмеченные

в недостатки: метод трудоемок, продолжителен (от 12 до 24 часов), и достаточно дорог.

Поиск новых, более быстрых и менее дорогих путей *in vitro* диагностики sIgE привел к появлению целого ряда иммуноферментных методов с колориметрическим, флюориметрическим и хемилюминесцентным способом регистрации результатов. Продолжительность теста сократилась до нескольких часов, стоимость также значительно уменьшилась. Однако большинство указанных тест-систем, названных «вторым поколением» ИФА, не давало результатов, сопоставимых по специфичности и клинической достоверности с РИА-методом. Более того, список доступных этим методам аллергенов был невелик, а чувствительность, специфичность и главное – клиническая достоверность – были гораздо ниже, чем у референс-методики. Еще одним недостатком тест-систем второго поколения являлась невозможность унифицировать результаты исследования, полученные на разных тест-системах и разработать единую систему стандартизации и контроля результатов. Изначально система классификации результатов была условной: для сывороток пациентов с диагностированной аллергией было сформировано пять групп (классы от 0 до IV) – по мере возрастания титра IgE-антител и клинических проявлений. Затем для ИФА-методов была принята методика определения концентрации sIgE в кЕ/мл по калибровочной кривой, построенной на результатах определения общего IgE (1 кЕ/мл = 0,001 мЕ/мл).

К сожалению, несмотря на удобство такого подхода, разнообразие аллергенов и, следовательно, модификаций антител к ним не позволяет с уверенностью говорить о том, что все формы sIgE подчиняются законам этой калибровочной кривой. Поэтому большинство производителей тестов для определения аллерген-специфических антител в дополнение к общей калибровочной кривой приводят первоначальные референсные значения sIgE к разным аллергенам. В ряде случаев эта задача делегируется самой лаборатории, выполняющей исследования. Поэтому сравнение разных методов *in vitro* определения до сих пор проводится не в количественном формате, а в квалификационной оценке сопоставимости результатов. На настоящий момент при сравнении двух открытых ИФА-систем с любым типом считывания сопоставимыми считаются методы, показывающие не менее 85 % совпадающих результатов.

Кроме того, при калибровке ИФА-тестов второго поколения не была достигнута возможность получения калибратора с реальным значением 0 кЕ/мл. Поэтому в определение «отрицательных» входили все результаты ниже определенного порогового уровня. Пороговый уровень определялся минимальным значением калибратора и в разных тест-системах варьировал от 0,20 до 0,30 кЕ/л, а более малые значения при необходимости рассчитывались методом экстраполяции. Это создавало дополнительную диагностическую проблему – достаточно трудно было оценить зону

разделения нормальных и патологических значений. Однозначной же оценке – «отсутствие аллерген-специфических антител – норма, присутствие – патология», мешал тот факт, что достоверно оценить методом экстраполяции реальное различие между 0 и 0,20 кЕ/л было практически невозможно. Поэтому результаты, полученные на разных тест-системах, могли в одном случае соответствовать норме, а в другом – патологии. По той же причине невозможным было и решение клинической задачи диагностики сверхнизких значений у больных с малой степенью сенсибилизации или в стадии ремиссии.

Следует сказать, что ограничения в области точного определения сверхнизких значений свойственны и референсному РИА-методу. Именно этим и определяется прежняя популярность кожных проб, в частности – для больных в стадии ремиссии вследствие успешной терапии.

Но даже использование кожных проб не охватывает целую группу больных – пациентов с дебютом заболевания и низким уровнем сенсибилизации тучных клеток. Клинически эта группа является одной из самых важных:

- во-первых, на ранних этапах АЗ количество аллергенов, провоцирующих реакцию, чаще всего незначительно, а следовательно легче поддается и диагностике, и контролю
- во-вторых, у своевременно выявленных больных при адекватном лечении значительно снижается риск развития тяжелых патологий, таких как бронхиальная астма, атопические дерматиты и др.
- в-третьих, недостаточное накопление иммобилизованных IgE может не позволить выявить причину аллергической реакции методом *in vivo*, тогда как неоднократное повторение кожных проб с разными вариантами аллергена именно у таких больных создает высокий риск сенсибилизации *de novo* и присоединения к патологическому процессу новых факторов его развития.

Именно этим целям и послужила разработка последнего – третьего - поколения тестов для лабораторной *in vitro* диагностики аллерген-специфических IgE. В основе метода лежит полностью автоматизированное иммуноферментное определение аллерген-специфических IgE с хемилюминесцентным способом регистрации результатов. Метод основан на пробирочной технологии, т.е. в отличие от планшетных методов позволяет исследовать индивидуальные образцы пациента непосредственно после взятия образца. Для определения короткоживущих циркулирующих sIgE этот фактор также является немаловажным.

Одним из неоспоримых преимуществ этой модификации метода является полная автоматизация определения, позволяющая сократить время анализа в 2-4 раза в сравнении с ИФА второго поколения, а также возможность использования реальных калибраторов, рекомендованных ВОЗ. В отличие от большинства методов

предыдущих поколений, структура аллергенов, входящих в реагенты, не изменена, а специальная конструкция жидкой матрицы – аллерген и лиганд прикреплены к растворимому полимеру - обеспечивает доступ IgE ко всем эпитопам, что позволяет адекватно оценивать все типы sIgE по принятой для общего IgE калибровочной кривой без ущерба для аналитической и клинической адекватности определения. Кроме того, используемая в данной методике технология объемного, а не поверхностного нанесения иммобилизованных реагентов, впервые позволила достичь высокой стабильности результатов при многократном (в 100 и более раз) разведении образцов, что гарантирует адекватность реагирования и достоверность считывания даже самых малых результатов.

Однако самым главным преимуществом новой технологии является введение в калибровочную кривую реального калибратора со значением 0,0 кЕ/л и второго дополнительного калибратора со значением 0,1 кЕ/л. Таким образом, все сверхнизкие значения определяются методом интерполяции – путем наложения на реальную калибровочную кривую, что позволяет однозначно ответить на вопрос о присутствии циркулирующих специфических IgE к определяемому веществу даже при сверхмалых его количествах.

Описываемый метод предусматривает возможность определения как антител к индивидуальным аллергенам, так и целых панелей веществ, что позволяет оценить как реально существующие, так и потенциальные перекрестные реакции, а следовательно – значительно снизить риск развития у пациента аллергической реакции на непредвиденный компонент.

И, наконец, стоимость одного определения значительно ниже, чем при проведении референсных РИА-исследований тех же показателей, тогда как качество – специфичность и клиническая адекватность – получаемых результатов полностью сопоставима с этим методом.

Таким образом, использование тестов третьего поколения исключает практически все недостатки, отмеченные в таблице 5 для *in vitro* методов определения аллерген-специфических антител, что позволяет использовать их для решения всех диагностических задач:

- для первичной диагностики АЗ даже у больных с незначительным превышением общего уровня IgE без риска усиления IgE-ответа и сенсибилизации *de novo* дополнительными антигенами
- для мониторинга больных, находящихся на лекарственной терапии, без отмены проводимого лечения даже в день проведения анализа
- для исследования педиатрических образцов, в том числе – у детей до трех лет
- для определения аллергии на пищевые и другие виды аллергенов

в сложных случаях сочетанных инфекционно-аллергических патологий, а также для оценки риска возникновения иммунного ответа при встрече с новым для пациента потенциальным аллергеном.

Методы мониторинга больных АЗ, находящихся на лечении.

Ведение аллергологических больных, находящихся на лечении, особенно – при наличии тяжелых форм заболевания – включает в себя регулярное посещение специалиста аллерголога-иммунолога, а также регулярное исследование уровня целого ряда лабораторных показателей.

В первой главе уже говорилось о том, что разные формы аллергологических заболеваний имеют различные маркеры. Более того, части больных необходимо проводить регулярный мониторинг иммунного статуса.

Антитела класса IgE входят в список параметров, предназначенных для ведения аллергологических больных, однако в этом случае роль их определения несколько меняется. Как было сказано выше, в ходе развития аллергопатологии факторы развития заболевания могут меняться – присоединяются новые, элиминируются из обращения (принудительно или произвольно) некоторые диагностированные ранее антигены. Поэтому основными параметрами для мониторинга являются:

общий уровень IgE – для оценки эффективности действия лекарственных препаратов и регистрации отсутствия синтеза циркулирующих IgE de novo

индивидуальные аллерген-специфические IgE рекомендуется исследовать только в случае регистрации внезапного увеличения уровня общего IgE – в целях выявления нового агента, спровоцировавшего новый приступ

как было сказано выше, у больных бронхиальной астмой и при некоторых других видах атопии рекомендовано исследование уровня эозинофильного катионного белка (ЭКБ), который, в отличие от иммуноглобулинов класса E отражает не сам факт сенсибилизации, а именно активность патологического процесса на настоящий момент

в ряде случаев рекомендуется выполнение полной иммунограммы пациента, а также исследование на наличие циркулирующих иммунных комплексов и других компонентов иммунного ответа. Особенно важным это является для иммунодефицитных больных, у пациентов с сочетанной инфекционно-аллергической патологией или при подозрении на присоединение вторичной инфекции.

Во всех описанных случаях допустимо проведение *in vitro* обследования. Существующие методы определения позволяют

провести адекватное определение всех перечисленных параметров как однократно, так и в динамике.

Таким образом, понимание патогенетических механизмов развития аллергических реакций и адекватное сочетание лабораторных и клинических методов позволяет поставить диагноз, выявить основные факторы развития заболевания и назначить адекватную терапию в кратчайшие сроки, избежав лишних диагностических шагов, увеличивающих экономические и временные затраты на постановку диагноза и назначение лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдрахманова Е.Р. Биосреды человека и болезни в условиях антропогенеза / Е.Р. Абдрахманова // Проблемы экологии: Принципы их решения на примере Южного Урала / Под ред. Н.В.Старовой. – М., Наука, 2003. – С. 86–96.
2. Абдулхаков Р.А. Резистентность *Helicobacter pylori* к основным компонентам эрадикационной схемы / Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. // Р.А. Абдулхаков, Л.В. Кудрявцева, В.А. Исаков– 2002. – Приложение 2. – С. 21–22.
3. Агаджанян Н.А. Химические элементы в среде обитания и экологический портрет человека / Н.А.Агаджанян, А.В. Скальный . – М., Изд.–во КМК, 2001. – 83 с.
4. Адамович В.Л. Последствия цезий–стронциевого загрязнения территорий Чернобыльскими нуклидами / В.Л. Адамович, В.П. Михалев // Антропогенные воздействия и здоровье человека : 3–я: всерос. конф. – Калуга, 1996. – С. 7–9.
5. Адо А.Д. Общая аллергология. – М.: Медицина, 1978.
6. Алексанин С.С., Алиева Н.А., Астафьев О.М. и др. Патология отдаленного периода у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС /Под ред. проф. А.М. Никифорова. – СПб: «БИНОМ», 2002. – 304с.
7. Аллергические болезни: диагностика и лечение: пер с англ / под ред. акад. РАМН А.Г.Чучалина, чл.-кор. РАМН И.С.Гущина, Э.Г.Улумбекова, Р.С.Фассахова. – М.: ГЭОТАР Медицина, 2000. – 768 с.
8. Аллергология (в 2-х томах) / под ред. Г.Б.Федосеева. – СПб: «Нормед-Издат», 2001.
9. Алмазов В.А., Шляхто Е.В. Гипертоническая болезнь. – М. 2000. – 250с.
10. Анисимова А.В., Кузин В.М., Колесникова Т.И. Клинико–диагностические критерии и некоторые вопросы патогенеза ранних стадий хронической ишемии головного мозга // Журн. невропатол. и психиатр., 2003; № 8, "Инсульт" прилож. С. 64–75.
11. Анохин П.К. Очерки по физиологии функциональных систем, М. Мед.. – 1975. – С. 78–106.
12. Баевский Р.М, Кириллов О.И., Клецкин С.З. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе. – М.: Наука, 1984. – 221с.

13. Бекузарова М.Р., Бурд Г. С., Колесникова Т.И., Ясаманова А.Н., Кабанов А.А. Состояние системы гемостаза и патогенетическая терапия поздних стадий дисциркуляторной энцефалопатии // Журн.невропатол. и психиатр., 1997. – № 6.– С. 35–38.
14. Беневоленская Л.И. Остеопороз – актуальная проблема медицины // Остеопороз и остеопатии. – 1998. –№1. – С. 4–7.
15. Бердичевский М.Я. Венозная дисциркуляторная патология головного мозга. – 1989. – М. – 224 с.
16. Беспалов В.Г. Предраковые состояния и изменения желудка и их коррекция / Медлайн–Экспресс // В.Г. Беспалов, В.С. Султанов, А.М. Щербаков, В.И. Новик, О.Ф. Чепик, В.П. Калиновский – 2009. – №2–3 (202). – С.40–45.
17. Биохимические основы патологических процессов (под. ред. Е.С.Северина). – Москва: Медицина, 2000 – 304с.
18. Болезни нервной системы: Руководство для врачей: В 2-х т. – Т.1 / Под ред. Н.Н. Яхно, Д.Р. Штульмана. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2003. – 744 с.
19. Бронский В.И., Толканец И.И., Ковлер М.А. Этиопатогенез энцефалопатии у участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС и динамика клинико–психофизиологических показателей в процессе эндоназального электрофореза пикамилаона // Соц. и клин. психиатрия. – 1999. – Т.9, вып.1. – С.18–21.
20. Бурцев Е.М. Вопросы классификации, клинического течения и патогенетического лечения дисциркуляторной энцефалопатии // Журн. невропатол. и психиатр. – 1991. – № 7. – С. 19–22.
21. Бурцев Е.М. Дисциркуляторная (сосудистая) энцефалопатия //Журн. невропатол. и психиатр. – 1998. – №1. – С. 45–48.
22. Бурцева Т.И. Зависимость элементного состава волос от содержания биоэлементов в рационе питания / Т.И. Бурцева, И.А. Рудаков // Микроэлементы в медицине. – 2007. – № 8. – С.57–60.
23. Буянов П.В. Значение эмоциональных влияний на кровообращение при гипертонической болезни // Военно–медицинский журнал. – 1960. – №5. – С.81.
24. Верещагин Н.В., Моргунов В.А., Гулевская Т.С. Патология головного мозга при атеросклерозе и артериальной гипертонии. – М.: Медицина, 1997. – 288 с.
25. Весельский И.Ш., Сонник А.В. Применение корректоров процессов перекисного окисления липидов и гемостаза в комплексном лечении больных с цереброваскулярными

- расстройствами // Журн. невропатол. и психиатр. – 1997. – № 2. – С. 51–54.
26. Визило Т.Л., Шмидт В.П., Михайлов В.П., Крейнс В.М. и др. Клинико–функциональные особенности разных стадий атеросклеротической дисциркуляторной энцефалопатии // Неврологический журн. – 2001. – № 1. – С. 17–20.
27. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // Вопр. мед. химии. –1987. – Т.33, № 1. – С. 118–122.
28. Гавришева И.А., Гаришева Н.А. Атеросклероз (учебное пособие). Российская Военно–медицинская академия, – СПб.: ТОО"НПЦ "Техноторф", 1999. – 28с.
29. Генкин А.А. Новая информационная технология анализа медицинских данных. – СПб.: Политехника, 1999. – 191с.
30. Герасимов Г.А. Лабораторные методы в диагностике заболеваний щитовидной железы // Клин. лаб. диагностика. –1998. – Т.44,№6. – С. 25–32.
31. Германе С.К., Берзиня Д.А. Влияние милдроната на содержание катехоламинов и изменения в органах крыс при стрессе. // Экспер. клин. фармакол. – Рига.: Зинатне, 1991. – Вып. 19. – С. 44–55.
32. Гигиеническая диагностика загрязнения среды обитания солями тяжелых металлов / Лимин Б.В. [и др.]. – СПб.: СПбГМА им. И.И. Мечникова, 2003. – 130с.
33. Гнездицкий В.В. Обратная задача ЭЭГ и клиническая электроэнцефалография (картирование и локализация электрической активности мозга). – Таганрог: Изд–во ТРТУ, 2000. – 640 с.
34. Губачев Ю.М., Макиенко В.В. Заболевания сердечно–сосудистой системы. – СПб.: Библиотека семейного врача, книга 3, часть 2, 2000. – 67 с.
35. Гуцин И.С. Аллергическое воспаление и его фармакологический контроль. – М.: Фармарус Принт.,1998. – С. 5-85.
36. Данилова И.А. Анализ современного патоморфоза рака желудка на популяционном уровне / И.А. Данилова, В.М. Мерабишвили, Н.М. Аничков, О.Ф. Чепик // Мед. Академ. Журнал. – 2008. – Том8, №3. – С. 35–45.
37. Дедов В.И., Дедов И.И. Чернобыль: Радиоактивный йод – щитовидная железа. – М., 1996. – 236с.

38. Дедов В.И., Дедов И.И., Степаненко В.Ф. Радиационная эндокринология. – М.: Медицина, 1993. – 208с.
39. Дерюгин М.В., Дрыгина Л.Б., Зыбина Н.Н. и др. Диагностика и лечение заболеваний сердечно-сосудистой и пищеварительной систем у участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС// Методические рекомендации (проект)– М.:МЧС России, 2005. – 32 с.
40. Дильман В.М. Четыре модели медицины, – Л.: Медицина, 1987. – 288 с.
41. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / под ред. Н.Н. Петрищева. – СПб: Изд-во СПбГМУ, 2003. – 184с.
42. Довгалетский П.Я., Рыбак О.К., Фурман Н.В. Показатели вариабельности ритма сердца у больных ишемической болезнью сердца в зависимости от тяжести атеросклероза коронарных артерий (по данным селективной коронарографии) и функционального класса стенокардии // Кардиология. – 2002. – № 9. – С. 15–19.
43. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. – Одесса, АстроПринт, 1999. – С. 32-64.
44. Евстратова И.В. В-1-лимфоциты: физиология, функции, популяционная гетерогенность. // Иммунология. – 2004г. – Т. 25, № 1. –С. 46-56.
45. Жаворонкова Л.А., Холодова Н.Б., Гогитидзе Н.В. Динамическое клинико-электроэнцефалографическое и нейропсихологическое исследование состояния ЦНС ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС // Междунар. журн. радиац. медицины. – 2001. – Т. 3, № 1–2. – С. 194–199.
46. Жирмунская Е.А. Клиническая электроэнцефалография: Обзор литературы и перспективы использования метода. – М.: Мейби, 1991. – 77 с.
47. Захарова Н.В. Комбинированная схема эрадикации *Helicobacter pylori* // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2006. – Т.16, №3. – С.45–51.
48. Зенков Л.Р. Клиническая электроэнцефалография (с элементами эпилептологии). – Таганрог: Изд-во ТРТУ. – 1996. – 358 с.
49. Зилов А.В., Шейлор И.М., Гусова А.А. Возрастной гипогонадизм. Особенности диагностики, клиники и

- лечения // Фарматека (эндокринология). – 2007. – №11(145). – С. 1–6.
50. Зилов А.В.б Шейлор И.М., Гусова А.А. Возрастной гипогонадизм. Особенности диагностики, клиники и лечения // Фарматека (эндокринология). – 2007.– №11(145). – С. 1–6.
 51. Зозуля Ю.А., Барабой В.А. Сутова Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии мозга – М.: Знание, 2000. – 344 с.
 52. Зотов Д.Д., Гротова А.В. Современные методы функциональной диагностики в кардиологии (вопросы и ответы). – Санкт–Петербург: Фолиант, 2002. – 117 с.
 53. Иванов В.К., Цыб А.Ф., Иванов С.И. Ликвидаторы Чернобыльской катастрофы: радиационно–эпидемиологический анализ медицинских последствий. – М.: Галанис, 1999. – С. 60–240.
 54. Избранные вопросы современной проточной цитометрии / под ред.С.В. Хайдукова, А.В.Зурочки. – Челябинск, 2007. – 85с.
 55. Избранные лекции по клинической ревматологии / под ред. Насоновой В.А., Н.В.Бунчука. – Москва:Медицина, 2001. – 270с.
 56. Ильчишина Т.А. Особенности лабораторной диагностики *Helicobacter pylori* и клинического течения хронического гастрита и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки при бациллярно–кокковом диморфизме бактерии : дис. ...канд. мед. наук : спец. 14.00.46, 14.00.47 / Ильчишина Т.А. ; ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России – СПб., 2008. – 136 с.
 57. Ильчишина Т.А. Сравнительная оценка методов диагностики хеликобактериоза при хроническом гастрите и язвенной болезни с учетом бациллярно–кокковой трансформации *Helicobacter pylori* / Т.А. Ильчишина // Автореф. дис. канд. мед. наук. – СПб: 2008. – С.10.
 58. Иммунология и аллергология / под.ред. Воробьева А.А., Быкова А.С., Караулова А.В. – Москва: Практическая медицина. – 2006. – 287с.
 59. Иммунология и аллергология. Стандарты диагностики и лечения / под ред. акад. РАМН, проф. Хаитова Р.М. – М.:Гэотар-Мед, 2001.
 60. Исаков В.А., Домарадский И.В. Хеликобактериоз. – М.: Медпрактика–М, 2003. – 412 с.

61. Истомин А.В. Гигиеническая оценка и прогноз состояния фактического питания отдельных групп населения России / А.В. Истомин, Т.В. Юдина // Гигиена и санитария. – 1996. – № 4. – С. 17–19.
62. Кандрор В.И. Современные проблемы тиреологии // Проблемы эндокринологии – 1999. – Т.45, №1. – С.3–8.
63. Кандрор В.И., Панков Ю.А., Крюкова И.В. Определение антител к тиреоглобулину и микросомальной фракции тиреоцитов и его клинико–диагностическое значение // Метод. письмо. – М.:Мультитест, 1996. – 13с.
64. Карлов В.А., Куликов Ю.А., Ильина Н.Л., Грабовская Н.В. Дисциркуляторная энцефалопатия у больных артериальной гипертензией // Журн невропатол. и психиатр., 1997. – № 5. – С. 15–17.
65. Карпов Р.С., Дудко В.А., Шихулин В.М. и др. Клинико–инструментальная оценка эффективности лечения больных с сочетанным атеросклерозом коронарных, мозговых и периферических артерий // Тер. Архив. – 1992.– Т.63, № 4.– С.90–93.
66. Карпов Ю.А., Сорокин Е.В., Фомичева О.А. Воспаление и атеросклероз: состояние проблемы и нерешенные вопросы // Сердце. – 2003. – Т.2, №4. – С.190–192.
67. Касаткина Э.П., Шилин Д.Е. Радиационная патология щитовидной железы // Проблемы эндокринологии. – 1997. – Т.43, №4. – С.24–29.
68. Кац Г.Л. Колебания кровяного давления под влиянием эмоциональных факторов и холодной пробы у здоровых лиц // Клиническая медицина. – 1960. – №.12. – С. 74–76.
69. Келлер А.А. Медицинская экология / А.А Келлер., В.И.
70. Клиническая иммунология и аллергология / Под ред. Г.Лолора-мл., Т.Фишера, Д. Адельмана, серия «Зарубежные практические руководства по медицине» – М.:Практика, 2000.
71. Кувакин. – СПб.: Петроградский и К, 1998. – 256 с.
72. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. – Санкт–Петербург: Фолиант, 2008. – 549с.
73. Китаева Л.В. Мукоциты с микроядрами и обсемененность кокковыми формами *Helicobacter pylori* в слизистой оболочке желудка человека / Л.В. Китаева, И.А. Михайлова, Д.М. Семов, С.Н. Прошин, В.Ю. Кравцов // Цитология. – 2008. – Том 50, № 2. – С. 160–164.

74. Климов А.Н. Атеросклероз. В кн.: Превентивная кардиология / под. ред. Г.И. Косицкого. –М.: Медицина, 1987. – С.239–316.
75. Климов А.Н. Иммунореактивность и атеросклероз. – Л.: Медицина, 1986.
76. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. – СПб., 1995. – 498с.
77. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. – СПб:Питер, 1999. –505с.
78. Клиническая иммунология / под ред Караулова А.В. – Москва: МИА, 1999. – 603с.
79. Клиническая аллергология / под ред. акад. РАМН, проф. Хаитова Р.М. – М.: МЕДпресс-информ, 2002.
80. Ковтун А.В. Роль некоторых патогенетических аспектов в механизмах формирования и прогрессирования хронической цереброваскулярной недостаточности у участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС: Дис. ... канд. мед. наук. – Р–н/Д. – 1998. –240 с.
81. Комаров А.Л., Панченко Е.П. Роль воспаления в развитии атеротромбоза: «противовоспалительные эффекты клопидогрела» // Фарматека. – 2007. – №8–9. – С.23–28.
82. Кравцов В.Ю. Бациллярные и кокковые формы *Helicobacter pylori* в слизистых ротовой полости и антрума желудка (иммуноцитохимическое исследование) / В.Ю. Кравцов, Я.Я. Мазурова и др. // Сибирский мед. ж–л. – 2008. – №3. – С. 5–9.
83. Кравцов В.Ю. Иммуноцитохимическое исследование кокковых форм *Helicobacter pylori* в биоптатах слизистой оболочки желудка у больных хроническим гастритом / В.Ю. Кравцов, А.М. Никифоров, И.А. Михайлова, С.Н.Прошин, А.С. Кондрашин, М.Г. Кобиашвили // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – №3. – С. 52–54.
84. Краснов В.Н. Юркин М.М., Войцех В.Ф. и др. Психические расстройства у участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС // Соц. и клин. психиатрия. – 1993. – Т 3, вып. 1. – С. 5–20.
85. Кратнов А.Е., Павлов О.Н. С–реактивный белок и антитела к *Helicobacter pylori* у больных ишемической болезнью сердца // Мед. иммунология. – 2007. – Т.9, №4–5. – С. 523–526.
86. Кулешова Э.В., Гусаров Г.В., Лоховинина Н.Л., Цай Н.В., Борисенко Л.В., Кравченко Т.Н. Возможность

- предположительного выявления обструктивного поражения коронарных артерий у больных стенокардией по данным суточного мониторирования ЭКГ и нагрузочных проб // Тер. арх. – 1997. – №4. – С. 26–30.
87. Кушаковский М.С. Гипертоническая болезнь и вторичные артериальные гипертензии. – Л.: Мед., 3-е издание, 1983. – С. 288.
88. Ланг Г.Ф. Гипертоническая болезнь. – Л.: Мед, 1950. – 496 с.
89. Легеза В.И., Антушевич А.Е., Абдуль Ю.А., Астров В.В. Малые дозы облучения и психоэмоциональный стресс // Воен.-мед. журн. – 1996. – № 6. – С. 62–64.
90. Ликвидаторы последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции: патология отдаленного периода и особенности медицинского обеспечения (Руководство для врачей) / Изд. 2-е, перераб. и доп., под ред. профессора С.С. Алексанина. – СПб.:Изд-во «ЭЛБИ-СПб», 2008. – 440 с.
91. Лим Т.Е. Использование методологии оценки риска здоровью населения Санкт-Петербурга в связи с загрязнением атмосферного воздуха / Т.Е. Лим // Донозология . – 2007. – №1. – С. 64–69.
92. Лусс Л.В. Сравнительная оценка диагностической значимости разных методов специфической аллергодиагностики у больных с атопическими заболеваниями / Материалы симпозиума «Новейшие методы диагностики аллергии» в рамках IV Конгресса РААКИ «Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии». – Москва, 2001. – С. 7.
93. Лутай М.И. Атеросклероз: современный взгляд на патогенез // Укр. Кардиол. Журн. – 2004. – №1. – С. 23–24.
94. Максудов Г.А. // Сосудистые заболевания нервной системы / Под ред. Е.В. Шмидта. – М. – 1975. – С. 501–512.
95. Максудов Г.А. // Журн невропатол. и психиатр. – 1962. – № 11. – С. 1620–1622.
96. Марова Е.И. Классификация остеопороза // Остеопороз и остеопатии. – 1998. – № 1. – С. 8–12.
97. Мартынов Ю.С., Гирич Т.И., Кунцевич Г.И., и др. Диагностика, лечение и профилактика ранних стадий недостаточности мозгового кровообращения // Журн невропатол. и психиатр. - 1998. – № 8. – С. 14–18.
98. Мейл Д., Бростофф Дж., Рот Д.Б., Ройтт А. Иммунология./ Москва, «Логосфера». – 2007. – 555 с.

99. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания / Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К, Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.
100. Мерабишвили В.М. Рак желудка: эпидемиология, профилактика, оценка эффективности лечения на популяционном уровне / Практическая онкология: Избранные лекции // В.М. Мерабишвили – СПб.: 2004. – С. 433–442.
101. Мерабишвили В.М. Рак желудка: эпидемиология, профилактика, оценка эффективности лечения на популяционном уровне / Практическая онкология: Избранные лекции // В.М. Мерабишвили – СПб.: 2004. – С. 433–442.
102. Методика определения микроэлементов в диагностируемых биосубстратах атомной спектрометрией с индуктивно связанной аргоновой плазмой / Л.Г. Подунова [и др.] – Методические рекомендации, утв. ФЦ ГСЭН 29.01.2003, 2003.
103. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А.П. Авцын [и др.]; АМН СССР. – М. : Медицина, 1991. – 496 с.
104. Мироджов Г.К. Клиническое значение генотипирования *H. pylori* / Клиническая медицина. // Г.К. Мироджов, Ф.Х. Мансурова, Д.М. Ишанкулова– 2008. №12. – С.8–12.
105. Михайлова И.А. Клинико–диагностическое значение иммуноцитохимического исследования кокко–бацилярного диморфизма *Helicobacter pylori* у больных хроническим гастритом: дис. ...канд. мед. наук : спец. 14.00.46 / Михайлова И.А.; ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России – СПб., 2006. – 117 с.
106. Мищенко В.П., Грицай Н.Н., Литвин А.А. Состояние физиологических защитных систем крови человека в отдаленные периоды после воздействия ионизирующей радиации, связанной с аварией на Чернобыльской АЭС // Гематол. и трансфузиология. – 1993. – Т.38, №3. – С. 30-33.
107. Моисеев В.С. Павликова Е.П., Мерай И.А. Роль воспаления в процессах атерогенеза и развития сердечно–сосудистых осложнений // Врач. – 2003. – №3. – С. 3–7.
108. Моргунов Л.Ю. Остеопороз и возрастной дефицит андрогенов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2007. – №15. – С.82–85.

109. Нагорнев В.А., Восканьянц А.Н. Современные представления о патогенезе атеросклероза // Вестн. РАМН. – 2006. – Т.9–10. – С.66–74.
110. Насонов Е.Л. Глюкокортикоидный остеопороз: современные рекомендации // Новости медицины и фармации. – 2004. – №7 (147). – С. 8–9.
111. Насонов Е.Л. Маркеры воспаления и атеросклероз: значение С-реактивного белка // Кардиология. – 1999. – №2. – С. 81–85.
112. Некрасов В.И. Сравнение элементного состава волос жителей Новосибирска, работающих в атомной промышленности и занятых в непромышленной сфере / В.И. Некрасов, С.В. Ефимов // Микроэлементы в медицине. – 2006. – Т.7, Вып.3. – С. 49–52.
113. Некрасов В.И. Элементный статус лиц вредных и опасных профессий / В.И. Некрасов, А.В. Скальный – М.: РОСМЭМ, 2006. – 229 с.
114. Никифорова И.Д. Состояние скелета у мужчин, участвовавших в ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС // Автореферат дисс.....канд. мед.наук. –СПб., 1999. –15 с.
115. Нягу А.И., Зазимко Р.Н. Состояние вегетативной регуляции сердечно-сосудистой системы у лиц с синдромом вегетативной дистонии, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в результате аварии на чернобыльской АЭС // Журн невропатол. и психиатр. – 1995.– № 4. – С. 32–35.
116. Нягу А.И., Логановский К.Н. Изменения в нервной системе при хроническом воздействии ионизирующего излучения. // Журн. невропатол. и психиатр. – 1997. – № 2. – С.62–69.
117. Нягу А.И., Нощенко А.Г., Логановский К.Н. Отдаленные последствия психогенного радиационного факторов аварии на Чернобыльской АЭС на функциональное состояние головного мозга человека // Журн. Невропатол. и психиатр. – 1992. – № 4. – С. 72–77.
118. Одинак М.М., Вознюк И.А. Новое в терапии при острой и хронической патологии нервной системы. (Нейрометаболическая терапия при патологии нервной системы). – СПб – 2001. – 62 с.
119. Одинак М.М., Михайленко А.А., Иванов Ю.С., Семин Г.Ф. Сосудистые заболевания головного мозга. –2—3, СПб, «Гиппократ». –156с.

120. Остеопороз: диагностика, профилактика и лечение. Клинические рекомендации / Под ред. проф. Л.И. Беневоленской. – М.: «ГЭОТАР–Медиа», 2006. –171с.
121. Палагина М.В., Гельцер Б.И. Перекисное окисление липидов сурфактанта легкого в пострadiационном периоде // Радиационная биология. Радиоэкология. –1994. – т.34, вып.2. – С. 206–209.
122. Панков Д.Д. //Журн. невропатол. и психиатр. – 1998. – № 8. – С. 66.
123. Патология отдаленного периода у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС / Под ред. А.М. Никифорова. – М.: Изд-во "Бином", 2002. – 304 с.
124. Перепич Н.Б. Повреждение миокарда при острой коронарной недостаточности: патогенез и фармакологическая коррекция. // Журн. новые Санкт–Петербургские врачебные ведомости. – 1998.– № 1(3).– С.43–48.
125. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Дисфункция эндотелия – причины, механизмы, фармакологическая коррекция. – СПб., 2003. – С. 6–16.
126. Петунина Н.А., Герасимов Г.А. Аутоиммунный тиреоидит. Современные представления об этиологии, патогенезе, диагностике и лечении // Проблемы эндокринологии. – 1997. –№4. – С. 30–35.
127. Пищухина А.М., Дедов А.В., Панова Т.Н. Клинико–диагностическое значение определения антител к Chlamidia pneumoniae и острофазных белков сыворотки крови при остром коронарном синдроме // Росс. кард. журнал. – 2007. – №4. – С. 34–38.
128. Поворинский А.Г. Заболотных В.А. Пособие по клинической электроэнцефалографии. – Л.:Наука,1987. – 62 С.
129. Поляков А.Я. Здоровье детей и подростков и проблема микроэлементозов / А.Я. Поляков // Актуальные вопросы современной медицины. Новосибирск на рубеже XXI века : IX науч.–практ. конф. врачей. – 1999. – С.86–87.
130. Применение атомно–эмиссионной спектromетрии с возбуждением спектров в дуге постоянного тока для оценки средних уровней содержания макро– и микроэлементов в волосах человека/ Э.А. Гладких, Е.В. Полякова, О.В. Шуваева., Н.Ф. Бейзель // Микроэлементы в медицине. – 2005. – Т. 6, вып. 2. – С. 21–26.

131. Пушкарева Т.А., Корякина Л.Б., Рунович А.А. Критерии оценки дисфункции эндотелия артерий и пути ее коррекции // Клин. лаб. диагностика – 2008. – №5. – С. 3–7.
132. Пыцкий В.И., Адрианова Н.В, Артомасова А.В. Аллергические заболевания. – М.: Триада-Х, 1999. – С. 12-102.
133. Рамендик Г.И. Масс–спектрометрия / Г.И. Рамендик // Горная энциклопедия. – 1987. – Т.3. – С. 266–267.
134. Рафибеков Д.С., Калинин А.П. Аутоиммунный тиреоидит. – Бишкек, 1996. – 158с.
135. Ревич Б.А. Химические элементы в волосах человека как индикатор воздействия загрязнения производственной и окружающей среды / Б.А. Ревич // Гигиена и санитария. – 1990. – №3. – С.55–59.
136. Решетникова О.В., Курилович С.А., Кротов С.А. и др. Неинвазивная диагностика хронического атрофического гастрита при помощи серологического исследования. //Клин. лаб. диагностика. – 2007. –№11. – С.39–41.
137. Риггз Б.Л., Мелтон III Л. Дж. Остеопороз. Пер. с англ. – СПб.: «БИНОМ», «Невский диалект», 2000.
138. Робинс С.ДЖ. Коррекция липидных нарушений (основные принципы и практическое осуществление терапевтических вмешательств). – Москва: «Медицина», 2001 –176с.
139. Рожинская Л.Я. Системный остеопороз. Практическое руководство для врачей. – М.: «Издатель Мокеев», 2000. – 195 с.
140. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. – М.: Мир, 2000. – С. 7–424.
141. Романовская Г.А., Акатова Е.В., Гороховская Г.Н., Аветян Н.Г., Мартынов А.И. Перспективы медикаментозного лечения // Неврология, Психиатрия, Педиатрия. – 2005 – №9 (104). – С. 10.
142. Святогор И.А. Классификация ЭЭГ – паттернов и их нейрофизиологическая интерпретация при дезадаптационных расстройствах (Методические рекомендации). – СПб. 2001. – 24 с.
143. Сепиашвили Р.И., Балмасова И.П. Физиология естественных киллеров./ Москва: Медицина-Здоровье, 2005. – С. 455.
144. Симонов Н.Н. Проблемы диагностики и лечения раннего рака желудка (TisN0M0 и T1N0M0) / Н.Н. Симонов, Л.М. Мяукина, А.В. Филип // Практ. онколог. – 2001. – №3(7). – С.25–29.

145. Система выявления и оздоровления детей групп риска с повышенным содержанием солей тяжелых металлов в биосредах в условиях антропогенного воздействия / А.В. Скальный и [и др.] – СПб. : СПбГМА им. И.И. Мечникова, 2004. – 32 с.
146. Скальная М.Г. Макро– и микроэлементы в питании современного человека: эколого–физиологические и социальные аспекты / М.Г. Скальная, С.В. Нотова. – М. : РОСМЭМ, 2004. – 310 с.
147. Скальная М.Г. Химические элементы–микронутриенты как резерв восстановления здоровья жителей России / М.Г. Скальная, Р.М. Дубовой, А.В. Скальный. – Оренбург : РИК ГОУ ОГУ, 2004. – 239 с.
148. Скальный А.В. Биоэлементы в медицине/ А.В. Скальный, И.А. Рудаков – М. : Мир, 2003. – 272 с.
149. Скальный А.В. Распространенность микроэлементозов у детей в различных регионах России / А. В. Скальный // Геохимическая экология и биогеохимическое районирование биосферы. Матер. Второй Всероссийской школы. Москва, 25–28 января 1999. – 2000. – С. 209–211.
150. Скальный А.В. Физиологические аспекты применения макро– и микроэлементов в спорте / А.В. Скальный. – Оренбург : РИК ГОУ ОГУ, 2005. – 120 с.
151. Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. – М.: Мир, 2003. – 216 с.
152. Смирнова И.Н., Хронические цереброваскулярные заболевания: нарушения перекисного окисления липидов и возможности их фармакологической коррекции. Автореф. дисс. ...к.мед. наук. – М. – 2003. – 28 с.
153. Содержание плутония и некоторых микроэлементов в волосах жителей Беларуси, проживающих на территории, пострадавшей при аварии на Чернобыльской АЭС / А.Ф. Маленченко [и др.] //Гигиена и санитария. – 1997. – №5. – С.19–22.
154. Стулин И.Д., Гуткин А.Б., Овчинников М.В., Сулейманова М.В. Влияние дипиридамола на тромбоцитарную активность и церебральную гемодинамику у больных с поражением сосудов головного мозга. // Достижения клинической фармакологии. – Универсум Паблишинг, 1997. – С.1– 4.
155. Сусликов В.Л. Геохимическая экология болезней / В.Л. Сусликов. – М. : Гелиос АРВ, 1999. – 672 с.

156. Сыромятникова Н.В., Гончарова В.А. Значение нарушений негазообменных функций легких в развитии патологии // Пульмонология. – 1993. – № 2. – С. 30–36.
157. Тельнов В.И. Метаболический статус у людей, подвергшихся хроническому профессиональному облучению в малых дозах // Мед.радиол. и радиац.безопасн. – 1994. – т.39, № 5. – С. 39–43.
158. Титов В.Н. Атеросклероз как патология полиеновых жирных кислот (биологические основы теории атерогенезе). – М.: Фонд «Клиника XXI века», 2002 – 495с.
159. Титов В.Н. Диагностическое значение повышения уровня С-реактивного белка в «клиническом» и «субклиническом» интервалах // Клин. лаб. диагн. – 2004. – №6. – С.3–10.
160. Титов В.Н. С-реактивный белок. Активация воспаления путем усиления поглощения жирных кислот клетками рыхлой соединительной ткани // Клин. лаб. диагностика. – 2003. – №7. – С.3–9.
161. Титов В.Н. С-реактивный белок: гетерогенность и функциональная связь с окислительным стрессом как с маркером воспаления // Клин. лаб. диагностика. – 2004. – С.3–11.
162. Токсичные компоненты пожаров / Н.Ф. Маркизова, Т.Н. Преображенская, В.А. Башарин, А.Н. Гребенюк. – СПб.: Фолиант, 2008. – 208 с.
163. Тутельян В.А. Биологически активные добавки к пище: законодательно–нормативная база оборота в Российской Федерации / В.А. Тутельян, Б.П. Суханов // Вестник Санкт–Петербургской государственной медицинской академии им. И.И.Мечникова. – 2007. – №2. – С. 77 – 85.
164. Фокин А.С. Нейрогенная гиперхолестеринемия и атеросклероз. – ЭЛБИ – СПб. – 2001. – 192 с..
165. Фролькис В.В. Старение: Нейрогуморальные механизмы – Киев, 1981.
166. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология . – Москва: Медицина, 2000. – 429с.
167. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. – М.: Издательство ВНИРО, 1995. – С. 178-202.
168. Хмара И.М., Гаврилова А.Р., Шемякина Е.В., Зеленко С. М. Состояние перекисного окисления липидов у детей, больных аутоиммунным тиреоидитом, проживающих на территориях радиоактивного загрязнения // Тез.Респ.конф. "Научно–практические аспекты сохранения здоровья людей,

- подвергшихся радиационному воздействию в результате аварии на Чернобыльской АЭС". – Минск. – 1991. – С. 153–154.
169. Холодова Н.Б., Кузнецова Г.Д., Зубовский Г.А. и др. Отдаленные последствия лучевого воздействия на нервную систему // Журн. невропатол. и психиатр. – 1996. – № 5. – С. 29–33.
170. Хубутя М.Ш., Шевченко О.П. Гомоцистеин при коронарной болезни сердца и сердечного трансплантата. –М.: Реафарм, 2004. – 271с.
171. Цыб А.Ф., Каплан М.А., Манаев И.В. и др. Диагностика и лечение заболеваний внутренних органов у ликвидаторов аварии на ЧАЭС // Всеросс. конф. "Радиоэкологические, медицинские и социально-экономические последствия аварии на Чернобыльской АЭС": Тез.докл. – М., 1995. – С. 101.
172. Черешнев В.А, Юшков Б.Г., Климин В.Г., Лебедева Е.В. Иммунофизиология. – Екатеринбург, 2002. – 256с.
173. Черняева Т.К. Содержание тяжелых металлов в волосах детей в промышленном городе / Т.К. Черняева, Н.А. Матвеева, Ю.Г. Кузьмичев // Гигиена и санитария. – 1997. – №3 – С. 26–28
174. Черток В.М., Пиголкин Ю.И. Иннервация пилальных артерий разного диаметра человека при атеросклерозе //Журн. невропатол. и психиатр. 1990. – № 12. – С. 43–46.
175. Шантырь И.И., Астафьев О.М., Мухина Н.А., Макарова Н.В. Эпидемиологическая характеристика состояния здоровья ликвидаторов // Ликвидаторы последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции: патология отдаленного периода и особенности медицинского обеспечения (Руководство для врачей) / Изд. 2-е, перераб. и доп., под ред. профессора С.С. Алексанина. – СПб.:Изд-во «ЭЛБИ-СПб», 2008. – С. 30–51
176. Шантырь О.М., Астафьев О.М., Макарова Н.В. и др. Инвалидность и смертность ликвидаторов аварии на ЧАЭС: Информ. письмо. – СПб. – 2000.– 35 с.
177. Шарпаты В.А. О свободнорадикальных механизмах радиационной модификации сахарного фрагмента ДНК // Радиационная биология. Радиоэкология. –1997. –т.37, вып.4. –С. 508–510.
178. Шевченко О.П. Гомоцистеин – новый фактор риска атеросклероза и тромбоза // Клин. лаб. диагностика – 2004. – №10. – С. 25–31.

179. Шилин Д.Е. Исследование антитиреоидных антител и тиреоглобулина в диагностике и контроле терапии заболеваний щитовидной железы // Лаборатория. – 1998. – №11. – С.3–6.
180. Шмидт Е.В. Классификация сосудистых поражений головного и спинного мозга // Журн. невропатол. и психиатр. – 1985. – № 9. – С. 1284–1288.
181. Шмырев В.И., Курильченко Д.С. Дипиридамол (курантил N) как антиагрегантный препарат выбора в лечении острых нарушений мозгового кровообращения // Журн. «Фарматека», М. – 2003. – 04 (67). – С. 1–3.
182. Шпрах В.В., Будуковская Н.Л., Капанадзе Л.В., Михалевич И.М. Варианты клинического течения дисциркуляторной энцефалопатии и значение некоторых факторов риска // Журн. невропатол. и психиатр. – 1993. – С.18–23.
183. Шутов А.А., Пустоханова Л.В. Вегетативные нарушения в формировании клинических проявлений начальных форм сосудистых поражений головного мозга // Журн. невропатол. и психиатр. – 1992. – С. 5–12.
184. Экология человека в изменяющемся мире / Н.А. Агаджанян [и др.] ; под ред. В.А. Черешнева. – Екатеринбург : УрО РАН, 2006. – 562 с.
185. Ярилин А.А. Основы иммунологии. – Москва:Медицина, 1999. – 606с.
186. Tzoulaki J. et al. // Circulation. – 2005. – Vol. 112. – P. 976–983.
187. Abedin M, Tintut Y, Demer LL. Vascular calcification: mechanisms and clinical ramifications // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2004. – Vol.24. – P. 1161–1170.
188. Aebi H. Catalase in vitro // Methods. Enzymol. – 1984. – Vol. 2, 19. – P. 673 – 684.
189. Agnihotri R., Crawford H., Haro H. et al. Osteopontin, a novel substrate for matrix metalloproteinase–3 (stromelysin–1) and metalloproteinase–7 (matrilysin) //J. Biol. Chem. – 2001. –Vol.276. – P. 28261–28267.
190. Akerman K., Kuronen I., Kajander E. Scanning electron microscopy of nanobacteria–novel biofilm producing organisms in blood // Scanning. – 1993. – Vol.15. – P. 90–91.
191. Amory J., Watts N., Easley K. et al. Exogenous testosterone or testosterone with finasteride increases bone mineral density in older men with low serum testosterone // J. Clin. Endocrin. Metab. – 2004. – Vol.89. –P. 503–510.

192. Anderson T.J., Overhiser R.W., Haber H. et al. A comparative study of four antihypertensive agents on endothelial function in patients with coronary disease // *J. Amer. Coll. Cardiology*. – 1998. – Vol. 31, (Suppl. A). – P. 327.
193. Anticevich S.Z., Hughes J.M., Black J.L., Armour C.L. Induction of hyperresponsiveness in human airway tissue by neutrophils—mechanism of action // *Clin.Exp.Allergy*. –1996. – Vol. 26. –P. 549–556.
194. Asou Y, Rittling SR, Yoshitake H et al. Osteopontin facilitates angiogenesis, accumulation of osteoclasts, and resorption in ectopic bone // *Endocrinology*. – 2001. – Vol.142. – P.1325–1332.
195. Asou Y., Rittling S., Yoshitake H. et al. Osteopontin facilitates angiogenesis, accumulation of osteoclasts and resorption in ectopic bone // *Endocrinology*. – 2001. – Vol.142. – P.1325–1332.
196. Axon A.T. Eradication of *Helicobacter pylori*: omeprazole in combination with antibiotics / A.T. Axon, P. Moayyedi // *Scand. J. Gastroenterol.* – 1996. – Vol.215(1). – P.82–89.
197. Baecher-Allan C., Brown J. A., Freeman G. J., Haler D. A. CD4+CD25^{high} regulatory cells in human peripheral blood // *The Journal of Immunology*. –2001. – Vol.167. – P. 1245-1253.
198. Baecher-Allan C., Wolf E., Hafler D.A. MHC class II expression identifies functionally distinct human regulatory T cells // *J.Immunology*. –2006. –Vol. 176, № 8. – P. 4622-4631.
199. Barnard R.J. Effect of life–style modification on serum lipids// *Arch.Intern.Med.*. –1991. –V.151. –P.1389–1394
200. Bartrop R.W., Luckhurst E., Lazarus L. et al. Depressed lymphocyte function after bereavement // *Lancet/* – 1977. – Vol.1 – P. 834–836.
201. Berkenboom G., Crasset V., Giot C. et al. Endothelial function of internal mammary artery in patients with coronary artery disease and in cardiac transplant recipients // *Amer. Heart J.* – 1998. – Vol.135. – P. 488–494.
202. Berliner J.A, Heineke J.W. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis // *Free Radical Biology & Medicine*. – 1996. – Vol.20.,N5. –P.707–727.
203. Biasucci L. CDC/AHA Workshop on Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: Clinical Use of Inflammatory Markers in Patients with Cardiovascular

- Diseases: A Background Paper // *Circulation*. – 2004. – Vol.110, № 25. – P. 560–567.
204. Bills T.K., Smith I.R., Silver M.I.// *Trombos, haemostas.* – 1978. – № 2. – P. 219–223.
205. Bostrom K, Tsao D, Shen S. et al. Matrix GLA protein modulates differentiation induced by bone morphogenetic protein–2 in C3H10T1/2 cells // *J Biol Chem*. – 2001. – Vol. 276. – P. 14044–14052.
206. Bostrom K, Watson KE, Horn S. et al. Bone morphogenetic protein expression in human atherosclerotic lesions // *J Clin Invest*. – 1993. Vol. 91. – P. 1800–1809.
207. Boström K. Proinflammatory Vascular Calcification // *Circ. Res*. – 2005. –Vol.96. – P. 1219–1220.
208. Bouletreau PJ, Warren SM, Spector JA. et al. Hypoxia and VEGF up–regulate BMP–2 mRNA and protein expression in microvascular endothelial cells: implications for fracture healing // *Plast Reconstr Surg*.– 2002. – Vol.109. – P. 2384–2397.
209. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation // *Nature*. – 2003. – Vol.423. – P. 337–342.
210. Bremner W., Vitietto M., Prinz P. Loss of circadian rhythmicity in blood testosterone levels with aging in normal men // *Clin. Endocrinol. Metab.* – 1983. –Vol.56. –P.1278–1282.
211. Brenciaglia M.I. *Helicobacter pylori*: cultivability and antibiotic susceptibility of coccoid forms / M.I. Brenciaglia, A.M. Fornara, M.M. Scaltrito, F. Dubini // *Int. J. Antimicrob. Agents*. – 2000. – Vol.13(4). – P.237–241.
212. Bronchoalveolar lavage finding in firefighters / C.E. Bergstrom, A. Eklund, M. Scold, G. Tornling // *Am. J. Ind. Med.* – 1997. – Vol. 32. – P. 332–336.
213. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR. et al. Osteoprotegerin–deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification // *Genes Dev*. – 1998. Vol.12. – P. 1260–1268.
214. Castro Cabezas M., Erkelens D.W., van Dijk H. Free fatty acids: mediators of insulin resistance and atherosclerosis // *Ned. Tijdschr. Geneesk.* – 2002. – Vol.3. – P.103–109.
215. Chellaiah M., Kizer N., Biswas R. et al. Osteopontin deficiency produces osteoclast dysfunction due to reduced CD44 surface expression // *Mol. Biol. Cell*. – 2003. – Vol.14. – P.173–189.
216. Chui B., Vira E., Tucker W. et al. *Chlamidia pneumoniae*, cytomegaloviruses and herpes simplex virus in atherosclerosis of the carotid artery // *Circulation*. – 1997. – Vol.96. – P. 2144–2148.

217. Ciftcioglu N., Aho K., McKay D. et al. Are apatite nanoparticles safe // *Lancet*. – 2007. – Vol.369. – P.2078.
218. Cola C, Almeida M, Li D, Romeo F, Mehta JL. Regulatory role of endothelium in the expression of genes affecting arterial calcification // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2004. – Vol. 320. – P. 424–427.
219. Corder R. et al. Antiatherogenic effects of red wine // *Nature*. – 2001. – Vol.414. – P. 863–864.
220. Correa P. Helicobacter pylori and gastric cancer / *Cancer Res*. // P. Correa – 1988. – Vol. 48. – P. 3554–3560.
221. Correa P. Helicobacter pylori and gastric cancer / P. Correa // *Cancer Res*. – 1988. – Vol. 48. – P. 3554–3560.
222. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process – first American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention / P. Correa // *Cancer Res*. – 1992. – Vol.52. – P.6735–6740.
223. Csiszar A, Smith KE, Koller A. et al. Regulation of bone morphogenetic protein–2 expression in endothelial cells: role of nuclear factor–kappaB activation by tumor necrosis factor–alpha, H2O2, and high intravascular pressure // *Circulation*. – 2005. – Vol.111. – P. 2364–2372.
224. Culler P. Evidence that triglycerides are an independent coronary heart disease risk factor // *Am J Cardiol*. – 2000. – Vol.86, № 9. – P. 943–949.
225. Danesh J., Phil D., Wheeler J.D. et al. C–reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease // *N Engl J Med*. – 2004. – Vol.350. – P.1387–1397.
226. Danesh J., Wong Y., Ward M. et al. Chronic infection with Helicobacter pylori, Chlamydia pneumoniae, or cytomegalovirus: population based study of coronary heart disease // *Heart*. – 1999. – Vol.81. – P.245–247.
227. Davies MR, Lund RJ, Hruska KA. BMP–7 is an efficacious treatment of vascular calcification in a murine model of atherosclerosis and chronic renal failure // *J Am Soc Nephrol*. – 2003. – Vol. 14. P. 1559–1567.
228. De Backerb, Korntzer M., Kittel F. Behavior. Stress and Psychosocial Traits as Risk Factors // *Preventive Medicine* – 1983. V.12. – P.32–36.
229. Demer LL. A skeleton in the atherosclerosis closet // *Circulation*. – 1995. – Vol. 92. – P. 2029–2032.
230. Demerath E, Towne B, Blangero J, Siervogel R. The relationship of soluble ICAM–1, VCAM–1, P–selectin and

- E-selectin to cardiovascular disease risk factors in healthy men and women // *Ann Hum Biol.* – 2005. – Vol. 28, №6. – P. 664–678.
231. Denhardt D., Giachelli C., Rittling R. Role of osteopontin in cellular signaling and toxicant injury // *Annu. Rev. Pharmacol. Noxicol.* – 2001. – Vol.41. – P.723–749.
232. Denke M.A. Cholesterol-lowering diets // *Arch.Intern.Med.* – 1995. –V.155. –P.17–26
233. Developed in Collaboration with the American College of Emergency Physicians, the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and the Society of Thoracic Surgeons Endosed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary rehabilitation and the Society for Academic Emergency Medicine // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2007. – Vol.50. – P. 1–157.
234. Diaz-Perales A., Lombardero M., SÁnchez-Monge R., et al. Lipid-transfer proteins as potential plant panallergens: cross-reactivity among proteins of *Artemisia* pollen, *Castanea* nut and *Rosaceae* fruits, with different IgE-binding capacities // *Clinical & Experimental Allergy.* – 2000. – Vol. 30, N 10. – P. 1403.
235. Dhore CR, Cleutjens JP, Lutgens E. et al. Differential expression of bone matrix regulatory proteins in human atherosclerotic plaques // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2001. – Vol. 21. – P.1998–2003.
236. Diagnosis of lung cancer based on metal contents in serum and hair using multivariate statistical methods / Y. Ren, Z. Zhang [et al.] // *Talanta* – 1997. – Vol. 44. – Iss.10. – P.1823–1831.
237. Dorai H, Vukicevic S, Sampath TK. Bone morphogenetic protein-7 (osteogenic protein-1) inhibits smooth muscle cell proliferation and stimulates the expression of markers that are characteristic of SMC phenotype in vitro // *J Cell Physiol.* – 2000. – Vol.184. – P. 37–45.
238. Drancourt M., Jacomo V., Lepidi H. et al. Attempted isolation Nanobacterium sp. Microorganisms from upper urinary tract stones // *J. Clin. Microbiol.* – 2003. – Vol.41. – P.368–372.
239. Ducy P, Zhang R, Geoffroy V. et al. *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation // *Cell.* – 1997. – Vol. 89. – P. 747–754.
240. Elemental anomalies in hair as indicators of endocrinologic pathologies and deficiencies in calcium and bone metabolism / N. Miekeley, L.M. DeCarvalho Fortes, C.L. Porto da Silveira

- and M.B. Lima // *J. of Trace Elements in Med. And Biol.* – 2001. – Vol 15. – Iss.1. – P. 46–55.
241. Emerit I., Alaoui–Youssefi A., Cernjavski L., Gentilini M. et al. Oxidative stress and low dose irradiation // *Low doses of ionizing radiation: biological effects and regulatory control contributed papers International Conference held in Seville.– Spain, 1997.– P. 1–5.*
242. European guidelines on cardiovascular disease and prevention in clinical practice // *Eur. J. Cardiovascular. Prevent. Rehabil.* – 2003. – Vol.10, (Suppl.1) – P. 1–78.
243. Folk R. SEM imaging of bacteria and nanobacteria in carbonate sediments and rocks // *J. Sediment Petrol.* – 1993. – Vol.63. – P. 990–994.
244. Fox B.H. Premorbid psychological factors as related to cancer incidence // *Bechov. Med.* – 1978. – V.1. – P.45–133.
245. Fox J.G., Wang T.C. Inflammation, atopy and gastric cancer / *J. clin. Invest.* // J.G. Fox, T.C. Wang– 2007. – Vol.117. – P.60–69.
246. Franzen A., Heinegard D. Isolation and characterization of two sialoproteins present only in bone calcified matrix // *Biochem. J.* –1985. –Vol.232. –P.715–724.
247. Fried R. Enzymatic and non–enzymatic assay of superoxide dismutase // *Biochemie.* –1975. –Vol. 57, 15. – P. 657–660.
248. Galvin KM, Donovan MJ, Lynch CA. et al. A role for smad6 in development and homeostasis of the cardiovascular system // *Nat Genet.* – 2000. – Vol. 24. – P.171–174.
249. Garcia–Palmieri M.R. The endothelium in health and in cardiovascular disease // *Proc. Roy. Health Sci. J.* – 1997. – Vol. 162. – P. 136–141.
250. Genta R., Rugge M. Assessing risks for gastric cancer: New tools for pathologists. // *World J. gastroenterol.* – 2006 – Vol12. – T.35. – P. 5622–5627
251. Giachelli CM, Bae N, Almeida M. et al. Osteopontin is elevated during neointima formation in rat arteries and is a novel component of human atherosclerotic plaques // *J. Clin. Invest.* – 1993. – Vol.92. – P. 1686–1696.
252. Goodison S, Urquidi V, Tarin D. CD44 cell adhesion molecules // *Mol Pathol.* – 1999. – Vol.52. – P. 189–196.
253. Gray A., Feldman H., McKinlay J. et al. Age, disease, and changing sex–hormone levels in middle–aged men: results of the Massachusetts male aging study // *Clin. Endocrinol.* – 1991. – Vol.73. – №2. – P. 1016–1025.

254. Gresele P, Zoja C, Deckmyn H. et al. // *Mrombolis and Haemostatic.* –1983.– Vol. 50. P. 852–856.
255. Gupta S. Chronic infection in the aetiology of atherosclerosis – focus on Chlamydia // *Atherosclerosis.* – 1999. –Vol.143. – P.1–6.
256. Gupta S., Camm A. Chronic infection in the etiology of atherosclerosis – the case for Chlamydia pneumoniae // *Clin. Cardiol.* – 1997. – Vol.20. – P.829–836.
257. Gupta S., Camm A. Is there an infective aetiology to atherosclerosis? // *Drugs Aging.* – 1998. Vol.13. – P. 1–7.
258. Hachinski V.C., Potter P.,Verskey H.//*Arch Neurol.* – 1987. – Vol. 44. – P. 21–23.
259. Hagberg J.M., Park J.J., Brown M.D. The role of exercise training in the treatment of hypertension: an update // *Sports Med.* – 2000. – Vol.30, №3. – P. 193–206.
260. Haim M, Behar S. Soluble intercellular adhesion molecule–1 and long–term risk of acute coronary events in patients with chronic coronary heart disease // *J. Am. Coll. Cardiol.,* 2002. –Vol. 39. – P. 1133–1138.
261. Handa N., MatsumotoM., Maeda H. et al. Ultrasonic evaluation of early carotid atherosclerosis // *Stroke.* – 1990. – Vol. 21. P.1567–1572.
262. Hao H, Hirota S, Ishibashi–Ueda H. et al. Expression of matrix Gla protein and osteonectin mRNA by human aortic smooth muscle cells // *Cardiovasc Pathol.* – 2004. – Vol. 13. – P.195–202.
263. Haynes W.G., Ferro C.E., O’Kane K. et al. Systemic endothelin receptor blockade decreases peripheral vascular resistance and blood pressure in man // *Circulation.* – 1996. – Vol. 93. – P. 1860–1870.
264. Health and environmental consequences of the World Trade Center disaster / P.J. Landrigan, P.J. Liroy. G.Thurston [et al.] // *Environ Health Perspect.* – 2004. – Vol. 112. – P. 731–739.
265. Heiss A, DuChesne A, Denecke B. et al. Structural basis of calcification inhibition by alpha 2–HS glycoprotein/fetuin–A. Formation of colloidal calciprotein particles // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278. – P. 13333–13341.
266. Helluin O., Chan C., Vilaire G. et al., The activation state of alphavbeta 3 regulates platelet and lymphocyte adhesion to intact and thrombin–cleaved osteopontin // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol.275. – P.18337–18343.
267. Herholz K., Heindel W., Rackl A. et al. // *Arch Neurol.* – 1990. –Vol. 47. – P. 392–396.

268. Hermanek P. The pathologist and the residual tumor classification / P. Hermanek, C. Wittekind // *Path. Res. Pract.* – 1994. – Vol.190. – P. 115–123.
269. Herrmann SM, Whatling C, Brand E. et al. Polymorphisms of the human matrix gla protein (MGP) gene, vascular calcification, and myocardial infarction // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2000. – Vol. 20. – P. 2386–2393.
270. Hiltermann T.J.N., Peters E.A., Alberts B., Kwikkers K. et al. Ozone-induced airway hyperresponsiveness in patients with asthma: role of neutrophils-derived serine proteinases // *Free Radic.Biol.Med.* –1998. –Vol. – 24. – P. 952–958.
271. Hirota S, Imakita M, Kohri K. et al. Expression of osteopontin messenger RNA by macrophages in atherosclerotic plaques. A possible association with calcification // *Am. J. Pathol.* – 1993. – Vol.143. – P. 1003–1008.
272. Hofbauer LC, Shui C, Riggs BL, Dunstan CR, Spelsberg TC, O'Brien T, Khosla S. Effects of immunosuppressants on receptor activator of NF-kappaB ligand and osteoprotegerin production by human osteoblastic and coronary artery smooth muscle cells // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2001. – Vol.280. – P. 334–339.
273. Ikeda T, Shirasawa T, Esaki Y. et al. Osteopontin mRNA is expressed by smooth muscle-derived foam cells in human atherosclerotic lesions of the aorta // *J Clin Invest.* – 1993. – Vol.92. – P. 2814–2820.
274. Induced sputum assessment in New York City firefighters exposed to World Trade Center dust E.M. Fireman, Y. Lerman, E. Ganor [et al.] // *Environ Health Perspect.* – 2004. – Vol. 112, № 15. – P. 1564–1569.
275. International Agency for Research on Cancer. Anonymous live flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, France: IARC Monogr. Eval. Carcin. Risks Hum. – 1994. – Vol. 61. – P. 1–241.
276. Izzo J., Black H. Hypertension Primer // American Heart Association. – 2003. – P. 189–192.
277. Jaskowski T.D. Immunoglobulin A antibodies to *Helicobacter pylori* / T.D. Jaskowski et al. // *J. Clin. Microbiol.* – 1997. – Vol. 35. – 2999–3000.
278. Jenny N.S., Arnold A.M., Kuller L.H., Sharrett A.R., Fried L.P., Psaty B.M., Tracy R.P. Soluble intracellular adhesion molecule-1 is associated with cardiovascular disease risk

- and mortality in older adults // *J Thromb Haemost.* – 2006 – Vol.4, №1. – P. 107–113.
279. Jeziorska M, McCollum C, Wooley DE. Observations on bone formation and remodeling in advanced atherosclerotic lesions of human carotid arteries // *Virchows Arch.* – 1998. – Vol.433. – P.559–565.
280. Jie KS, Bots ML, Vermeer C. et al. Vitamin K intake and osteocalcin levels in women with and without aortic atherosclerosis: a population-based study // *Atherosclerosis.* – 1995. – Vol.116. – P.117–123.
281. Jono S, Ikari Y, Vermeer C. et al. Matrix Gla protein is associated with coronary artery calcification as assessed by electron-beam computed tomography // *Thromb Haemost.* – 2004. – Vol.91. – P.790–794.
282. Julian D., Camm A., Fox K., et al. Diseases of the heart // 2nd ed. 1996. – P. 48–50.
283. Kajander E., Kuronen I., Akerman K. et al. Nanobacteria from blood, the smallest culturable autonomously replicating agent of Earth // *SPIE Proc.* – 1997. – Vol.3111. – P.420–428.
284. Karsenty G. The complexities of skeletal biology // *Nature.* – 2003. – Vol. 423. – P. 316–318.
285. Kartzman R. /In: Merritts textbook of Neurology. Ed. P. Lewis. Philadelphia – London 1989. – P.3–9.
286. Kawamoto R., Doi T., Tokunaga H. An association between an antibody against *Chlamydia pneumoniae* and common carotid atherosclerosis // *Inter. Med.* – 2001. – Vol.40. – P.208.
287. Kertesz A., Polk M., Carr T. // *Arch Neurol.* – 1990. – Vol. 47. – P.387–391.
288. Ketteler M. Fetuin-A and extraosseous calcification in uremia // *Curr Opin Nephrol Hypertens.* – 2005. – Vol.14. – P.337–342.
289. Kobari M., Meyer J.S., Ichijo M. // *Arch Neurol.* – 1990. – 47. – P. 161–165.
290. Kondos GT, Hoff JA, Sevrukov A. et al. Electron-beam tomography coronary artery calcium and cardiac events: a 37-month follow-up of 5635 initially asymptomatic low- to intermediate-risk adults // *Circulation.* – 2003. – Vol.107. – P. 2571–2576.
291. Kosunen T.U. Antibody titers in *Helicobacter pylori* infection: implications in the follow-up of antimicrobial therapy / T.U. Kosunen // *Ann. Med.* – 1995. – Vol.27. – P. 605–607.

292. Kumeda Y. Metabolic syndrome and magnesium / Y. Kumeda, M. Inana // *Clin. Calcium*. – 2005. – 15, №11. – P. 1859–1866.
293. Kusano K. Helicobacter pylori in the palatine tonsils of patients with Ig A nephropathy compared with recurrent pharyngotonsillitis / K.Kusano, O. Tokunaga, T. Ando, A. Inokuchi // *Hum. Pathol.* – 2007. – [Epub ahead of print].
294. Lee Kum–Tatt, Tan It–Koon . A new colorimetric method for the determination of glutathione in erythrocytes // *Clinica Chimica Acta*. –1974. –Vol. 53, 1 2. –P. 153–161.
295. Libby P., Egan D., Skarlatos S. Roles of infections agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research // *Circulation*. – 1997. – Vol.96. – P.4095–4103.
296. Lomashvili KA, Cobbs S, Hennigar RA. Et al. Phosphate–induced vascular calcification: role of pyrophosphate and osteopontin // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2004. – Vol. 15. – P. 1392–1401.
297. Luo G, Ducey P, McKee MD. et al. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein // *Nature*. – 1997. – Vol.386. – P. 78–81.
298. Macardle P.J., Weedon H., Fusco M. The antigen receptor complex on cord B lymphocytes // *Immunology*. – 1997. – Vol. 90. – P. 376–382.
299. Mach F., Lovis C., Gaspoz J.–M., Unger P.F. et al. C–reactive protein as a marker for acute coronary syndrome // *Eur. Heart. J.* – 1997. – Vol.9. – P.1897–1902.
300. Malkin CJ, Pugh PJ, Jones RD, Jones TH, Channer KS. Testosterone as a protective factor against atherosclerosis – immunomodulation and influence upon plaque development and stability.// *J. Endocrinol.* –2003. –178(3). –P.373–380.
301. Masson D. Evenements psycho–sociaux a risques Schweiz. Med. Wsohr. – 1987. – V.117. – N. 3. – P. 103–106.
302. Matsuzaki K, Udagawa N, Takahashi N. et al. Osteoclast differentiation factor (ODF) induces osteoclast–like cell formation in human peripheral blood mononuclear cell cultures // *Biochem Biophys Res Commun.* – 1998. – Vol.246. – P. 199–204.
303. McCormick R. Osteoporosis: Integrating biomarkers and other diagnostic correlates into the management of bone fragility // *Alternative Medicine Review*. – 2007. – Vol.12, №2. – P. 113–145.

304. Meleady R., Daly L., Graham J. et al. Homocystein and vascular disease—are vitamins protective? // *Science*. –1995. –V.143. –P. 1443–1445.
305. Melnick J., Adam E., Bakey M. Cytomegalovirus and atherosclerosis // *Biosassay*. – 1995. – Vol.17. – P. 899–903.
306. Mendall M., Patel P., Ballan L. et al. C–reactive protein and its relation to cardiovascular risk factor: a population based cross–section study // *Brit. Med. J.* – 1996. – Vol.312. – P. 1061–1065.
307. Migneco A., Ojetti V., Specchia L. et al. Eradication of *Helicobacter pylori* infection improves blood pressure values in patients affected by hypertension // *Helicobacter*. – 2003. – Vol.8. – P.585–589.
308. Miyauchi A, Alvarez J, Greenfield EM. et al. Recognition of osteopontin and related peptides by an $\alpha v \beta 3$ integrin stimulates immediate cell signals in osteoclasts // *J Biol Chem*. – 1991. – Vol.266. – P. 20369–20374.
309. Mody N, Parhami F, Sarafian TA., Demer LL. Oxidative stress modulates osteoblastic differentiation of vascular and bone cells // *Free Radic Biol Med*. – 2001. – Vol. 31. – P. 509–519.
310. Moison R.M. Induction of lipid peroxidation of pulmonary surfactant by plasma preterm babies // *Lancet*. –1993. –Vol. 341. –P. 79–82.
311. Newman B, Gigout LI, Sudre L. et al. Coordinated expression of matrix Gla protein is required during endochondral ossification for chondrocyte survival // *J Cell Biol*. – 2001. – Vol. 154. – P. 659–666.
312. Neyfakh E.A., Alimbekova A.J., Ivanenko G.F. Radiosensitive monitoring and antioxidant treatment of chronic low–dose radiogenic lipoperoxidic pathologies for Chernobyl–toched children // International conference "Diagnosis and treatment of radiation injury". –Rotterdam, 1998. –P. 107.
313. Ngeh J., Gupta S. *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis: causal or coincidental link? // *ASM News*. – 2000. –Vol.66. – P.732–737.
314. Nicholson A., Haijar D. Herpes viruses in atherosclerosis and thrombosis. Etiologic agent or undildquitos bystanders? // *Arterioscler. Tromb. Vase. Boil*. – 1998. – Vol.18. – P. 339–348.
315. Niessen H., Krijnen P., et al. Intercellular Adhesion Molecule–1 in the Heart // *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, November 1, –2002;. – Vol. 973, №1. – P. 573 – 585.

316. Nieto F. Infections and atherosclerosis: new clues from old hypothesis? // *Am. J. Epidemiol.* – 1998. – Vol.148. – P. 937–948.
317. Nilsson H.O. Effect of cold stravation, acid stress, and nutriens on metabolic activiti of *Helicobacter pylori* / H.O. Nilsson, J. Blom, W.A. Al-Sound, A. Ljungh // *Applied and Environmental Microbiology.* – 2002. – Vol.68, №1. – P.11–19.
318. Nishio S., Hatanaka M., Takeda H. et al. Calcium phosphate crystal-associated proteins: alpha2-HS-glucopeptin, protrombin F1 and osteopontin // *Mol. Urol.* – 2000. – Vol.4. – P. 383–390.
319. Nishio Y, Dong Y, Paris M. et al. Runx2-mediated regulation of the zinc finger Osterix/Sp7 gene // *Gene.* – 2006. – Vol. 372. – P. 62–70.
320. Noll G, Wenzel RR, Schneider M, Oesch V, Binggeli C, Shaw S, Weidmann P, Luscher TF. Increased activation of sympathetic nervous system and endothelin by mental stress in normotensive offspring of hypertensive parents // *Circulation.* – 1996. Vol. 93. – P. 866–869.
321. Nomura S., Wills A., Edwards D. Developmental expression of 2 ar (osteopontin) and SPARC (osteonectin) RNA as revealed by in situ hybridization // *J. Cell. Biol.* – 1988. – Vol.106. – P.441–450.
322. Notelovitz M. Androgen effects on bone and muscle. // *Fertil. Steril.* –2002. –77. Suppl. 4 –P.34–41.
323. O'Brien ER, Garvin MR, Stewart DK. Et al. Osteopontin is synthesized by macrophage, smooth muscle, and endothelial cells in primary and restenotic human coronary atherosclerotic plaques // *Arterioscler Thromb.* – 1994. – Vol.14. – P. 1648–1645.
324. Ohmori R, Momiyama Y, Taniguchi H. et al. Plasma osteopontin levels are associated with the presence and extent of coronary artery disease // *Atherosclerosis.* – 2003. – Vol.170. – P.333–337.
325. Otawara Y, Price PA. Developmental appearance of matrix GLA protein during calcification in the rat // *J Biol Chem.* – 1986. – Vol.261. – P. 10828–10832.
326. Pampena D., Robertson K., Litvinova O. et al. Inhibition of hydroxyapatite formation by osteopontin phoshopeptides // *Biochem. J.* – 2004. –Vol.378. – P. 1083–1087.
327. Park A.M. Oxygen tension regulates reactive oxygen generation and mutation of *Helicobacter pylori* / A.M. Park, Q. Li, K.

- Nagata, T. Tamura // *Free Radic. Biol. Med.* – 2004. – Vol.36, № 9. – P. 1126–1133.
328. Pick A., Keisari Y. Superoxide anion and hydrogen peroxide production by chemically elicited peritoneal macrophages // *Cellular. Immunol.*–1981. – Vol. 59. – P. 301–308.
329. Poser J.W., Esch F.S., Ling N.C., Price P.A. Isolation and sequence of the vitamin K–dependent protein from human bone // *J. Biol. Chem.* – 1980. – Vol. 255. – P. 8685–8691.
330. Price PA, Faus SA, Williamson MK. Warfarin causes rapid calcification of the elastic lamellae in rat arteries and heart valves // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 1998. – Vol.18. –P. 1400 –1407.
331. Price PA, Fraser JD, Metz–Virca G. Molecular cloning of matrix Gla protein: implications for substrate recognition by the vitamin K–dependent gamma–carboxylase // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 1987. – Vol.84. – P. 8335–8339.
332. Price PA, June HH, Buckley JR, Williamson MK. Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2001. Vol.21. – P.1610–1616.
333. Price PA, Urist MR, Otawara Y. Matrix Gla protein, a new γ -carboxyglutamic acid–containing protein which is associated with the organic matrix of bone // *Biochem Biophys Res Commun.* – 1983. – Vol.117. – P. 765–771.
334. Raoult D., Drancourt M., Nappes C., Azza S. et al. Nanobacteria are mineralo fetuin complexes // *PLoS Pathog.* – 2008. – Vol.4, №2. – P.1371–1381.
335. Regan A., Berman J. Osteopontin: a key cytokine in cell–mediated and granulomatous inflammation // *Inf. J. Exp. Pathol.* – 2000. – Vol.81. – P. 373–390.
336. Rehman O. and Lane N. Bone loss: Therapeutic approaches for preventing bone loss in inflammatory arthritis // *Arthritis Res.* – 2001. –Vol.3, № 4. – P.221–227.
337. Ridker P. Inflammation, infection and cardiovascular risk: how good in clinical evidence? // *Circulation.* – 1998. – Vol.98. – P.1671–1674.
338. Ridker P., Rifai.N., Pfefer M. et al. Inflammation, pravastatin and risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol level // *Circulation.* – 1998. – Vol.98. – P. 839–844.
339. Ridker P., Rifai.N., Rose L. et al. Comparison of c–reactive protein and low–density lipoprotein cholesterol levels in the

- prediction of first cardiovascular events // *N. Engl. J. Med.* – 2002. – Vol.347. – P.1557–1565.
340. Ridker P.M. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women // *N. Engl. J. Med.* – 2000. – Vol.342. – P. 836–843.
341. Ridker P.M. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men // *N. Engl. J. Med.* – 1997. – Vol.336. – P.973–979.
342. Ridker P.M., Hennekens C.H., Roitman-Johnson B., Stampfer M.J., Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men // *Lancet.* – 1998. – Vol. 351. – P. 88–92.
343. Ross R. Atherosclerosis: inflammatory disease // *N. Engl. J. Med.* – 1999. – Vol. 340. – P. 115–126.
344. Rothenbacher D., Hoffmeister A., Bode G. et al. Cytomegalovirus infection and coronary heart disease: results of a German case-control study // *J. Infect. Dis.* – 1999. – Vol.179. – P. 690–692.
345. Salt P.J., Iversen L.L. // *Nature.* – 1972. – Vol. 283. – P. 73.
346. Savitsky D., Calame K. B-1 B lymphocytes require Blimp-1 for immunoglobulin secretion // *J. Exp. Med.* – 2006. – Vol.203. – P. 2305-2314.
347. Schurgers LJ, Teunissen KJ, Knapen MH. Et al. Novel conformation-specific antibodies against matrix gamma-carboxyglutamic acid (Gla) protein: undercarboxylated matrix Gla protein as marker for vascular calcification // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2005. – Vol.25(8). – P. 1629–1633.
348. Selected hormonal and immunological responses to strenuous live-fire firefighting drills / D.L. Smith, S.H. Petruzzello, M.A. Chludzinski [et al.] // *Ergonomics.* – 2005. – Vol. 48, № 1. – P. 55–65.
349. Shachinger V., Britten M., Walter D. et al. Homocysteine-induced endothelial superoxide anion production is associated with upregulation of superoxide dismutase // *Eur.Heart J.* – 1998. – V.36. – P. 3501–3509.
350. Shanahan CM, Cary NR, Metcalfe JC, Weissberg PL. High expression of genes for calcification-regulating proteins in human atherosclerotic plaques // *J. Clin. Invest.* – 1994. – Vol.93. – P. 2393–2402.
351. Shanahan CM, Proudfoot D, Tyson KL. et al. Expression of mineralisation-regulating proteins in association with human

- vascular calcification // *J Kardiol.* – 2000. – Vol. 89 (suppl 2). – P. 63–68.
352. She F.F. Virulence of water-induced coccoid *Helicobacter pylori* and its experimental infection in mice / F.F. She, J.Y. Lin, J.Y. Lin, C. Huang // *World J. Gastroenterol.* – 2003. – Vol.9(3). – P.516–520.
353. Shin V, Zebboudj AF, Bostrom K. Endothelial cells modulate osteogenesis in calcifying vascular cells // *J Vasc Res.* – 2004. – Vol. 41. – P.193–201.
354. Simon E, Gariepy J, Cogny A, Moatti N, Simon A, Paul JL. *Atherosclerosis*, 2001
355. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR. et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density // *Cell.* – 1997. – Vol.89. – P. 309–319.
356. Sipponen P. Gastric cancer: pathogenesis, risks and prevention / *J. Gastroenterol.* // P. Sipponen – 2002. – Vol.37. Suppl. 13. – P.39–44.
357. Sipponen P. Serum levels of amidated gastrin-17 and pepsinogen I in atrophic gastritis. An observational case-control study / Sipponen P., Ranta P., Helske T. // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2002. – Vol.37. – P.785–791.
358. Sisto F. *Helicobacter pylori*: ureA, cagA and vacA expression during conversion to the coccoid form / F. Sisto, M.I. Brenciaglia, M.M. Scaltrito, F. Dubini // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2000. – Vol.15, №4. – P.277–282.
359. Sling J., Sandltson J. *Helicobacter pylori* and coronary heart disease // *Heart.* – 1996. – Vol. 76. – P.305–307.
360. Smith L.J., Shamuddin M., Sporn P.H.S., Denenberg M. Reduced superoxide dismutase in lung cells of patients with asthma // *Free Radic.Biol.Med.* –1997. –Vol. 22. –P. 1301–1307.
361. Sorescu GP, Song H, Tressel SL. et al. Bone morphogenic protein 4 produced in endothelial cells by oscillatory shear stress induces monocyte adhesion by stimulating reactive oxygen species production from a nox1-based NADPH oxidase // *Circ Res.* – 2004. – Vol. 95. – P. 773–779.
362. Standal T., Borset M., Sundan A. Role of osteopontin in adhesion, migration, cell survival and bone remodeling // *Exp Oncol.* – 2004. – Vol. 26, № 3. – P. 179–184.
363. Stry H.C. Composition and classification of human atherosclerotic lesion // *Virchows Arch. Pathol. Anat. Histopathol.* – 1992. – Vol. 421. – P.277–290.

364. Stary H.C. The sequence of cell and matrix changes in atherosclerotic lesions of coronary arteries in the first forty years of life // *Eur. Heart J.* – 1990. – Vol. 11 (suppl. E). – P. 3–19.
365. Steitz S., Speer M., McKee M. et al. Osteopontin inhibits mineral deposition and promotes regression of ectopic calcification // *Am. J. Pathol.* – 2002. – Vol.161. – P. 2035–2046.
366. Steitz SA, Speer MY, Curinga G. et al. Smooth muscle cell phenotypic transition associated with calcification: upregulation of *Cbfa1* and downregulation of smooth muscle lineage markers // *Circ Res.* – 2001. – Vol. 89. – P. 1147–1154.
367. Steitz SA, Speer MY, McKee MD. Et al. Osteopontin inhibits mineral deposition and promotes regression of ectopic calcification // *Am J Pathol.* – 2002. – Vol.161. – P. 2035–2046.
368. Suske G. The Sp-family of transcription factors // *Gene.* – 1999. – Vol. 238. – P. 291–300.
369. Sweatt A, Sane DC, Hutson SM Matrix Gla protein (MGP) and bone morphogenetic protein–2 in aortic calcified lesions of aging rats // *J Thromb Haemost.* – 2003. – Vol.1. – P. 178–185.
370. Taylor–Robinson D., Thomas B. Chlamidia pneumoniae in arteries; the facts, their interpretation, and future studies // *J. Clin. Pathol.* – 1998. – Vol.51. – P. 793–797.
371. The world health report 2002 – Reducing risks, promoting healthy life // Geneva, World Health Organization, 2002.
372. The world health report 2003 – Shaping the future // Geneva, World Health Organization, 2003.
373. Toole J.F. *Journal of the American Medical Association.* –2004, V. 25. – P.78–78.
374. Treiber F. et al. Plasma Endothelin–1 Release During Acute Stress: Role of Ethnicity and Sex // *Psychosomatic Medicine.* – 2002. – Vol. 64. – P.707– 713.
375. Trends in respiratory symptoms in firefighters exposed to the World Trade Center disaster: 2001–2005 / M.P. Webber, J. Gustave, R. Lee [et al.] // *Environ Health Perspect.* – 2009. – Vol. 117, N 6. – P. 975–980.
376. Vattikuti R., Towler D.A. Osteogenic regulation of vascular calcification: an early perspective // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol.286. – E686–E696.
377. Veland P. et al. Determinants of plasma homocystein // *Dep. Cardiovasc. Med.* – 2000. –Vol.230. – P. 62.
378. Verhoef P., Meleady R., Daly L. et al. Homocystein, vitamin status and risk of vascular disease // *Eur. Heart J.* – 1999. – Vol.20. – P. 1234–1244.

379. Volta S.D., et al. // *Cardiology*. – 1999. – McGraw–Hill. – P. 324–326.
380. Vozenin–Brotons M. –C., Geffrotin C., Sivan V., Tricaud Y. et al., Regression of radiation–induced fibrosis by superoxide dismutase // *International conference diagnosis and treatment of radiation injury*. –Rotterdam, 1998. –P. 59
381. Wada T, McKee MD, Steitz S, Giachelli CM. Calcification of vascular smooth muscle cell cultures: inhibition by osteopontin // *Circ Res*. – 1999. – Vol. 84. – P.166–178.
382. Wallin R, Cain D, Hutson SM. Et al. Modulation of the binding of matrix Gla protein (MGP) to bone morphogenetic protein–2 (BMP–2) // *Thromb Haemost*. – 2000. – Vol.84. – P.1039–1044.
383. Wang EA, Rosen V, D’Alessandro JS et al. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 1990. – Vol. 87. – P. 2220–2224.
384. Weber G. The metastasis gene osteopontin: a candidate target for cancer therapy // *Biochim Biophys Acta*. – 2001. –Vol.1552. – P.61–68.
385. Weiss M.I. Turitto V.T. //*Blood*. – 1979. – Vol. 53, № 2. – P. 244–250.
386. Whicher J. Markers of the acute phase response in cardiovascular disease: an update // *Clin. Chem. Lab. Med*. – 2001. – Vol. 39. – P.1054–1064.
387. WHO CVD–Risk management package for low– and medium–resource settings // *World Health Organization*, 2002.
388. Willerson J., Ridker P. Inflammation as a Cardiovascular Risk Factor // *Circulation*. – 2004. – Vol. 109. –P. 2–10.
389. WNO Technical Report Series. – Geneva, 1994, 843. – 130p.
390. Wong Y., Gallagher P., Ward M. Chlamidia pneumoniae and atherosclerosis // *Heart*. – 1999. – Vol.81. – P. 232–238.
391. Xiao G, Jiang D, Ge C. et al. Cooperative interactions between activating transcription factor 4 and Runx2/Cbfa1 stimulate osteoblast–specific osteocalcin gene expression // *J. Biol. Chem*. – 2005. – Vol. 280. – P. 30689–30696.
392. Zastawny T.H., Czerwinska B., Drzewiecka B., Olinski R. Radiation–induced oxidative DNA damage and its repair in nuclear matrix–associated DNA and in bulk DNA in hepatic chromatin of rat upon whole–body γ –irradiation // *Free Radic. Biol.Med*. –.1997. –.Vol. 22. –.P. 101–107.

Клиническая лабораторная диагностика в комплексной оценке состояния здоровья специалистов опасных профессий (коллективная монография) / под. ред. С.С. Алексанина, Н.М. Калининой. – СПб.: «Политехника-сервис», 2009. – 313 с.

Отпечатано в полном соответствии с представленным оригинал-макетом в полиграфическом центре Санкт-Петербургского университета Государственной противопожарной службы МЧС России (198107, Санкт-Петербург, московский пр., д. 149, тел. (812) 369-68-91).

Подготовлено в печать 21.12.2009 г. Подписано в печать

Формат

Объем

Тираж 500 экз.
