

Эфферентная Терапия

ТОМ 13
2007 **4**

*Международная ассоциация специалистов
по эфферентным и физико-химическим методам лечения в медицине
Санкт-Петербургская медицинская академия
последипломного образования
Комитет по здравоохранению Администрации Санкт-Петербурга*

Главный редактор
Н.А.Беляков
(Санкт-Петербург)

Заместители главного редактора
К.Я.Гуревич *В.А.Михайлович*
(Санкт-Петербург) (Санкт-Петербург)

Почетный президент журнала
Ю.М.Лопухин
(Москва)

Редколлегия журнала

<i>В.В.Банин</i> (Москва)	<i>Е.А.Лужников</i> (Москва)
<i>А.Н.Бельских</i> (Санкт-Петербург)	<i>А.Г.Мирошниченко</i> (Санкт-Петербург)
<i>Ю.А.Владимиров</i> (Москва)	<i>С.В.Михаловский</i> (Киев, Брайтон)
<i>В.А.Воинов</i> (Санкт-Петербург)	<i>В.Г.Николаев</i> (Киев)
<i>В.И.Горбачёв</i> (Иркутск)	<i>В.А.Остапенко</i> (Минск)
<i>А.Ю.Дубикайтис</i> (Санкт-Петербург)	<i>Э.А.Петросян</i> (Краснодар)
<i>А.М.Есаян</i> (Санкт-Петербург)	<i>В.И.Сергиенко</i> (Москва)
<i>Н.Т.Картель</i> (Киев)	<i>В.В.Стрелко</i> (Киев)
<i>Г.Ю.Левин</i> (Н. Новгород)	<i>Л.С.Файнблат</i> (Киев)
<i>А.П.Щербо</i> (Санкт-Петербург)	

Ответственный секретарь
И.Н.Журавлева

Директор журнала
А.К.Гуревич

СОДЕРЖАНИЕ

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДИНАМИКИ СОДЕРЖАНИЯ ТЕСТОСТЕРОНА, КОРТИЗОЛА, СОМАТОТРОПИНА, ЭРИТРОПОЭТИНА И МИОГЛОБИНА У СПОРТСМЕНОВ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ СЕРИИ ТРЕНИРОВОЧНЫХ ЗАНЯТИЙ	3
<i>В.А.Остапенко, А.А.Михеев, О.А.Волчкова</i>	
ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ВОЗНИКНОВЕНИЮ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА	9
<i>М.Ю.Якушева, П.А.Сарапульцев, Н.Ю.Трельская, О.Г.Антипина, А.Н.Дмитриев</i>	
ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА КОМБИНИРОВАННЫХ СОРБЕНТОВ НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО УГЛЯ И ГЛУБОКОВОДНЫХ ПЕЛОИДНЫХ СИСТЕМ	13
<i>С.С.Ставицкая, В.М.Викарчук, Н.Н.Цыба, Т.П.Петренко, Т.Картель, В.В.Стрелко, В.Н.Король</i>	
ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНАЯ АНТИБИОТИКОПРОФИЛАКТИК ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ ОЛЕЦИСТЭКТОМИИ У БОЛЬНЫХ ЕЛЧНОКАМЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА	21
<i>В.А.Филиппов, В.И.Горбачев, Н.Г.Корнилов, С.М.Горбачева</i>	
ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ АЛЬБУМИНА В МОЧЕ С ПОМОЩЬЮ ГЕТЕРОГЕННОГО ТВЕРДОФАЗОВОГО КОНКУРЕНТНОГО РЕЦЕПТОРНОГО АНАЛИЗА	28
<i>Е.С.Ларичева, М.М.Мнускина*, А.В.Козлов, А.М.Зайчик</i>	
ПРИМЕНЕНИЕ ЭНТЕРОСОРБЕНТОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ КЛЕТКАМИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ДЛЯ УМЕНЬШЕНИЯ АЗОТЕМИИ	32
<i>А.Р.Гутникова, А.Х.Касымов, Л.Г.Баженов, Б.А.Саидханов, И.В.Косникова</i>	
ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ИММУННЫЕ КОМПЛЕКСЫ И ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ У ДЕТЕЙ С ИНСУЛИНЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ	35
<i>Н.А.Ница</i>	
ЗОСТЕРИН — НОВЫЙ СОРБЕНТ ДЛЯ ЭФФЕРЕНТНОЙ ТЕРАПИИ	39
<i>М.Я.Туркина, Т.В.Печерина</i>	
ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ ГУМАТА НАТРИЯ, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ТОРФА ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ	45
<i>Р.Р.Исмаева, А.У.Зиганин</i>	
2-Й МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС ПО «ПРЕДИАБЕТУ» И «МЕТАБОЛИЧЕСКОМУ СИНДРОМУ»	48
<i>Сеидова Г.Б.</i>	

Адрес редакции: 191015, Санкт-Петербург,
Кирочная ул., д. 41

Тел./факс: (812) 445-01-59, факс: (812) 273-00-39. e-mail: gonchar@maps.spb.ru
Подписной индекс: 18030 (по каталогу «Роспечать»), 78582 (по каталогу «Пресс-Информ»).

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 577.17:796.071

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДИНАМИКИ СОДЕРЖАНИЯ ТЕСТОСТЕРОНА, КОРТИЗОЛА, СОМАТОТРОПИНА, ЭРИТРОПОЭТИНА И МИОГЛОБИНА У СПОРТСМЕНОВ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ СЕРИИ ТРЕНИРОВОЧНЫХ ЗАНЯТИЙ

*В.А.Остапенко, А.А.Михеев, О.А.Волчкова***Научно-исследовательский институт физической культуры и спорта Республики Беларусь, Минск, Беларусь**

© Коллектив авторов, 2007 г.

Целью настоящего исследования было изучение гормональных изменений по уровню содержания тестостерона, кортизола, соматотропина и эритропоэтина, а также динамика содержания миоглобина при максимальной вибрационной нагрузке в серии тренировочных занятий у лиц разных возрастных групп, занимающихся физической культурой и спортом по сравнению с традиционными упражнениями эквивалентного объема и интенсивности. Под воздействием вибрационных упражнений содержание соматотропина в крови испытуемых возрастает в большей степени, чем при использовании традиционных тренировочных методов. У спортсменов-юниоров ($19,5 \pm 3,4$ года) после шести тренировок это увеличение в 2,3 раза, а у испытуемых старшего возраста ($50,5 \pm 3,4$ года) в 28,3 раза больше, чем в контрольной группе. В группе испытуемых старшего возраста вибрационные упражнения вызывают наибольшее достоверное ($p < 0,05$) уменьшение содержания тестостерона (на 20,6%) и наибольшее достоверное ($p < 0,05$) возрастание соматотропного гормона (на 3179,6%) после трех тренировочных занятий. Мужчинам старшего возраста ($50,5 \pm 3,4$ года) для достижения наибольшего тренировочного эффекта достаточно трех вибрационных занятий с суммарным временем вибровоздействий 24 минуты. Юношам ($19,5 \pm 3,4$ года) для достижения наибольшего тренировочного эффекта необходимо выполнять тренировочные серии, состоящие из шести вибростимуляционных занятий с суммарным временем вибронагрузки 48 минут.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что физиологические реакции организма спортсменов при выполнении вибрационных упражнений связаны с одной стороны с механическими характеристиками вибрации (частотой и амплитудой), а с другой стороны — с педагогическими характеристиками самого упражнения (объемом и интенсивностью) [1–6]. Анализ литературных данных показал, что вибрационные упражнения с частотой 28–30 Гц и амплитудой 4 мм довольно широко используются в спортивной тренировке, однако до настоящего времени динамика гормонального статуса организма спортсменов исследовалась недостаточно [7–10].

Особый интерес вызывает возможность стимулирования с помощью физических недопинговых методов секреции гормонов, формирующих качество мышечной системы спортсмена, что в итоге определяет его соревновательные результаты. Ранее была изучена динамика содержания некоторых гормонов в крови спортсменов в серии занятий при выполнении вибрационных

упражнений, не предполагающих наступления полного утомления [11].

Целью настоящего исследования было изучение гормональных изменений по уровню содержания тестостерона, кортизола и соматотропина при максимальной вибрационной нагрузке с частотой 28–30 Гц и амплитудой 4 мм в серии тренировочных занятий у лиц разных возрастных групп, занимающихся физической культурой и спортом по сравнению с традиционными упражнениями эквивалентного объема и интенсивности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте приняли участие 24 спортсмена мужского пола, разделенные на 2 группы: контрольную (9 испытуемых) и экспериментальную (15 испытуемых). В контрольную группу вошли 9 спортсменов-гандболистов, из которых 6 человек имели I разряд, 3 человека были КМС. Средний стаж занятий спортом составил $6,5 \pm 1,5$ года. Средний возраст испытуемых $18,5 \pm 1,6$ года, средняя длина тела $177,20 \pm 2,12$ см, средняя масса тела $73,21 \pm 2,14$ кг, средняя масса мышеч-

ной ткани $39,35 \pm 2,50\%$, средняя масса жировой ткани $18,11 \pm 1,83\%$.

Экспериментальная группа состояла из двух подгрупп, которые различались по возрастному признаку. В первую подгруппу, численностью 8 человек, вошли спортсмены-единоборцы, из которых 4 человека имели I разряд, 3 человека были КМС, 1 человек — МС. Средний стаж занятий спортом составил $7,0 \pm 1,5$ года. Средний возраст испытуемых $19,5 \pm 3,4$ года, средняя длина тела $176,10 \pm 3,11$ см, средняя масса тела $74,15 \pm 3,63$ кг, средняя масса мышечной ткани $40,33 \pm 2,51\%$, средняя масса жировой ткани $18,40 \pm 1,05\%$.

Вторая экспериментальная группа состояла из 7 испытуемых мужского пола, регулярно занимающихся физическими упражнениями. Среднегрупповой объем еженедельной физической нагрузки составлял $12,5 \pm 2,0$ часа. Средний стаж занятий физической культурой $25,5 \pm 6,5$ года. Средний возраст испытуемых $50,5 \pm 3,4$ года, средняя длина тела $173,42 \pm 2,71$ см, средняя масса тела $74,12 \pm 2,61$ кг, средняя масса мышечной ткани $36,33 \pm 2,51\%$, средняя масса жировой ткани $21,40 \pm 1,15\%$.

Тренировочная программа состояла из двух недельных микроциклов и предполагала выполнение шести тренировок на протяжении 14 дней, по три занятия, проводимых через день, в каждом из микроциклов. На каждом из тренировочных занятий испытуемые контрольной и экспериментальных групп выполняли по 8 подходов в комбинированном повторном упражнении для мышц рук и ног до утомления. Тренировочный протокол приведен в табл. 1.

ляла 15 минут, а объем собственно вибрационной нагрузки — 8 минут. Суммарное время тренировочной нагрузки за весь период эксперимента составило 90 минут, а вибрационной нагрузки 48 минут.

Гормональные исследования осуществлялись методом иммуноферментного анализа с применением реагентов «Хема-Медика» (Россия) на плашечном 96-луночном иммуноферментном анализаторе «Sunrise» (Австрия). В соответствии с планом исследования было выполнено три забора крови из вены: до начала эксперимента, после третьей и после шестой тренировки. Процедуры производились в утренние часы натощак с соблюдением необходимых санитарно-гигиенических норм.

Для исследования содержания эритропоэтина и миоглобина использовался иммунохемолуминесцентный анализатор «Access» (Becton Coulter, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные, полученные в результате исследования, представлены в таблицах 2–4. В серии традиционных упражнений к концу эксперимента в крови спортсменов контрольной группы наблюдалось некоторое недостоверное ($p > 0,05$) снижение содержания тестостерона на 4,5% (см. табл. 2). Тестостерон является стероидным гормоном-андрогеном, синтезируемым в половых железах. Анаболическое действие тестостерона связано с влиянием его на обмен белка. Этот гормон, как и другие андрогены, усиливает синтез

Таблица 1
Тренировочный протокол серии традиционных и вибрационных тренировок при выполнении повторных упражнений до полного утомления

№ тренировки	Количество подходов	Суммарная продолжительность виброупражнения, с, ($\bar{X} \pm S\bar{X}$)	Среднее суммарное количество циклов движений в виброупражнении ($\bar{X} \pm S\bar{X}$)	Суммарная продолжительность традиционного упражнения, с, ($\bar{X} \pm S\bar{X}$)	Суммарное количество циклов движений в традиционном упражнении ($\bar{X} \pm S\bar{X}$)
1–6	8	480	431 ± 22	480	478 ± 15

Упражнение состояло из двух частей: сгибание и разгибание рук в упоре лежа на груди и приседаний с опорой на вибротренажеры. Упражнения для рук и ног выполнялись без перерыва, в темпе 1 цикл движения за 1 секунду. Продолжительность подходов в упражнении составляла 60 секунд. Для создания вибрационной нагрузки использовались вибрационные устройства собственной конструкции, адаптированные к спортивной деятельности. Частота вибрации устройств составляла 28–30 Гц при амплитуде 4 мм.

Продолжительность интервалов отдыха между подходами 30 секунд. Продолжительность каждого отдельного тренировочного занятия состав-

белка в печени, почках и, особенно, в скелетных мышцах. Поэтому андрогены и их синтетические аналоги используются в клинике и спорте для ускорения восстановления организма после болезни или напряженной мышечной деятельности, а также для наращивания мышечной массы.

Физиологическая норма содержания тестостерона в крови мужчин 20–39 лет составляет 9,0–38,0 нмоль/л (либо 2,6–10,9 нг/мл), 40–55 лет 6,9–21,0 нмоль/л (либо 2,0–6,0 нг/мл), старше 55 лет — 5,9–18,1 нмоль/л (либо 1,7–5,2 нг/мл).

В первой экспериментальной группе, состоящей из спортсменов-юниоров, эти изменения носили ярко выраженный характер. Так, после

Таблица 2

Динамика содержания тестостерона, кортизола, соматотропина, эритропоэтина и миоглобина в венозной крови спортсменов-юниоров (контрольная группа) в серии традиционных тренировочных занятий (n = 9)

№ теста	Лабораторные показатели ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)				
	Тестостерон (нмоль/л)	Кортизол (нмоль/л)	СТГ (мМЕ/л)	Эритропоэтин (мМЕ/мл)	Миоглобин (нг/мл)
1	13,58±0,54	838,56±112,16	0,63±0,25	9,88±0,92	31,77±2,49
2	12,97±0,98	735±88,44	0,84±0,27*	10,18±0,76*	30,20±2,14*

Примечание. * — достоверные различия между исходными показателями (1-й тест) и показателями, полученными после шестой тренировки (2-й тест) ($p < 0,05$).

Таблица 3

Динамика содержания тестостерона, кортизола, соматотропина, эритропоэтина и миоглобина в венозной крови спортсменов-юниоров (1-я экспериментальная группа) в серии тренировочных занятий с применением дозированных вибрационных упражнений (n=8)

№ теста	Лабораторные показатели ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)				
	Тестостерон (нмоль/л)	Кортизол (нмоль/л)	СТГ (мМЕ/л)	Эритропоэтин (мМЕ/мл)	Миоглобин (нг/мл)
1	16,01±1,31	599,63±47,15	1,32±0,41	9,88±0,49	25,95±1,59
2	13,82±0,74	591,13±54,22	1,85±0,49*	12,75±0,64*	21,28±1,29*
3	11,86±0,73**	759,88±56,59**	2,36±0,54**	11,77±0,5	30,14±1,88**

Примечание. * — достоверные различия между исходными показателями (1-й тест) и показателями, полученными после третьей тренировки (2-й тест) ($p < 0,05$); ** — достоверные различия между исходными показателями и показателями, полученными после шестой тренировки (3-й тест) ($p < 0,05$).

Таблица 4

Динамика содержания тестостерона, кортизола, соматотропина, эритропоэтина и миоглобина в венозной крови испытуемых старшего возраста (вторая экспериментальная группа) в серии тренировочных занятий с применением дозированных вибрационных упражнений (n=7)

№ теста	Лабораторные показатели ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)				
	Тестостерон (нмоль/л)	Кортизол (нмоль/л)	СТГ (мМЕ/л)	Эритропоэтин (мМЕ/мл)	Миоглобин (нг/мл)
1	16,57±1,98	772,29±153,67	0,04±0,02	8,16±0,58	35,80±2,03
2	13,15±1,39	616,71±63,71	1,26±0,25*	11,91±0,71*	37,81±2,27*
3	13,68±1,55**	554,14±77,4	0,42±0,13**	9,09±0,52	45,30±2,79**

Примечание. * — достоверные различия между исходными показателями (1-й тест) и показателями, полученными после третьей тренировки (2-й тест) ($p < 0,05$); ** — достоверные различия между исходными показателями и показателями, полученными после шестой тренировки (3-й тест) ($p < 0,05$).

трех вибростимуляционных занятий в среднем по группе произошло недостоверное ($p > 0,05$) снижение содержания тестостерона на 13,7% относительно исходного уровня, а после шести занятий — на 25,9% ($p < 0,05$), что в 5,7 раза больше, чем в контрольной группе (см. табл. 3). Эта же тенденция наблюдалась и во 2-й экспериментальной группе, состоящей из физкультурников старшего возраста (см. табл. 4).

Так, после окончания серии вибростимуляционных занятий уровень тестостерона достоверно ($p < 0,05$) снизился на 17,5%, что в 3,9 раза больше, чем в контрольной группе. При этом следует отметить, что наибольшее снижение содержания гормона, на 20,6%, произошло после трех вибрационных тренировок. Уровень кортизола после серии традиционных тренировок у испытуемых контрольной группы недостоверно снизился на 12,3% ($p > 0,05$).

Кортизол или гидрокортизон является стероидным гормоном коры надпочечников. Он входит в группу глюкокортикоидов, одну из групп кортикостероидов. Кортизол усиливает синтез глюкозы в печени из веществ неуглеводной природы (аминокислот, жирных кислот).

Благодаря стимуляции глюконеогенеза предотвращается резкое снижение глюкозы в крови при интенсивных физических нагрузках. Торможение анаболических процессов глюкокортикоидами во время выполнения физических нагрузок позволяет улучшить энергообеспечение мышечной деятельности. Такое действие глюкокортикоидов играет важную роль в адаптации организма к нагрузке как стрессовому фактору, так как они мобилизуют запасные питательные вещества (белки, жиры) из периферических тканей и предотвращают истощение запасов гликогена в печени. Физиологическая норма содержания кортизола составляет 140–600 нмоль/л.

У спортсменов 1-й экспериментальной группы, напротив, после завершения запланированной серии вибрационных тренировочных занятий было выявлено достоверное увеличение изучаемого показателя на 40,8% ($p < 0,05$). При этом после третьего занятия зафиксированные изменения были незначительны (-1,4%, $p > 0,05$).

У испытуемых 2-й экспериментальной группы, в противоположность испытуемым-юниорам, уровень кортизола равномерно недостоверно снижался относительно исходного уровня: после третьей серии на 20,1%, после шестой серии на 28,2%.

Динамика содержания соматотропного гормона у испытуемых всех трех групп имела тенденцию к возрастанию. Гормон роста (соматотропный гормон, или соматотропин) это белок, который, наряду с пролактином, вырабатывается ацидофильными (иначе хромофильными) клетками аденогипофиза — передней доли гипофиза. Соматотропин оказывает влияние на ряд метаболических процессов и стимулирует рост молодого организма. Он повышает уровень глюкозы в крови и синтез белков во всех клетках тела, увеличивает содержание рибонуклеиновой кислоты в клетках. Количество аминокислот в крови уменьшается, и уровень выделяемого с мочой азота понижается. При введении гормона роста усиливаются мобилизация жира из жировых депо и использование его в энергетическом обмене. Это ведет к увеличению расхода жиров, а также к повышению уровня ацетоновых и кетоновых тел в крови и выделению их с мочой. Регуляторные факторы, которые могут изменять интенсивность продукции соматотропина, до сих пор еще неизвестны. Физиологическая норма содержания гормона в крови составляет от 0,00 до 20,00 мМЕ/л.

В контрольной группе после шести традиционных тренировок произошло недостоверное ($p > 0,05$) увеличение на 35%. В обеих экспериментальных группах под воздействием серии вибрационных упражнений содержание соматотропина в крови испытуемых возрастало в большей степени.

В 1-й экспериментальной группе после трех тренировок прирост относительно показателя покоя составил 40,8% ($p < 0,05$), а после шести тренировок — 79,4% ($p < 0,05$), что в 2,3 раза превышает показатель контрольной группы.

Во 2-й экспериментальной группе после третьей вибрационной тренировки уровень гормона достоверно ($p < 0,05$) возрос относительно исходного показателя на 3179,6%, что в 90 раз выше, чем в контрольной группе и в 77,5 раза выше, чем в 1-й экспериментальной группе. После шестой тренировки уровень соматотропина составил 991,6% ($p < 0,05$) от показателя в покое, что

в 28 раз выше, чем в контрольной группе и в 12,5 раза выше, чем в 1-й экспериментальной группе.

Следует подчеркнуть, что к концу серии вибрационных тренировок уровень гормона роста снизился относительно показателей второго тестирования на 66,7%.

В обеих возрастных группах испытуемых при применении вибротренинга была выявлена тенденция к достоверному увеличению содержания эритропоэтина и миоглобина. При этом эквивалентная традиционная тренировка не вызывала достоверных изменений по изучаемым показателям. Эритропоэтин — гормон, вырабатываемый почками. Он стимулирует образование эритроцитов. Известно, что в условиях пониженного парциального давления кислорода секреция эритропоэтина усиливается. Благодаря этому увеличивается образование эритроцитов при проведении тренировочных занятий в условиях среднегорья. Эритропоэтин улучшает кислород-транспортную способность организма. Инъекции этого гормона вызывают повышение концентрации гемоглобина и гематокрита, увеличение МПК и положительно влияют на продолжительность работы до полного утомления.

В настоящее время генная инженерия позволяет синтезировать этот гормон. Однако последствия применения эритропоэтина с точки зрения образующегося под его влиянием количества эритроцитов не поддаются прогнозированию. Это значительно повышает риск увеличения вязкости крови, что может приводить к ее повышенному свертыванию и сердечной недостаточности. Физиологическая норма содержания гормона в крови составляет от 2,59 до 18,50 мМЕ/мл.

Наибольшее достоверное ($p < 0,05$) увеличение эритропоэтина относительно исходных показателей наблюдалось после трех тренировочных занятий: у испытуемых старшего возраста — на 45,8%, а у спортсменов-юниоров — на 29,7%.

Миоглобин — сложное белковое соединение, подобное гемоглобину, содержащееся в мышечной ткани. Основная функция миоглобина состоит в переносе кислорода из клеточной мембраны в митохондрии. В связи с этим, увеличение количества миоглобина (при увеличении количества митохондрий) приводит к возрастанию аэробной производительности мышечной ткани. Физиологическая норма содержания миоглобина составляет: у мужчин — 17,40–105,40 нг/мл, у женщин — 14,30–65,80 нг/мл. Наибольшее достоверное ($p < 0,05$) увеличение миоглобина происходило после шести стимуляций: у испытуемых старшего возраста — на 26,5%, а у спортсменов-юниоров — на 16%.

Анализ результатов исследования дал основание полагать, что выполнение двухнедельной традиционной тренировочной программы с сум-

марным временем физической нагрузки равной 48 минутам не вызывало у испытуемых достоверных гормональных изменений. В то же время эквивалентная тренировочная программа с использованием вибрационных упражнений при частоте вибрации 28–30 Гц и амплитуде 4 мм приводила к достоверному увеличению содержания соматотропного гормона, эритропоэтина и миоглобина.

ВЫВОДЫ

1. Выполнение двухнедельной тренировочной программы с применением традиционных интервальных упражнений вызывает недостоверное снижение уровня тестостерона и кортизола и такое же недостоверное увеличение содержания соматотропного гормона.

2. При выполнении шести тренировочных вибростимуляционных занятий с применением интервальных упражнений до полного утомления при частоте вибрации 28–30 Гц и амплитуде 4 мм в группах испытуемых разных возрастных категорий (двадцати и пятидесяти лет) выявлена тенденция к достоверному уменьшению содержания тестостерона с одновременным достоверным увеличением содержания соматотропного гормона. Вызываемые вибротренингом изменения этих показателей превышают изменения от эквивалентной традиционной тренировки.

3. Под воздействием вибрационных упражнений с частотой вибрации 28–30 Гц и амплитудой 4 мм содержание соматотропина в крови испытуемых возрастает в большей степени, чем при использовании традиционных тренировочных методов. У спортсменов – юниоров (19,5±3,4 года) после шести тренировок это увеличение в 2,3 раза, а у испытуемых старшего возраста (50,5±3,4 года) в 28,3 раза больше, чем в контрольной группе.

4. Под воздействием интервальных вибрационных упражнений с частотой вибрации 28–30 Гц и амплитудой 4 мм до полного утомления на протяжении 14 дней у лиц старшего возраста происходит большее увеличение содержания гормона роста (+991,6%) по сравнению с юными спортсменами (+79,4%). После выполнения шести тренировочных занятий у испытуемых старшего возраста этот показатель в 28 раз превышает показатель, зарегистрированный в группе юных спортсменов.

5. В группе испытуемых старшего возраста вибрационные упражнения с частотой вибрации 28–30 Гц и амплитудой 4 мм вызывают наибольшее достоверное ($p < 0,05$) уменьшение содержания тестостерона (на 20,6%,) и наибольшее достоверное ($p < 0,05$) возрастание соматотропного гормона (на 3179,6%) после трех тренировочных занятий.

6. В группе испытуемых-юниоров наибольшее достоверное уменьшение содержания тестостерона (на 25,9%) и наибольшее достоверное возрастание соматотропного гормона (на 79,4%) происходит после шести вибростимуляционных занятий с частотой вибрации 28–30 Гц и амплитудой 4 мм.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Мужчинам старшего возраста (50,5±3,4 года) для достижения наибольшего тренировочного эффекта достаточно трех вибрационных занятий с суммарным временем вибровоздействий 24 минуты при частоте вибрации 28–30 Гц и амплитуде 4 мм.

2. Юношам (19,5±3,4 года) для достижения наибольшего тренировочного эффекта необходимо выполнять тренировочные серии, состоящие из шести вибростимуляционных занятий с суммарным временем вибронагрузки 48 минут при частоте вибрации 28–30 Гц и амплитуде 4 мм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мухеев А.А. Стимуляция биологической активности как метод управления развитием физических качеств спортсменов: В 2 ч. — Мн., 1999. — 398 с.
2. Мухеев А.А. Стимуляция биологической активности как метод развития физических качеств пловцов // Научные проблемы подготовки спортсменов Республики Беларусь к Олимпийским играм 2004 года: Матер. науч.-метод. конф. — Мн., 2003. — С. 22–24.
3. Мухеев А.А. Развитие физических качеств спортсменов с применением метода стимуляции биологической активности организма: Автореф. дис. ... д-ра пед. наук. — М., 2004. — 42 с.
4. Мухеев А.А., Вороницкий Н.Е. Влияние дозированной вибрационной нагрузки на показатели поверхностной ЭМГ у спортсменов // Вертеброневрология. — 2006. — Т. 13, № 1–2. — С. 9–14.
5. Bosco C., Cardinale M., Tsarpela O., Tibanyi J. et al. The influence of whole body vibration on jumping performance // Biology of Sport. — 1998. — № 15. — P. 157–164.
6. Cardinale M., Lim J. The acute effects of two different whole body vibration frequencies on vertical jump performance // Medicina Dello Sport. — 2003. — V. 56, № 4. — P. 287–292.
7. Мухеев А.А. Теория вибрационной тренировки (биологическое обоснование дозированного вибротренинга). — Мн. БГУФК, 2007. — 596 с.

8. *Cardinale M., Leiper J., Erskine J., Milroy M., Bell S.* The acute effects of different whole body vibration amplitudes on the endocrine system of young healthy men: a preliminary study // *Clinical Physiology and Functional Imaging*.— 2006.— Vol. 6, № 26.— P. 380–384.
9. *Effect of vibration* // *Pure Power Magazine*.— Fall, 2002.— P. 25–26.
10. *Griffin M.J.* Handbook of Human vibration.— London: Academic Press, 1996.— P. 10–12.
11. *Мухеев А.А.* Биологические основы дозированной вибрационной тренировки спортсменов.— Мн.: БГУФК, 2005.— 242 с.

Поступила в редакцию 04.09.2007 г.
Рецензент *М.Я.Малахова*.

УДК 616.379-008.64

ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ВОЗНИКНОВЕНИЮ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА

М.Ю.Якушева, П.А.Сарапульцев*, Н.Ю.Трельская**, О.Г.Антипина, А.Н.Дмитриев****

** Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, ** МУ ГКБ № 40,*

**** ГОУ ВПО УГМА Росздрава, Екатеринбург*

Для выявления критериев предрасположенности к развитию сахарного диабета 2-го типа было обследовано методом дерматоглифики 63 больных с сахарным диабетом 2-го типа. Контрольную группу составили 63 человека без сахарного диабета, подобранных методом «направленного подбора» по возрасту, полу и национальности. Для обработки материала был использован метод многофакторного анализа, основанный на теории распознавания образов и дискриминантный анализ, основанный на принципах комитетов. В результате исследования выявлены особенности характера дерматоглифической картины у больных с сахарным диабетом 2-го типа, позволяющих осуществить отбор пациентов в группу повышенного риска по этому заболеванию.

ВВЕДЕНИЕ

По данным ВОЗ в современном мире насчитывается более 1 млн. больных с сахарным диабетом (СД) 2-го типа, что в 5 раз больше, чем десятилетие назад [1]. Сахарный диабет, в структуре которого 85–90% приходится на СД 2-го типа [2], представляет собой серьезную медико-социальную проблему в связи с широкой его распространенностью и системными осложнениями, приводящими к ранней инвалидизации и высокой смертности пациентов. В частности, сердечно-сосудистые заболевания, распространенность которых среди больных СД 2-го типа в 4 раза превышает популяционную, являются причиной смерти 70–80% больных [3, 4].

Высокий риск развития сосудистых осложнений при сахарном диабете 2-го типа, послужил основанием Американской кардиологической ассоциации причислить его к сердечно-сосудистым заболеваниям [5]. Столь выраженное неблагополучие может быть связано с негативным влиянием полигеннонаследуемых и вторичных нарушений обмена веществ, характерных для метаболического синдрома, из которых СД 2-го типа является важнейшей составляющей. На 65-й научной сессии Американской диабетической ассоциации, посвященной проблеме метаболического синдрома, была представлена гипотеза «тикающих часов», согласно которой риск развития «серечно-сосудистых катастроф» закладывается гораздо раньше, чем диагностируется СД 2-го типа, а именно — на этапе обменных нарушений, свойственных метаболическому синдрому [22].

Поскольку риск развития сердечно-сосудистых катастроф закладывается еще на этапе нарушения толерантности к глюкозе, представляется важным поиск не только их предикторов, но и маркеров предрасположенности к СД 2-го типа.

Повысить эффективность существующих методов медицинской профилактики сахарного диабета можно за счет формирования достаточно компактной группы «повышенного риска», что требует разработки критериев для такого отбора.

Сахарный диабет относится к разряду мультифакторных заболеваний с наследственной предрасположенностью, возникновение которых происходит в результате сочетания генетической предрасположенности индивидуума с комплексом биологических и средовых факторов [7], причем, по мнению F.S.Facchini и соавт. [8], наследственности принадлежит ведущая роль в развитии СД.

Полигенный характер предрасположенности к развитию СД 2-го типа и влияние «разрешающих факторов» на его возникновение и развитие обуславливают гетерогенность как самого СД 2-го типа, так и его клинических проявлений. Поэтому, при разработке методики выявления критериев предрасположенности к развитию СД 2-го типа необходимо принципиальное разграничение в постановке задач: выявление обобщенных критериев предрасположенности ко всем разновидностям СД 2-го типа и выявление критериев предрасположенности к развитию тех или иных патогенетических механизмов заболевания, обуславливающих преобладание тех или иных его клинических проявлений и (или) осложнений.

Основной задачей проведенного исследования явилась разработка и апробация методики выявления обобщенных критериев генетической предрасположенности к развитию СД 2-го типа.

При разработке методики скрининг-тестирования, в частности выявления маркеров генетической предрасположенности к СД 2-го типа, необходимо руководствоваться соображениями практической ее приемлемости: 1) методика тестирования должна быть достаточно проста, эко-

номична, и не требовать для своей реализации дорогостоящего оборудования, реактивов и высоко квалифицированного персонала; 2) процедура обследования должна быть, по возможности, неинвазивна и необременительна для человека. Поэтому из известных в медицинской генетике маркеров, в наибольшей степени отвечающим вышеперечисленным условиям, был выбран характер папиллярных узоров на пальцах и ладонях (дерматоглифов).

Медицинская дерматоглифика существует с середины 20-х годов прошлого столетия, когда американские ученые Камминс и Мидло предложили название «дерматоглифика» для науки, занимающейся изучением кожных узоров, а в 1943 г. закрепили методологию дерматоглифических исследований в своей монографии [17]. Они же впервые высказали мысль о возможности диагностики заболеваний по кожным узорам, опубликовав сведения о признаках, сопровождающих некоторые хромосомные заболевания, в частности, болезнь Дауна.

В настоящее время дерматоглифика применяется для оценки генетической предрасположенности к различным заболеваниям, в том числе к наследственным [10]; онкологическим [11, 12], сердечно-сосудистым [13], профессиональным [14], инфекционным, в том числе туберкулёзу [15, 16], эпилепсии [17], сахарному диабету [18] и ювенильному сахарному диабету [19].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 63 больных с сахарным диабетом 2-го типа. Контрольная группа была сформирована методом «направленного подбора» по признакам: возраст, пол, национальность. В соответствии с этими критериями к каждому больному по принципу «копия — пара» было подобрано 63 человека без сахарного диабета. У каждого из 126 включенных в исследование были получены дерматоглифические отпечатки.

Сбор отпечатков проводился по методу Т.Д.Гладковой [20] с помощью типографской краски. Расшифровка дерматоглифических признаков осуществлялась согласно Международной классификации [21]. Была проведена оценка 61 параметра, отражающего пальцевые (гребневой счет и тип узора на каждом пальце) и ладонные узоры (ладонный гребневой счет, наличие и расположение ладонных и осевых трирадиусов, направление главных ладонных линий А, В, С и D, величина угла atd, характер рисунков на тенаре и гипотенаре и в межпальцевых полях).

Для обработки материала был использован математический аппарат многофакторного анализа, в частности методы, основанные на теории распознавания образов [22]. В частности, был использо-

ван один из вариантов дискриминантного анализа, известный как способ «обучения с учителем».

Для решения задачи распознавания использовались алгоритмы дискриминантного анализа, основанные на принципах комитетов с логикой старшинства, комитетов большинства и методе потенциальных функций.

Для оценки информативности каждого признака, мера которой интерпретировалась как сила влияния факторов на возникновение заболевания, использовался метод, основанный на определении расстояний между «эталонными» значениями признаков выделенных классов. Для установления характера влияния каждого признака использовалась процедура вычисления частот встречаемости значений признаков в сравниваемых классах.

Решение всех этих задач проводилось с помощью пакета прикладных программ распознавания образов «КВАЗАР» [22], при участии В.С.Казанцева.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе математической обработки решался главный вопрос — является ли комплексная информация о 61 дерматоглифическом признаке достаточной для описания различий между группой больных с СД 2-го типа и контрольной. Наиболее надежные решающие правила, обеспечивающие на процедуре «экзамена» высокие результаты распознавания — 87,5% правильных ответов по группе «здоровые» и 100% по группе «больные СД 2-го типа», были получены при учете 12 наиболее информативных признаков с помощью алгоритма, основанного на принципах потенциальных функций. Тот факт, что для надежного распознавания потребовалась относительно небольшая их часть (12 из 61 исходного) свидетельствует о существовании значительных отличий в характере папиллярных узоров у лиц, заболевших и не заболевших СД 2-го типа.

Столь же высокие результаты распознавания были достигнуты и при использовании алгоритмов, основанных на принципах комитетов старшинства и комитетов большинства, что свидетельствует о различиях в дерматоглифическом фенотипе у больных с СД 2-го типа и обследованных без этой патологии. Полученные результаты подтверждают наличие генетической предрасположенности к СД 2-го типа, адекватным маркером которой является дерматоглифика.

На втором этапе математической обработки проводилась оценка информативности каждого признака.

В таблице приведены данные о 15 наиболее важных из них.

Далее был исследован характер связи каждого дерматоглифического признака и заболевания

Таблица

Наиболее информативные дерматоглифические признаки для оценки генетической предрасположенности к сахарному диабету 2-го типа

Ранговое место	Наименование признака	Информативность в отн. ед.
1	Количество ладонных линий ПР	1,00
2	Количество ладонных линий ЛР	0,94
3	Направление главной ладонной линии В ПР	0,49
4	Ладонный гребневой счет ab ЛР	0,48
5	Ладонный гребневой счет ab ПР	0,44
6	Ладонный гребневой счет cd ЛР	0,42
7	Характер рисунка в зоне между 3 и 4 пальцами ПР	0,41
8	Характер рисунка на I пальце ЛР	0,39
9	Характер рисунка на IV пальце ЛР	0,38
10	Характер рисунка на IV пальце ПР	0,38
11	Характер рисунка на гипотенаре ПР	0,36
12	Направление главной ладонной линии А ЛР	0,31
13	Характер рисунка на I пальце ПР	0,31
14	Характер рисунка на гипотенаре ЛР	0,30
15	Направление главной ладонной линии С ПР	0,28

Примечание: ПР — правая рука; ЛР — левая рука.

СД 2-го типа. При оценке направленности действия признаков выявлено увеличение общего гребневого счета (отдельно для пальцев правой и левой руки) более 95, и суммарного гребневого счета (обеих рук), что согласуется с данными других исследователей [1]. Следует отметить и увеличение ладонного гребневого счета ab, bc, cd у пациентов с сахарным диабетом.

Анализ влияния особенностей каждого признака на вероятность развития СД 2-го показал, что она возрастает при количестве ладонных линий 6 и более (рис. 1); окончании главной ладонной линии В в 5 ладонном поле; ладонном гребневом счете ab от 27 до 32 и более 37 (рис. 2) и ладонном гребневом счете cd более 38; при отсутствии рисунка и при наличии петли с дополнительным трирадиусом (D) в зоне между 3 и 4 пальцами; при наличии ульнарной петли на 1 пальце; при наличии завитка и арки на 4 пальце; при наличии любых рисунков на гипотенаре; окончании главной ладонной линии А в 5 поле, линии С в поле 5 и 7 на правой руке и в поле 5 на левой.

Риск развития СД 2-го типа увеличивается при ширине ладонных линий более 1 мм, положении осевого трирадиуса промежуточном t¹ и боковом t^{1b} положении осевого трирадиуса, при редукции ладонного трирадиуса С, наличии петли в ладонной зоне между 1 и 2 пальцами, петли с дополнительным трирадиусом в зоне между 4 и 5 пальцами, окончании главной ладонной линии D в 7 поле, наличии завитка на 3 пальце, при II и III типе расположения ладонных линий на правой руке и I типе расположения на левой руке.

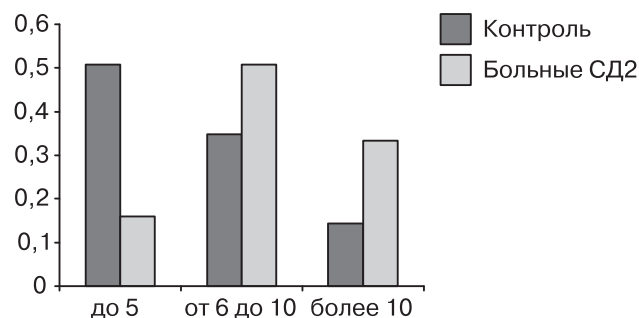


Рис. 1. Количество ладонных линий ПР

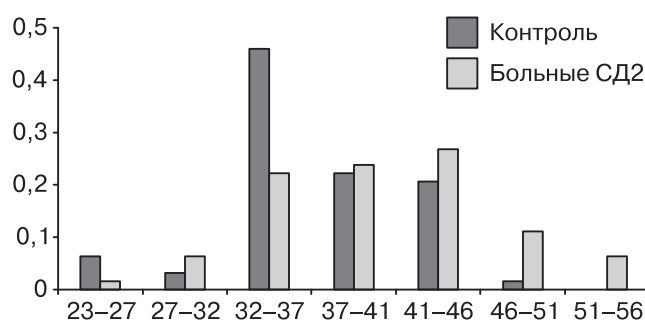


Рис. 2. Ладонный гребневой счет ab ПР

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии выраженных особенностей в характере дерматоглифической картины у людей, заболевших СД 2-го типа.

ВЫВОДЫ

1. Выявленные особенности характера дерматоглифической картины у больных с СД 2-го типа свидетельствуют о наличии генетической пред-

расположенности к этому виду патологии, надежным маркером которой являются дерматоглифы.

2. Разработанная методика, основывающаяся на анализе дерматоглифической картины, позволяет выявить обобщенные критерии генетической предрасположенности к развитию СД 2-го типа.

3. Апробация предложенной методики показала, что выработанные в ходе исследования решающие правила позволят при проведении профосмотров населения осуществлять отбор пациентов в группу «повышенного риска» по СД 2-го типа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов И.И., Шестакова М.В. Эпидемиология сахарного диабета / Сахарный диабет. Руководство для врачей.— М.: Универсум Паблишинг, 2003.— С. 75–93.
2. Аметов А.С., Мельник А.В. Инсулин гларгин (Лантус) в управлении сахарным диабетом 2-го типа // РМЖ.— 2005.— Т. 13, № 28.— С. 1918–1923.
3. Глинкина И.В. Лечение нарушений липидного обмена при сахарном диабете 2-го типа // Лечащий врач.— 2006.— № 2.— С. 28–32.
4. Мычка В.Б., Горностаев В.В., Чазова И.Е. Сердечно-сосудистые осложнения сахарного диабета 2-го типа // Кардиология.— 2002.— Т. 42, № 4.— С. 73–77.
5. Grundy S.M. Diabetes and cardiovascular disease: a statement for Health-care professionals from the American Heart Association // Circulation.— 1999.— Vol. 100.— P. 1134–1146.
6. Program and abstracts of the 65th Scientific Sessions of the American Diabetes Association.— San Diego, California, 2005.— June 10–14.
7. Fang Z.Y., Prins J.B., Marwick T.H. Diabetic cardiomyopathy: evidence, mechanisms, and therapeutic implications // Endocrine Reviews.— 2004.— Vol. 25.— P. 543–567.
8. Facchini F.S., Hua N., Abbasi P., Reaven G.M. Insulin resistance as a predictor of age diseases // J. Clin. Endocrinol. Metab.—2001.— Vol. 86.— P. 3574–3578.
9. Cummins H., Midlo Ch. Finger prints, palm and soles /An introduction to dermatoglyphics.— Philadelphia, 1961.— 307 p.
10. Бочков Н.П., Буланов А.Г., Бураковский Г.Г. Количественный дерматоглифический метод диагностики болезни Дауна // Вопр. охраны материнства и детства.— 1972.— № 6.— С. 8–12.
11. Полюхов А.М., Колодченко В.П., Рудакова Н.И. Пальцевые и ладонные дерматоглифы у больных сердечно — сосудистыми заболеваниями и раком // Геронтология и гериатрия.— Киев, 1977.— С. 146–150.
12. Ciovornache M., Dimitriu L., Mogos I. et al. Dermatoglyphics in thyroid cancer // Rev. Roum. Med. Endocrinol.— 1986.— Vol. 24, № 3.— P. 171–183.
13. Тихонов А.В. Использование дерматоглифов и групп крови в качестве генетических маркеров при диагностике сердечно-сосудистых заболеваний / Атеросклероз, ИБС: диагностика и реабилитация больных.— Новосибирск, 1979.— С. 98–100.
14. Ползик Е.В., Шеметова М.В., Якушева М.Ю., Казанцев В.С. Особенности дерматоглифики у больных профессиональным пылевым бронхитом. // Генетика.— 1999.— Т. 35, № 10.— С. 1–5.
15. Нечаева О.Б., Ползик Е.В., Якушева М.Ю., Казанцев В.С. Дерматоглифика у больных разными формами туберкулеза органов дыхания. // Цитология и генетика.— 1996.— Т. 30, № 6.— С. 65–69.
16. Ходзицкая В.К., Зосимов А.Н. О взаимосвязи показателей дерматоглифики и клеточного иммунитета у детей в раннем периоде первичной туберкулезной инфекции // Пробл. туберкулеза.— 1993.— № 5.— С. 32–35.
17. Харитонов Р.А., Козлова А.И. Исследование дерматоглифических признаков для диагностики и прогноза эпилепсии // Журн. невропатол. и психиатр. им. Корсакова.— 1985.— Т. 85.— С. 861–867.
18. Боднар П.Н., Бортничук С.И. Дерматоглифика при сахарном диабете // Врач. дело.— 1977.— № 12.— С. 78–79.
19. Хамраева Ф.А., Хамраева Н.А. Дерматоглифика при ювенильном сахарном диабете // Педиатрия.— 1985.— № 2.— С. 12–15.
20. Гладкова Т.Д. Кожные узоры кисти и стопы обезьян и человека.— М.: Наука.— 1966.— 151 с.
21. Penrose L.S. Memorandum on dermatoglyphic nomenclature // Birth. defects: Orig. Article Series.— 1968.— Vol. 4, № 3.— P. 1–13.
22. Казанцев В.С. Задачи классификации и их программное обеспечение / Пакет КВАЗАР.— М.: Наука, 1990.— 136 с.

Поступила в издательство 20.12.2007 г.
Рецензент А.П.Щербо.

УДК 661.183.1

ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА КОМБИНИРОВАННЫХ СОРБЕНТОВ НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО УГЛЯ И ГЛУБОКОВОДНЫХ ПЕЛОИДНЫХ СИСТЕМ

С.С.Ставицкая, В.М.Викарчук, Н.Н.Цыба, Т.П.Петренко, Т.Картель, В.В.Стрелко, В.Н.Король
Институт сорбции и проблем эндоэкологии НАН Украины, Киев

Предложены новые композиционные сорбенты на основе модифицированного угля КАУ и донных отложений (пелоидов), изучены их структурные характеристики, сорбционная способность по отношению к веществам-маркерам, ионам тяжелых металлов, органическим красителям разной молекулярной массы, а также определена антимикробная активность к некоторым фитопатогенным штаммам. Показана целесообразность использования разработанных композитов по сравнению с индивидуальными составляющими для эффективного удаления из организма органических токсинов, вредных и ядовитых металлов, а также при антимикробной защите растений от фитобактерий.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время успешно развивается новая концепция энтеросорбции — разработка новых композиционных энтеросорбентов селективного действия. Так, в ИСПЭ НАН Украины получены комбинированные сорбенты, в которых удачно сочетаются свойства двух и более компонентов, а некоторые из них внедряются в производство. Такие композиты при поглощении вредных веществ, ионов тяжелых металлов (радионуклидов) одновременно нормализуют основные биохимические показатели организма [1–6], а составляющие комбинированного сорбента взаимно дополняют друг друга. Среди таких препаратов следует отметить сорбент Ультрасорб [1–5]. Его основой служили специальным образом модифицированные углеродные волокнистые адсорбенты типа АУВМ и глинистый минерал палыгорскит. Разработанный нами Ультрасорб имеет высокую селективность сорбции по ^{137}Cs из биологических сред (фактор селективности — коэффициент распределения K_d достигал 20 000), высокую поглотительную способность по ^{90}Sr ($K_d \sim 600$), тяжелым металлам — Pb, Co, Cd, Cu и Ni ($K_d \sim 2000\text{--}3500$).

Учитывая высокую сорбционную способность полученных нами ранее новых композиционных сорбентов на модифицированной микроэлементами углеродной основе и глинистой составляющей (Ультрасорб), катионзамещенных форм окисленного угля и эламина (Карбокси-кам), перспективных для коррекции биохимического статуса организма по показателям электролитного, белкового и липидного обмена, в данной работе были проведены исследования свойств и разработаны методы получения композитов с оптимальным составом на основе модифицированного угля КАУ и биологически ак-

тивных компонентов донных осадков Черного моря в качестве предполагаемых лечебных и бактерицидных лечебных форм.

Основная идея состояла в использовании новых минеральных ресурсов Черного моря, его лиманов и озерных иловых отложений (биологически активных дисперсных минералов и других составляющих донных осадков) для приготовления аппликационных материалов, косметических средств, лечебных композиций для их дальнейшего использования в травматологии, в ревматологии при лечении кожных покровов, воспалительных процессов в суставах, при радикулите, остеохондрозе, полиартрите и др.

Кроме того, предприняты первые попытки получения композиций на их основе с медьсодержащим углем, обладающих бактерицидными свойствами, поскольку соединения меди, наряду с серебром, ртутью, антибиотиками является известными антимикробными добавками [7, 8].

Сами же глубоководные отложения — пелоидные системы [9, 10] обладают уникальным минерально-органическим составом, в который входят природные дисперсные минералы и терригенные образования, создающие минеральную матрицу со «встроенными» в нее органическими компонентами, образованными многолетней деструкцией плактона, фито- и бактериоплактона, а также гуминовыми веществами, которая насыщена морской водой сложного электролитного состава с рядом важных для жизнедеятельности микроэлементов.

Условия нахождения глубоководных пелоидов — постоянная низкая температура, отсутствие света, наличие сероводородного слоя-экрана (на глубинах 200–400 м) позволяют говорить о длительной консервации таких систем и об их природной экологической чистоте.

Лечебные эффекты глубоководных морских пелоидных систем обусловлены рядом факторов [10–13]. Кроме теплового, присущего всем видам лечебных грязей и некоторым аппликационным материалам (парафину, озокериту), здесь присутствуют физико-химический, химический и биологический факторы. Физико-химический (коллоидно-химический) фактор, как сейчас становится ясным в результате проводимых нами [14, 15] и других исследований, реализуется за счет высоких адсорбционных характеристик таких систем, их способности к эффективному осмотическому массопереносу [16] и каталитической активности их минеральной части. Это позволяет осуществлять направленный массообмен через кожные покровы, удалять или наоборот доставлять те или иные вещества в системы крове- и лимфообращения, в систему питания различных тканей организма и суставов и тем самым оказывать лечебное воздействие на них и на организм в целом. В минеральном составе поверхностных грязевых систем отсутствуют природные дисперсные минералы, обеспечивающие эти механизмы.

Химический фактор обусловлен наличием в глубоководных пелосистемах специфического набора веществ и микроэлементов в концентрации [2], отличных от таковых в лечебных грязях поверхностного залегания и обеспечивающих целевое изменение метаболических и других функционально важных процессов эндокринной регуляции и т. п.

Биологический фактор связан с наличием в описываемых системах уникальной биологически активной органической составляющей, состоящей из указанных выше компонентов, которой присущи свои особенности лечебного воздействия.

Углеродные же сорбенты издавна и успешно применяются в энтеросорбции [17–20] при отравлениях солями тяжелых металлов, алкалоидами,

при пищевых интоксикациях (поглощают яды, препятствуя их всасыванию), при метеоризме и т. п.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Поскольку препараты, селективно связывающие тяжелые металлы (радионуклиды), органические загрязнители, должны содержать модифицирующие добавки, влияющие на общий минеральный обмен, не нарушающие при этом минерального баланса, для возможной коррекции солевого микроэлементного состава организма [9, 10, 13–16] в данной работе было проведено окисление углеродной поверхности (угля КАУ из косточек плодов фруктовых деревьев). Это придает, как известно [22], углю катионообменные свойства, необходимые для последующего получения катионных форм углеродных энтеросорбентов, содержащих различные добавки — Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} и др.

Солевые формы окисленного угля (ОУ) получали, как описано в ряде работ [10, 16, 22], методом ионного обмена. В опытах использовали ОУ — КАУ₀ со статической обменной емкостью 2,0 мг-экв/г, которую определяли методом химического титрования поверхностных функциональных групп ОУ [22]. Следует отметить, что для достижения выраженного терапевтического эффекта необходимо введение строго определенного количества физиологически важных катионов [21, 23].

При получении комбинированного сорбента специально модифицированный уголь КАУ тщательно перемешивали в диспергаторе при определенном соотношении с выбранными донными отложениями; полученный материал просеивали на сите с размером отверстий 0,16 мм.

Для исследований были выбраны донные отложения (ДО) Черного моря с глубины 2020 м (образец № 1, табл. 1), а также сульфидно-иловую грязь озера Солёный лиман (Днепропетров-

Таблица 1

Структурно-сорбционные свойства исходных составляющих и полученных на их основе композиционных материалов

№№ образца	Образец	Ws по C ₆ H ₆ , см ³ /г	Суд, м ² /г	S _{ми} , м ² /г	V _{ми} , см ³ /г	Адсорбция		
						МГ, мг/г,	В ₁₂ , мг/г	N ₂ , см ³ /г
1	Донные отложения Черного моря 2020 м	0,01	37	27	0,05	268	10	37
2	Озерный ил	0,09	43	14	0,01	270	—	28
3	КАУ	0,49	670	43	0,10	650	55	365
4	КАУ ₀	0,35	560	58	0,18	420	40	378
5	КС-1	0,16	603	5	0,10	390	—	365
6	КС-2	0,18	635	77	0,11	450	50	370
7	КС-3	0,17	480	59	0,11	—	—	—
8	КС-4	0,13	450	50	0,10	380	—	—

ской обл.) (образец № 2, см. также [2, 24]). Последняя используется для лечения различных заболеваний уже более 50 лет и дает хорошие клинические результаты в офтальмологии, ревматологии, травматологии, гастроэнтерологии и других отраслях медицины [11, 12, 23–25].

В опытах были использованы соотношения ДО к углю, равные 1:1 — композиционный сорбент КС-1 (образец ДО № 1 и К-, Mg-, Zn-форма угля КАУ_о) и 1:1,5 — для КС-2 с теми же составляющими, что и в КС-1.

При проведении поисковых исследований бактерицидных свойств композиционных сорбентов их углеродную составляющую — уголь КАУ модифицировали раствором хлорида меди (II) заданной концентрации (табл. 2) в режиме статической сорбции при постоянном перемешивании в течение 4-х часов определенных навесок

и соавт. [26], все описанные выше формы связывания меди с преобладающим содержанием слабо-связанной водорастворимой формы (см. табл. 2).

Кроме того, в некоторых случаях сорбировали медь и из менее концентрированных растворов, но при этом, скорее всего, получали легко вымываемую форму меди (II).

Поскольку характеристика пористой структуры дает возможность прогнозировать эффективность сорбента для решения конкретных задач сорбционной технологии, были изучены структурно-сорбционные свойства как исходных компонентов, так и готовых композиционных материалов с использованием общепринятых методов [27].

По сорбции паров бензола определяли удельный объем сорбционных пор (W_s), газохроматографическим методом тепловой десорбции арго-

Таблица 2

Условия модифицирования угля КАУ для испытаний его бактерицидной активности в смешанной с донными осадками форме

№№ образца	Фракционный состав, способ обработки после модифицирования медью	Концентрация раствора CuCl ₂ , мг-экв/л, для модифицирования	Концентрация меди, масс %, в образце
1	Фракция 0,16 мм, отмыта водой	5	37,6
2	Та же	3	3,8
3	Та же	2	4,2
4	Та же	1	4,3
5	Фракция 25 мм, обработана 1% NaOH, отмыта водой	0,1	1,1
6	Фракция 25 мм, обработана парами аммиака, отмыта водой	0,1	1,1
7	Фракция 0,25–0,5 мм	5	40,0
8	Фракция 0,25–0,5 мм	2	3,2
9	Фракция 0,25–0,5 мм	1	0,8

угля (5–1000 г) с соответствующим объемом (15–5000 мл) солевого раствора.

Следует отметить, что для углеродных сорбентов, модифицированных соединениями меди, известно, что они могут содержать как водорастворимую — молекулярно сорбированную в межпоровом или во внутрипоровом пространстве, так и кислоторастворимую — в виде гидроксида соли или катионообменно связанную медь (II) [17, 26]. Такое разнообразие форм связывания меди (II) открывает возможности получения препаратов с регулируемым количеством и скоростью выделения бактерицидных форм меди (II) в окружающую среду. При этом вполне вероятно получение высокоактивных форм бактерицида с меньшим расходом меди (II), с более низкой токсичностью по сравнению с известными медьсодержащими препаратами [26].

Поэтому уголь КАУ обрабатывали концентрированными (1–5 н) водными растворами CuCl₂, получая при этом, по мнению И.А.Тарковской

на [27] измеряли величину удельной поверхности ($S_{уд}$) исследуемых образцов (см. табл. 1).

На высокоскоростном газовом сорбционном анализаторе NOVA 2200E получали структурно-сорбционные характеристики исходных составляющих и полученных на их основе композитов, изотермы низкотемпературной (77 К) сорбции и десорбции азота на них, рассчитывали величины объемов микропор ($V_{ми}$), поверхность последних ($S_{ми}$) (рис. 1, 2; табл. 1).

Для получения количественных данных о селективности сорбции разных ионов металлов композитом КС-2 были выполнены сорбционные опыты в статических условиях: непрерывное перемешивание сорбента с раствором соответствующей соли с разными начальными концентрациями на фоне стандартного солевого раствора Рингера [9]. Соотношение твердой и жидкой фаз составляло 1:200. Исходные и равновесные концентрации ионов металлов (Pb^{2+} , Cd^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+}) определяли методом атом-

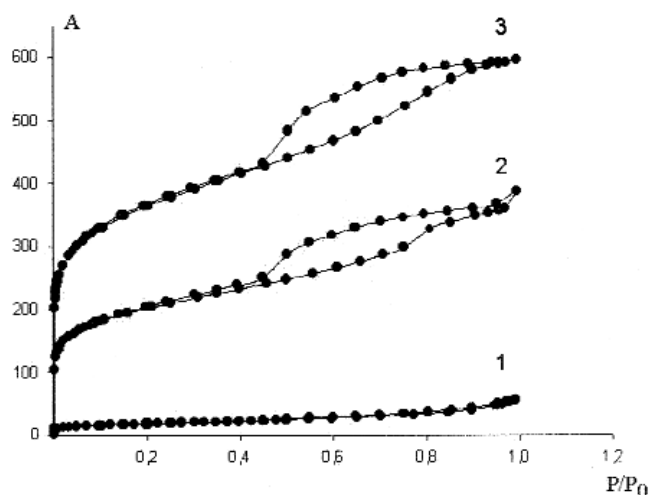


Рис. 1. Изотермы сорбции азота (А, см³/г) при $T = 77$ К на донных отложениях (образец № 1) (1), композите КС-2 (2) и угле КАУ в К, Mg, Zn-форме (3).

тивности ряда фитопатогенных бактерий: *Preudomanas lachrymans* (2 вида: 13 и 5а) и *Ervinia* (3 вида: 8982, 8163 и 549). Испытания проводили в УкрНИИ защиты растений (табл. 3).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 приведены некоторые структурно-сорбционные характеристики выбранных образцов донных отложений, исходного угля КАУ, его окисленной формы и полученных комбинированных сорбентов КС-1 — КС-4. Следует отметить, что два последних композита были получены для изучения их антимикробных свойств на основе медьсодержащего угля КАУ и образца ДО № 2 (КС-3), а также образца ДО № 1 (КС-4).

Из приведенных в табл. 1 и ранее полученных [1, 2] данных следует, что исследуемые ДО являются микропористыми сорбентами с объемом

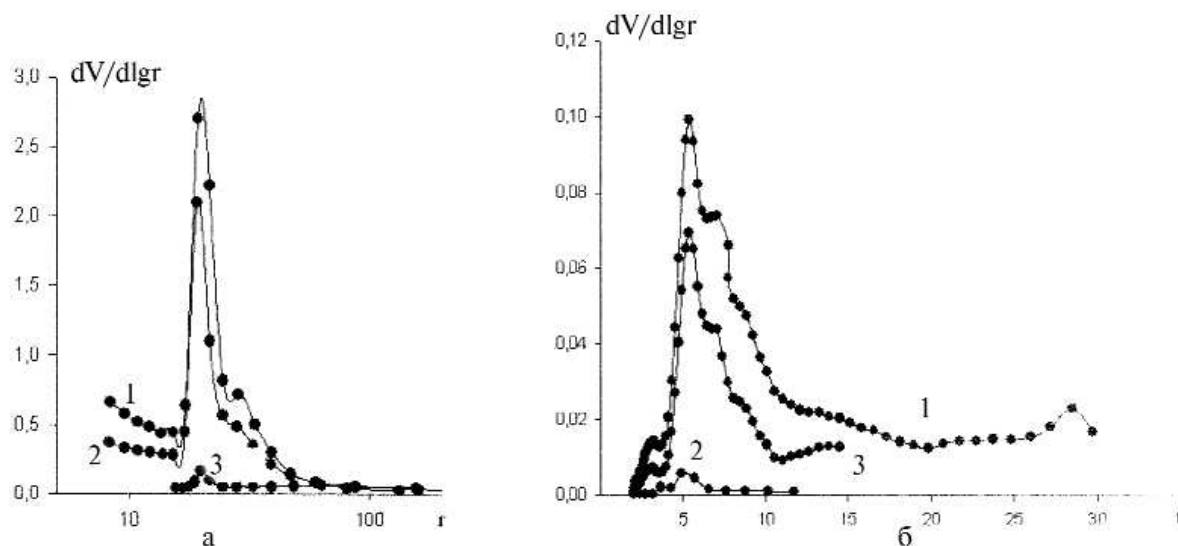


Рис. 2. Кривые интегрального (V) распределения пор по радиусам (r, Å), найденные по ВЖН- (а) и DFT- (б) методам на ДО (1), композите КС-2 (2) и угле КАУ в К-, Mg-, Zn-форме (3).

но-абсорбционной спектроскопии на приборе КАС-120.1.

Результаты поглощения ионов тяжелых металлов исследуемым сорбентом при $T = 20$ °С представлены на рис. 3 в виде соответствующих изотерм.

Сорбцию органических красителей с разной начальной концентрацией от 0,1 до 1,5 г/л проводили в статических условиях при соотношении твердой и жидкой фаз 1:150. Начальные и равновесные концентрации красителей определяли фотоколориметрическим методом на приборе КФК-3. Для исследования были выбраны следующие органические вещества: МГ, оранжевый желтый, конго красный и витамин В₁₂.

Об антибактериальных свойствах медьсодержащих комбинированных материалов и их составляющих судили по степени подавления ак-

микропор 10–2–1,8 10–2 см³/г и поверхностью $S_{\text{ми}}$, изменяющейся в пределах 14–58 м²/г. За счет наличия в композитах активного угля структурные и сорбционные показатели приготовленных комбинированных препаратов заметно улучшались (рис. 1а, б и 2а, б) по сравнению с ДО. Так, увеличился объем микропор, общая поверхность возросла с 40 до 669 м²/г; также увеличилась сорбционная способность КС по азоту (см. рис. 1, 2), витамину В₁₂ и МГ (см. табл. 1).

Следовательно, смешанные сорбенты на основе КАУ и ДО по своим структурно-сорбционным характеристикам, величине $S_{\text{уд}}$, а также по кинетике поглощения веществ-маркеров — МГ и витамина В₁₂ (рис. 4а и рис. 5б, табл. 1) — одного и того же порядка, что и гранулированные угли КАУ, и могут быть в дальнейшем использо-

Таблица 3

Бактерицидная активность медьсодержащих углеродных материалов в лабораторных условиях

№№ образца*	Материал	Бактерицидная активность** по отношению к				
		13	5a	8982	8163	549
1	КАУ модифицирован медью	+	+	++	++	+
5	КАУ модифицирован медью	+++	+++	+++	++	+++
7	КАУ модифицирован медью	+	+	++	+++	++
8	КАУ модифицирован медью	+++	+++	+++	++	++
	КС-3	++	+++	+++	++	+
	КС-4	++	+++	+++	++	++
	КАУ исходный	+	+	++	+	+
	Эталон ^x	++	++	+++	++	++
	Вода (контроль)	+	+	+	+	

Примечание: * — нумерация по табл. 2; ** — бактерицидную активность определяли по фитогенным штаммам. (+) — слабая чувствительность стерильной зоны 15 мм; (++) — средняя чувствительность стерильной зоны (15–25 мм); (+++) — сильная чувствительность стерильной зоны (более 25 мм). ^x — эталон — 3 Cu(OH)₂ · CuCl₂ × H₂O.

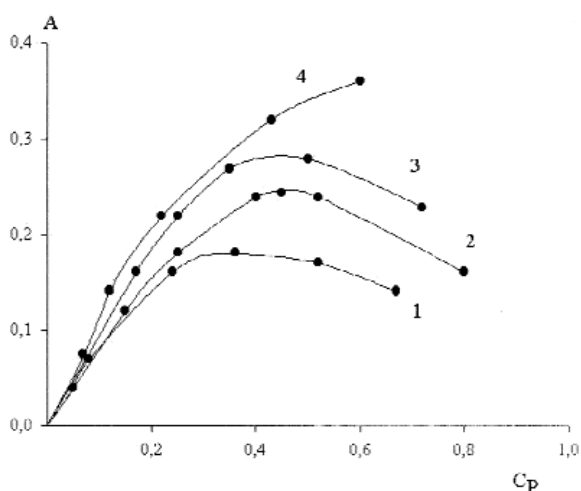


Рис. 3. Изотермы сорбции (А, мг/г) ионов Cd^{2+} (1), Ni^{2+} (2), Fe^{3+} (3) и Pb^{2+} (4) на комбинированном сорбенте КС-2.

Навеска сорбента — 0,25 г; объем сорбируемого раствора — 25 мл, C_p — равновесная концентрация (мг/л), $T = 20^\circ\text{C}$.

ваны для удаления из организма токсинов «малых» и «средних» молекул.

На рис. 3 приведены полученные изотермы сорбции ионов Cd^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{3+} и Pb^{2+} комбинированным сорбентом КС-2. При соотношении уголь — ДО 1:1,5 на этом сорбенте отмечены лучшие сорбционные свойства и характеристики, чем на композите КС-1, где соотношение тех же компонентов было 1:1.

Кривые описываются уравнением Фрейндлиха в интервале концентраций $C_p = 0,1\text{--}0,5$ мг/л. При этом величины сорбции ионов довольно близки в широком интервале концентраций, достигая максимального уровня в пределах $0,2\text{--}0,4$ мг/л.

Полученный ряд сорбируемости $\text{Pb}^{2+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$ является типичным для большинст-

ва ОУ разного генезиса и практически совпадает с рядом, полученным для Ультрасорба [8].

Таким образом, глинистая составляющая фактически не изменяет и в данном случае природу сорбции ионов модифицированным углем (КА-Уо-К, Mg, Zn-форма) — компонентом комбинированного сорбента КС-2. Фактически такой синтезированный сорбционный материал способен довольно эффективно снижать повышенные концентрации указанных металлов в организме (при так называемых металлозах) до необходимого (физиологического) уровня.

Полученные данные необходимы, на наш взгляд, для объективной оценки свойств композитов в качестве возможной лекарственной субстанции при сравнении с отечественными аналогами.

Эффективность сорбционного извлечения органических загрязнений в основном обусловлена соотношением между размером пор адсорбента и размером молекул сорбата [14, 20]; показателем последнего может служить молекулярная масса (ММ). Поэтому для целенаправленного подбора эффективного энтеросорбента необходимо иметь количественные характеристики его сорбционной активности в зависимости от ММ органических загрязнений.

В ряде работ [14, 20] была изучена сорбционная способность ДО по отношению к разным органическим красителям с ММ, изменяющейся от 100 до 700 а. е. м.

На рис. 4а, б представлены изотермы сорбции метиленового голубого (МГ с ММ 319) и оранжевого желтого (ММ 450), а на рис. 5а, б — конго красного (ММ 700) и витамина В₁₂ (ММ 1555) на исходном угле КАУо в К-, Mg-, Zn-форме и на композиционном сорбенте КС-2. Можно видеть, что величины сорбционного извлечения красителей, как и в других работах [1, 28], существенно зависят от величины

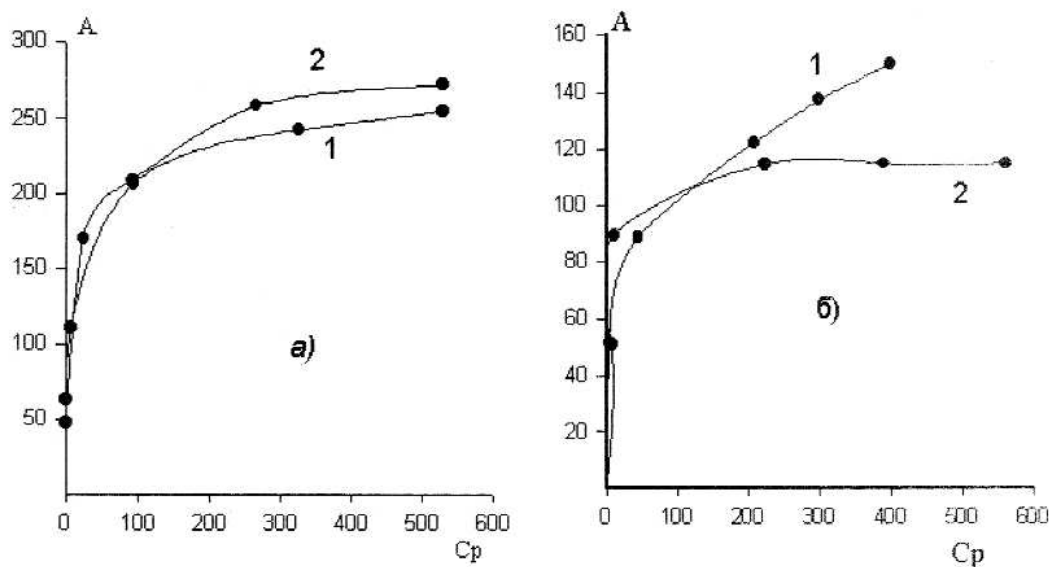


Рис. 4. Изотермы сорбции (A, мг/г) метиленового голубого (а) и оранжевого желтого (б) углем КАУ в К-, Mg-, Zn-форме (1) и композитом КС-2 (2) Навеска сорбента — 0,1 г; объем сорбируемого раствора — 25 мл, C_p — равновесная концентрация (мг/л), $T = 20^\circ\text{C}$.

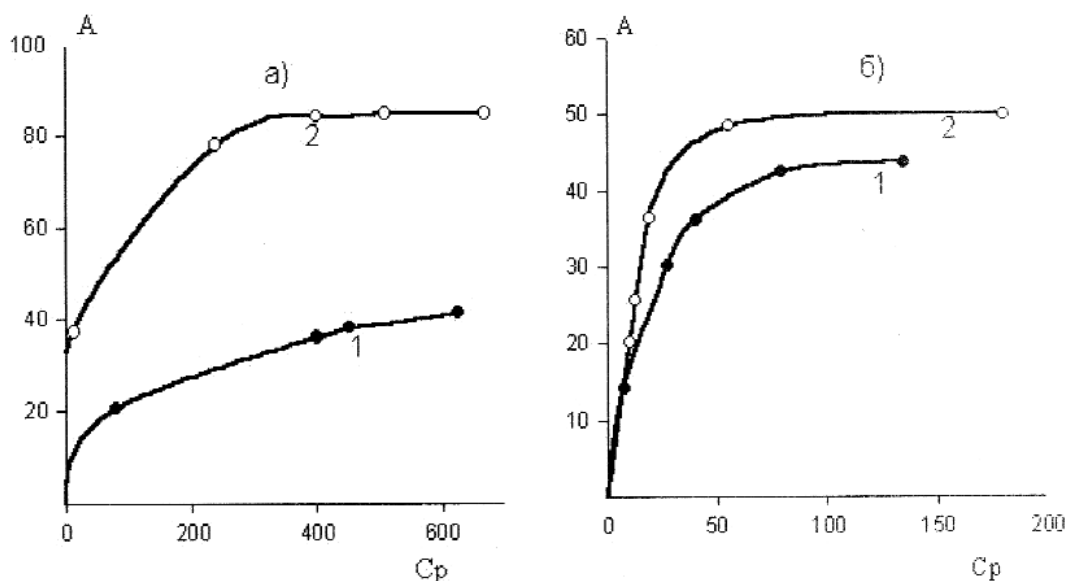


Рис. 5. Изотермы сорбции (A, мг/г) конго красного (а) и витамина B_{12} (б) углем КАУ в К-, Mg-, Zn-форме (1) и композитом КС-2 (2). Навеска сорбента — 0,1 г; объем сорбируемого раствора — 25 мл, C_p — равновесная концентрация (мг/л), $T = 20^\circ\text{C}$.

их молекулярной массы, что, вероятно, обусловлено доступностью сорбционного объема пористого материала для молекул тестовых веществ. Кроме того, полученные величины адсорбции красителей (A, мг/г) одного порядка с аналогичными данными, полученными на угле (рис. 4, 5). Это дает основание сделать вывод о том, что полученные композиты в виде смесей с модифицированным углем могут быть перспективными для ускорения детоксикации организма от вредных органических веществ.

Для получения препаратов с бактерицидными свойствами были синтезированы и исследованы медьсодержащие угли КАУ (табл. 2) и на их ос-

нове — композиты КС-3 и КС-4 с использованием соответственно ДО № 2 и № 1 (см. табл.1) при соотношении 1:1.

Для нахождения оптимальных условий синтеза (см. табл. 2) варьировали размер зерен исходного угля КАУ (диаметр частиц меняли от 0,16 мм до 0,25–0,5 мм), концентрацию раствора CuCl_2 , величину pH раствора и др.

При исследовании зависимости сорбции меди от размера зерен угля найдено (см. табл. 2), что для высоких исходных концентрациях меди фракционный состав угля практически не влияет на количество поглощенной меди. Из менее концентрированных растворов сорбция меди на мел-

козерненных фракциях выше, чем на более крупных частицах (см. табл. 2, образцы № 4 и № 12).

Оказалось, что относительно низкие значения pH раствора влияют на сорбцию меди и только в случае разведенных растворов. В высококонцентрированных растворах величина pH практически не влияет на сорбционное поглощение меди.

Были получены образцы с разными формами связывания меди, для чего проводили ее сорбцию как из концентрированного (образцы № 1–3), так и из относительно разведенного раствора CuCl_2 (образцы № 4–7). При этом предполагалось, что большая часть водорастворимой меди переходит в поры в состоянии, близком к эталону — $3\text{Cu}(\text{OH})_2 \cdot \text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

В некоторых случаях для увеличения сорбции меди образцы (№ 5, 6) обрабатывали раствором NaOH либо аммиака. После сорбции проводили вымывание избыточного количества меди дистиллированной водой.

Проведенные сравнительные исследования бактерицидного действия полученных препаратов показали (табл. 3), что некоторые образцы имеют более высокую эффективность действия по сравнению с эталоном и с углем, не обработанным раствором CuCl_2 (см. табл. 3, образец № 5). Это, например, медьсодержащие образцы угля КАУ (№ 2–4) и композиты на основе ДО — КС-3 и КС-4. Так как эти препараты были получены из концентрированных растворов (5 н раствор CuCl_2) и содержали, по данным С.В.Паховчишина и соавт. [16], значительные количества водорастворимой меди, то можно полагать, что антибактериальные свойства таких образцов, скорее всего, и связаны со способностью меди переходить в раствор. Сорбенты же типа КС-3 и КС-4 могут быть перспективны для сельского хозяйства при защите растений (томаты, картофель) от фитобактерий.

Проведенные исследования показали, что композиты на основе ДО и активного угля можно использовать в качестве сорбентов (энтеросорбентов) с улучшенными по сравнению с исходными составляющими свойствами для эффективного удаления из организма органических токсинов, вредных и ядовитых металлов, а также при антимикробной защите растений от фитобактерий.

После проведения необходимых медицинских испытаний планируется использование полученных композитов при лечении кожных за-

болеваний, воспалительных процессов в суставах, при радикулите и проч.

ВЫВОДЫ

1. Синтезированы композиционные сорбенты (КС) разного состава на основе ранее исследованных донных отложений (ДО) и специально модифицированного жизненно важными катионами металлов угля из фруктовой косточки.

2. Изучены структурно-сорбционные свойства исходных компонентов и полученных на их основе композиционных сорбентов. Определены их удельная поверхность ($S_{уд} \sim 450\text{--}670 \text{ м}^2/\text{г}$), общий объем сорбционных пор по бензолу ($W_s \sim 0,2 \text{ см}^3/\text{г}$), найдены изотермы сорбции веществ-маркеров и азота при 77 К; на их основе рассчитаны величины объемов микропор исследуемых сорбентов ($V_{ми} \sim 0,11 \text{ см}^3/\text{г}$), их поверхности ($S_{ми} \sim 5\text{--}110 \text{ см}^2/\text{г}$). Установлено улучшение показателей пористой структуры разработанных КС по сравнению с обычными донными отложениями.

3. Получен ряд сорбируемости ионов тяжелых металлов (Pb^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} , Cd^{2+}) на одном из синтезированных композиционных сорбентов. Установлено, что глинистая компонента фактически не изменяет природу сорбции изученных ионов, характерную для обычных окисленных углеродных сорбентов. Сделано предположение о возможности снижения концентрации указанных ионов в организме с помощью комбинированных материалов на углеродной и неорганической основе.

4. Проведено тестирование синтезированных композиционных сорбентов КС (в сравнении с модифицированным углем) по отношению к органическим красителям с различной молекулярной массой. Найдено, что величина сорбции органических загрязнителей определяется пористой структурой сорбента и размерами самого сорбата (его молекулярная масса) и является одного и того же порядка, что и для активированных углеродных поглотителей.

5. Сравнительные исследования антимикробной активности медьсодержащих углей КАУ и их композитов с донными отложениями показали более высокую эффективность изученных композиционных сорбентов КС по сравнению с эталоном и возможность применения последних при защите сельскохозяйственных растений (овощей) от фитобактерий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ставицкая С.С., Петренко Т.П., Герасименко Н.В., Давыдов В.И. Получение и исследование новых комбинированных энтеросорбентов на основе пористых модифицированных углеродных волокон и селективных минеральных сорбентов // Журн. прикл. химии.— 1995.— Т. 68, № 11.— С. 1792–1797.

2. *Картель Н.Т., Ставицкая С.С., Викарчук В.М. и др.* Сорбция ионов тяжелых металлов и радиоцезия композиционным сорбентов «Ультрасорб» // Теоретич. и эксперим. химия.— 2000.— Т. 36, № 1.— С. 53–57.
3. *Kartel M.T., Srelko V.V., Staviiskaya S.S. et al.* Combined adsorption preparations from active carbons, mineral clays and natural plant products // Combined and Hybrid Adsorbents: fundamentals and Applications.— 2006.— P. 165–179.
4. *Ставицкая С.С., Кирсенко В.В., Карпенко В.Н. и др.* Влияние нового комбинированного энтеросорбента «Ультрасорб» на биохимические и морфологические показатели крови // Укр. биохим. журн.— 1996.— № 4.— С. 95–100.
5. *Картель Н.Т., Ставицкая С.С., Стрелко В.В. и др.* Оценка эффективности и переносимости препарата Ультрасорб в комплексной терапии при интоксикации различного генезиса // Эфферентная терапия.— 2005.— Т. 11, № 2.— С. 27–35.
6. *Картель Н.Т., Ставицкая С.С., Купчик Л.А. и др.* Комбинированный энтеросорбент Карбоксикам для профилактики и лечения ишемической болезни сердца // Эфферентная терапия.— 2004.— Т. 10, № 4.— С. 66–69.
7. *Ставицкая С.С., Томашевская А.Н., Гоба В.Е., Картель Н.Т.* Модифицирование углеродных материалов с целью придания им фунгицидных и бактерицидных свойств // Журн. прикл. химии.— 2003.— Т. 76, № 1.— С. 46–49.
8. *Тарковская И.А.* Сто «профессий» угля.— Киев: Наукова думка.— 1990.— 200 с.
9. *Филимонов Р.М., Дивнич Н.С., Тимохина Н.А.* Применение пелоидотерапии низких температур и экстракта артишока (Хофитола) в комплексном восстановительном лечении дискинезий желчевыводящих путей в санаторнокурортных условиях // Гепатология.— 2005.— № 2.— С. 18–23.
10. *Верба О.Ю., Потапова О.В., Курнякин В.Н. и др.* Молекулярно-клеточные механизмы противовоспалительного действия пелоидов // Бюллетень СО РАН.— 2005.— №2 (116).— С. 134–138.
11. *Шинкаренко А.Л., Милейна Н.Г.* Органические вещества лечебных грязей и их роль в механизме лечебного действия на организм // Методические рекомендации.— Пятигорск, 1973.— 27 с.
12. *Вайсфальд Д.Н., Голуб Т.Д.* Лечебное применение грязей.— Киев: Здоров'я, 1980.— 144 с.
13. *Татевосов С.Р.* Грязелечение.— М.: Медгиз, 1983.— 99 с.
14. *Ставицкая С.С., Викарчук В.М., Цыба Н.Н. и др.* Изучение возможности сорбционного извлечения органических загрязнителей различной молекулярной массы морскими и речными донными осадками и некоторыми глинистыми сорбентами // Экотехнологии и ресурсосбережение.— 2006.— № 6.— С. 58–63.
15. *Ставицкая С.С., Стрелко В.В., Картель Н.Т. и др.* Характеристики природных минеральных донных отложений Черного моря как базовой основы новых аппликационных и косметических средств // Экотехнологии и ресурсосбережение.— 2007.— № 4.— С. 25–31.
16. *Паховичишин С.В., Прокопенко В.А., Грищенко В.Ф. и др.* Колоїдно-хімічні та лікувальні властивості нанорозмірних систем глинистих мінералів // Нанорозмірні системи. Електронна, атомна будова і властивості. НАНСИС: Тез. допов. конф.— Київ, 2004.— С. 244.
17. *Энтеросорбция* / Под ред. Н.А.Белякова.— Л.: ЦСТ, 1991.— 336 с.
18. *Ставицкая С.С., Гоба В.Е., Картель Н.Т.* Получение и исследование новых хлорированных углеродных материалов с антимикробными свойствами // Журн. прикл. химии.— 2002.— Т. 75, № 12.— С. 1997–2001.
19. *Давыдов В.И., Ставицкая С.С., Картель Н.Т., Стрелко В.В.* Энтеросорбция: состояние, проблемы и перспективы применения. Препринт ИСПЭ НАНУ 93/03.— Киев, 1993.— 67 с.
20. *Андрейчин М.А., Гнатюк М.С.* Энтеросорбенты как средство очищения организма.— Киев: Знание Украины, 1992.— 48 с.
21. *Тарковская И.А.* Окисленный уголь.— Киев: Наук. думка, 1981.— 198 с.
22. *Исаев Ю.А.* Лечение микроэлементами, металлами, минералами.— Киев: Здоровье, 1992.— 117 с.
23. *Хухрянский В.Г., Цыганенко А.Я., Павленко Н.В.* Химия биогенных элементов.— Киев: Вища школа, 1990.— 206 с.
24. *Царфис П.Г., Киселев В.В.* Лечебные грязи и другие природные теплоносители.— М.: Высш. шк., 1990.— 125 с.
25. *Мальте Н.Н.* Грязелечение в офтальмологии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Симферополь, 1969.— 37 с.
26. *Тарковская И.А., Ставицкая С.С., Ларина А.А., Фарберова Е.А.* Влияние различных свойств углей на качество получаемых на их основе хемпоглобителей аммиака // Хим. технол.— 1990.— № 4.— С. 47–51.
27. *Кельцев Н.В.* Основы адсорбционной техники.— Л.: Химия, 1984.— 592 с.
28. *Купчик Л.А., Картель Н.Т.* Тестування ентеросорбентів за селективністю до органічних забруднювачів різної молекулярної маси // Збірник науково-практ. семінару «Планета без стійких органічних забруднювачів (СОЗ)».— Київ, 2005.— С. 79–82.

Поступила в редакцию 24.09.2007 г.
Рецензент А.В.Саломенников.

УДК 616.366-003.7:616.9

ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНАЯ АНТИБИОТИКОПРОФИЛАКТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ ХОЛЕЦИСТЭКТОМИИ У БОЛЬНЫХ С ЖЕЛЧНОКАМЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

В.А.Филиппов, В.И.Горбачев, Н.Г.Корнилов, С.М.Горбачева

Иркутский государственный институт усовершенствования врачей,
Республиканская клиническая больница им. Н.А.Семашко МЗ РБ, г. Улан-Удэ,
Иркутский государственный медицинский университет, Россия

© Коллектив авторов, 2007 г.

Было изучено исходное состояние и послеоперационная динамика показателей клеточного, гуморального и фагоцитарного звеньев иммунитета. Выявлена характерная особенность клеточного звена иммунитета в послеоперационном периоде — дефицит на 3–4-е сутки зрелых Т-лимфоцитов, Т-хелперов и снижение фагоцитарной активности нейтрофилов как одна из причин формирования иммунодепрессии. Установлена эффективность применения экстракорпорального введения антибиотика на взвеси клеток аутокрови полученной при плазмаферезе в качестве метода профилактики послеоперационных инфекционных раневых и бронхолегочных осложнений плановой холецистэктомии проведенной открытым способом у больных пожилого и старческого возраста. Их частота возникновения снизилась с 10% до 4,4%.

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционные осложнения в послеоперационном периоде до настоящего времени являются одним из факторов, оказывающим негативное влияние на результаты хирургического лечения желчнокаменной болезни у больных пожилого и старческого возраста. Несомненная актуальность этой проблемы в билиарной хирургии обусловлена высокой частотой заболеваемости желчнокаменной болезнью и числа послеоперационных инфекционных осложнений в структуре госпитальной инфекции. Это связано как с исходным скомпрометированным иммунным статусом, высокой частотой сопутствующих заболеваний, бактериобилии, так и с хирургической агрессией, повышенным риском нозокомиальной инфекции у этой категории больных. Характерная для данной возрастной категории пациентов исходная иммунодепрессия усугубляется в послеоперационном периоде за счет влияния оперативного вмешательства, лекарственной терапии, обострения сопутствующих хронических заболеваний [1]. Заболеваемость желчнокаменной болезнью составляет 10–15% среди всех заболеваний органов брюшной полости, а у больных старше 70 лет — 33–50%. Послеоперационные инфекционные осложнения при операциях на желчном пузыре и протоках около 5–20% [2, 3].

Высокая частота возникновения послеоперационных инфекций представляет серьезную проблему для антибиотикопрофилактики. Стандартное внутривенное введение антибиотика во

время операции позволяет снизить частоту послеоперационной инфекции с 15% до 9% [4–6].

Основными патогенами инфекционных осложнений холецистэктомии являются кишечные палочки, клебсиеллы, энтерококки, реже встречаются другие грамотрицательные бактерии, стрептококки, стафилококки и иногда анаэробы и клостридии. Для антибиотикопрофилактики чаще используют цефалоспорины [5, 7, 8]. Применяемые в настоящее время подходы к антибактериальной профилактике у больных старше 60 лет, не всегда эффективны [9]. Недостаточная эффективность антибиотикопрофилактики может являться следствием неясности патофизиологических механизмов адаптационного иммуногенеза после операции, отсутствием действенных способов коррекции нарушенных звеньев гомеостаза [10, 11].

В связи с этим разработка оптимальной методики экстракорпоральной антибиотикопрофилактики с использованием плазмафереза у больных пожилого и старческого возраста является актуальной и перспективной для улучшения общих результатов хирургического лечения хронического холецистита [12–14]. В доступной литературе нами не найдено данных, посвященных проведению антибиотикопрофилактики методом ЭКФТ с использованием взвеси клеток аутокрови полученных при плазмаферезе. Также следует отметить отсутствие данных об особенностях влияния экстракорпоральной антибиотикопрофилактики на функциональное состояние клеточного и гуморального иммунитета, течение послеоперационного периода, экономическую эффективность лечения у больных старше 61 года.

Целью настоящей работы явилась оптимизация антибиотикопрофилактики инфекционных осложнений после холецистэктомии у больных пожилого и старческого возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 83 больных, в возрасте от 61 до 75 лет, оперированных в отделении хирургии № 2 МУЗ «Республиканская клиническая больница им. Н.А.Семашко» г. Улан-Удэ в 2002–2006 гг. Распределение пациентов по возрасту, большинству клинических и лабораторных показателей отличалось от нормального, что потребовало применения непараметрических методов статистического анализа (рис. 1).

Критериями отбора в исследование были: согласие больного, возраст старше 61 года, плано-

Эксузия. Забор 350–400 мл крови (7% ОЦК) в пластиковый контейнер со стабилизатором «Гемакон 500/300» (АО «Синтез», Россия).

Обработка. Контейнер с кровью центрифугировали со скоростью 2000 об/мин в течение 15 минут на аппарате «РС-6». Плазмоекстрактором отделяли плазму крови от клеточной массы, после чего в клеточную массу вводили 1 грамм цефотаксима разведенного в 50 мл изотонического раствора натрия хлорида и 2 мл 1% раствора АТФ. Смесь инкубировали при комнатной температуре 20 минут, периодически встряхивая.

Реинфузия. После этого смесь реинфузировали с восполнением потери плазмы кристаллоидными растворами (в соотношении 1:3).

Лабораторные методы исследования включали в себя определение количества эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, биохимических пока-

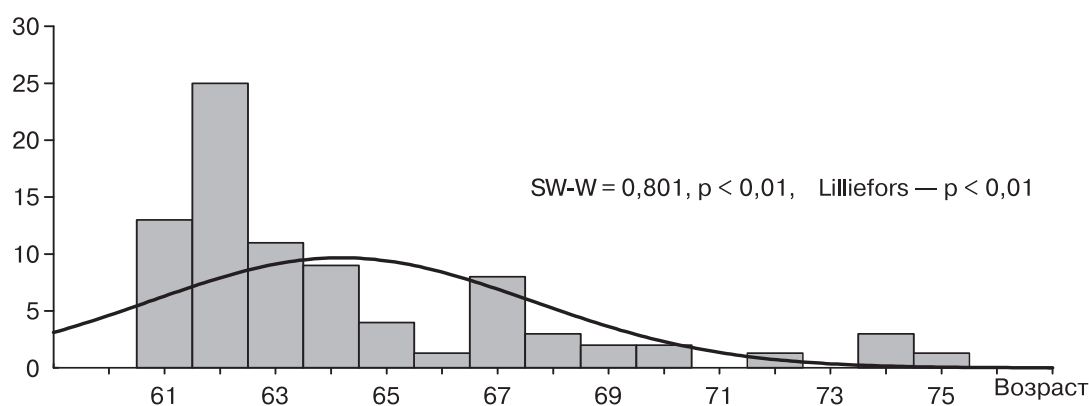


Рис. 1. Распределение наблюдаемых пациентов по возрасту.

вая холецистэктомия «открытым» способом, индекс риска инфекционных осложнений в области операции по NNIS (1997) два и более, в течение недели до операции больным не назначались антибиотики, отсутствие противопоказаний к проведению дискретного плазмафереза.

Исключение больных из исследования проводили в следующих случаях: отказ больного; интраоперационная реконструкция желчевыводящих путей, в том числе их дренирование; не выполнение протокола клинического и лабораторного обследования.

Для оценки эффективности антибиотикопрофилактики больным до операции, на 3–4-е, 7–8-е сутки после операции проводилось комплексное обследование, включающее в себя оценку: степени органических дисфункций по шкалам SOFA и SAPS II, состояния послеоперационной раны, уровня эндогенной интоксикации, показателей иммунограммы.

Методика экстракорпорального введения антибиотика:

Премедикация. Для профилактики гипотензии больным внутривенно переливали 200–250 мл 0,9% раствора натрия хлорида.

зателей аппаратами «КФК-3», «Sapphire» и «Минигем-540». Подсчет лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ) проводили по формуле Я.Я.Кальф-Калифа.

Состояние иммунного статуса оценивалось у 72 больных по относительному (%) и абсолютному (клеток/мл) количеству лимфоцитов, Т-популяции (CD3⁺) и субпопуляций Т-хелперов (CD4⁺) и Т-супрессоров (CD8⁺), В-популяции (CD22⁺) в непрямой реакции поверхностной иммунофлуоресценции, моноклональными антителами. Рассчитывали ИРИ — соотношение CD4⁺/CD8⁺.

Уровень сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G определяли методом радиальной иммунодиффузии по G.Mancini (1965). Для оценки фагоцитарной активности нейтрофилов (ФАН) использовали тест-культуру стафилококков. Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) оценивали методом перципитации раствором полиэтиленгликоля в буфере. Данные больных сравнивали с показателями возрастной нормы, используемыми в лаборатории РКБ им. Н.А.Семашко г. Улан-Удэ. Степень изменений показателей оценивали по клас-

сификации А.М.Земскова и соавт. (1994). Клинически значимыми считали различия с нормой более 33%. Микробиологическое исследование мазков из ран, мокроты, интраоперационных проб желчи проводили на основании приказа № 535 от 22.04.1985 МЗ СССР.

Анализ минимизации затрат (СМА) применялся для сравнения затрат на альтернативные методы лечения и профилактики при условии равенства достигаемого результата. Оценка сводилась к выбору более дешевой альтернативы.

лись инфекции раны у пяти больных (6,25%) и бронхолегочные осложнения у трех больных (3,75%) что связано, в том числе с недостаточной эффективностью антибиотикопрофилактики и частыми сопутствующими заболеваниями.

Выполнено 75 заборов проб желчи во время операции. Бактериобилия выявлена у 27 (36%) случаях. Преобладала грамотрицательная микрофлора — *E. coli* (37%), *Staphylococcus spp.* (36%), *Klebsiella pneumoniae* (18%), *Proteus mirabilis* (9%) с чувствительностью к цефотаксиму (табл. 1).

Таблица 1

Чувствительность к антибиотикам микрофлоры проб желчи

Антибиотики	<i>E.coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>
Амоксициллин клавуланат	+	+	+	+
Ампициллин	R	R	R	Не опр.
Цефоперазон сульбактам	+	+	+	Не опр.
Имипенем	+	+	+	Не опр.
Цефотаксим	+	+ / r	+	+
Цефазолин	R	+	R	+
Гентамицин	R	R	+	Не опр.
Карбенициллин	R	R	R	Не опр.
Ципрофлоксацин	+	+	+	Не опр.
Цефтриаксон	+	+	+	Не опр.
Оксациллин	Не опр.	Не опр.	Не опр.	+

Анализ эффективности затрат (СЕА) рассчитывался по формуле: $C_1/E_1 = C_2/E_2$, где C_1 и C_2 — затраты на 1 и 2 варианты антибиотикопрофилактики; E_1 и E_2 — число больных без инфекционных осложнений.

Статистическая обработка результатов проведена с помощью пакета программ Statistica 6.0 for Windows. Проверку нормальности распределения полученных данных проводили с помощью тестов Шапиро — Уилка и Лилиефорса. Значимость различий показателей двух зависимых групп определяли критерием Вилкоксона (p_w), в несвязанных группах критерием Манна-Уитни (p_u). В тексте данные представляли как медиану и 25–75% границы интерквартильного отрезка. Сравнение качественных показателей двух независимых групп по частоте изучаемого признака использовали критерий Фишера. Различия значимы при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

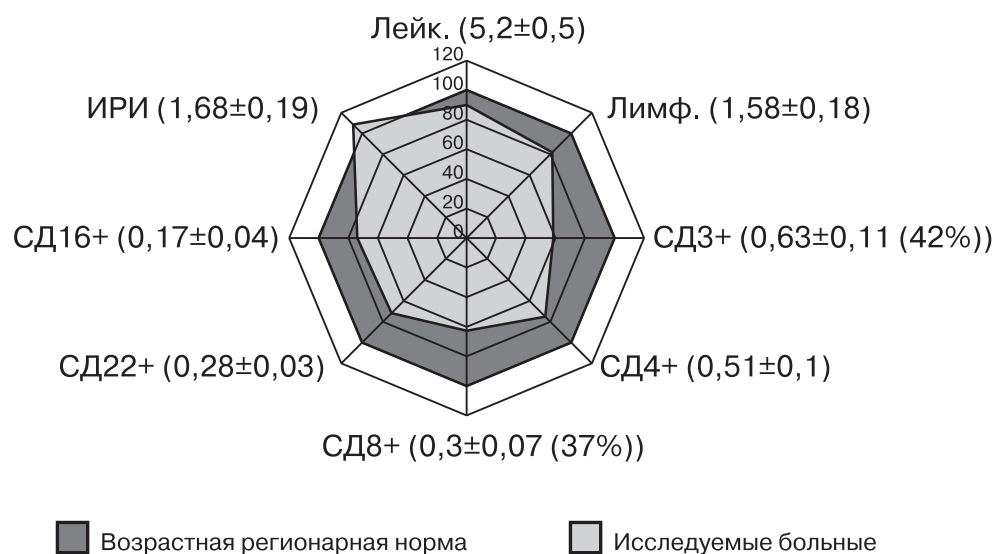
За 2002–2006 гг. в отделении плановой хирургии РКБ выполнено 103 «открытых» холецистэктомии. Осложнения развились в 13,6% (14 больных). Инфекции раны и бронхолегочные осложнения развились у девяти больных (64% всех осложнений). Возраст 80 больных (77,7%) превышал 61 год. В данной группе пациентов также чаще встреча-

Проведено проспективное рандомизированное обследование 83 больных, в возрасте от 61 до 75 лет, которым выполнена плановая холецистэктомия «открытым» способом. Для большинства исследованных больных была характерна полиморбидность. В структуре сопутствующих заболеваний преобладали болезни желудочно-кишечного тракта (43%) и системы кровообращения (27%). Это определило исходные изменения показателей клеточного иммунитета (рис. 2).

У 48 больных (58%) имелся вторичный Т-клеточный иммунодефицит (ИД) супрессорного типа по относительному гиперхелперному варианту. Абсолютное число зрелых Т-лимфоцитов на 42%, а Т-супрессоров на 37% меньше показателей возрастной регионарной нормы. «Слепым методом» по способу профилактического введения антибиотика больные разделены на три сопоставимые по возрасту, сопутствующим заболеваниям, другим клиническим и лабораторным, в том числе иммунологическим, показателям группы.

Больным I группы ($n = 30$) за 14–15 часов до операции антибиотик вводили однократно после инкубации с взвесью аутоклеток полученной при использовании плазмафереза и индуктором проникновения препарата в клетки — АТФ.

Больным II группы ($n = 25$) в течение 5 суток после операции антибиотик вводили внутримышечно «в курсовой» дозе 20 г.

Рис. 2. Исходные показатели клеточного иммунитета (×10⁹/л).

Больным III группы (n = 28) антибиотик вводился однократно внутривенно во время операции за 30 минут до разреза.

Во всех группах использовался цефотаксим в разовой дозе 1 грамм.

Рандомизация проводилась с использованием компьютерной программы генератора случайных чисел (программа STATISTICA 6.0 for Windows) и функция rnd (100).

Анализ клинических данных показал следующее (табл. 2).

(1,32–1,91)×10⁹/л, во II группе — 1,58 (1,28–1,84)×10⁹/л, а у больных III группы — 1,53 (0,875–1,745)×10⁹/л и были ниже нормальных значений. В I и III группе на 3–4-е сутки после операции и в конце первой недели этого показатель значительно не изменился. Выраженное уменьшение абсолютного числа лимфоцитов (в 1,5 раз) произошло на 3–4-е сутки послеоперационного периода лишь во II группе — 1,04 (0,94–1,17)×10⁹/л (p_w < 0,001). Вероятно, это обусловлено влиянием операционного стресса, им-

Таблица 2

Частота послеоперационных инфекционных осложнений

Осложнения	ЭКФТ (n=30)	Внутримышечное введение (n=25)	Внутривенное введение (n=28)
Бронхолегочные осложнения	Не выявлено	Не выявлено	4*
Раневые осложнения	Не выявлено	Не выявлено	4*

Примечание: * — pF < 0,05.

Выраженных органных дисфункций по шкалам SOFA и SAPS II и увеличения срока госпитализации сверх норматива выявлено не было во всех группах больных. Инфекционные осложнения после операции развились только в группе интраоперационного введения антибиотика. Таким образом, антибиотикопрофилактика методом внутривенного введения у больных данной возрастной группы была недостаточно эффективной.

Сравнительная динамика показателей иммунитета по абсолютному количеству лимфоцитов, CD3⁺, CD4⁺-клеткам, фагоцитарной активности нейтрофилов, уровню IgG представлялась очень важной. Одним из основных прогностических критериев является лимфопения, которая развивается на 3–4-е сутки после операции и предвещает инфекционные осложнения 5–6-го дня.

Абсолютное количество лимфоцитов у больных I группы, до операции составило 1,71

муноподавляющего действия курсовой дозы антибактериального препарата и исходного состояния иммунной системы.

На 7–8-е сутки в этой группе уровень лимфоцитов увеличился до 1,38 (1,16–1,73)×10⁹/л. У больных, получивших антибиотикопрофилактику методом ЭКФТ на 3–4-е сутки после операции, при сравнении независимых групп лимфопения оказалась менее выраженной.

Таким образом, на 3–4-е сутки, абсолютное число лимфоцитов в группе ЭКФТ было значительно выше, чем во II и III группах (p_u < 0,001 и p_u < 0,05).

При анализе динамики общего пула лимфоцитов CD3⁺-клеток было отмечено, что в I группе больных абсолютное число зрелых Т-лимфоцитов до операции составило 0,72 (0,59–0,81)×10⁹/л, что ниже нормального уровня. В динамике на 3–4-е и 7–8-е сутки послеопе-

рационного периода выраженных изменений не отмечено.

Во II группе больных, абсолютное число зрелых Т-лимфоцитов исходно составило $0,61 (0,55-0,74) \times 10^9/\text{л}$. На 3–4-е сутки послеоперационного периода отмечено снижение этого показателя на уровень более чем в два раза ниже нормы до $0,53 (0,38-0,61) \times 10^9/\text{л}$ ($p_w < 0,001$). На 7–8-е сутки после операции абсолютное число $\text{CD}3^+$ -клеток восстановилось до $0,61 (0,46-0,87) \times 10^9/\text{л}$.

В III группе больных исходно абсолютное число зрелых Т-лимфоцитов составило $0,625 (0,395-0,87) \times 10^9/\text{л}$. На 3–4-и и 7–8-е сутки после операции практически не изменилось.

Выраженные изменения числа $\text{CD}3^+$ -клеток найдены только во II группе больных и пик уменьшения приходится на 3–4-е сутки после холецистэктомии. Сравнение независимых групп показало, что абсолютное число $\text{CD}3^+$ -клеток у больных после экстракорпорального введения антибиотика на 3–4-е сутки после операции значительно ($p_u < 0,01$) превосходило этот показатель больных II группы.

Абсолютное число Т-хелперов исходно было ниже нормы во всех группах больных. В I группе до операции этот показатель составил $0,48 (0,37-0,61) \times 10^9/\text{л}$. На 3–4-е и 7–8-е сутки практически не изменился. В III группе до операции количество $\text{CD}4^+$ -клеток, равнялось $0,57 (0,295-0,715) \times 10^9/\text{л}$. На 3–4-е и 7–8-е сутки после операции значимо не менялось.

Иная картина наблюдалась во II группе больных. До операции абсолютное число Т-хелперов составило $0,48 (0,42-0,63) \times 10^9/\text{л}$, на 3–4-е сутки произошло уменьшение этого показателя в 1,2 раза до $0,4 (0,29-0,46) \times 10^9/\text{л}$ ($p_w < 0,01$), а на 7–8-е сутки он вернулся к исходному уровню — $0,47 (0,33-0,46) \times 10^9/\text{л}$.

Обращает на себя внимание то, что на 3–4-е сутки количество $\text{CD}4^+$ -клеток значительно снижается только во II группе, а в группе III на 7–8-е сутки после операции восстановление происходит на уровень выше нормы. На 3–4-е сутки только в I группе отмечено хоть и не значительное, но увеличение числа $\text{CD}4^+$ -клеток. Сравнение этих клеток в независимых группах, в I группе на 3–4-е сутки делает этот показатель в 1,5 раз более высоким ($p_u < 0,01$), чем у больных II группы. Восстановление на 7–8-е сутки в 1,5 раз более полно ($p_u < 0,05$) проходит в группе III по сравнению с показателем II группы. Уменьшение количества Т-хелперов на 3–4-е сутки после операции на фоне исходного ИД по супрессорному типу приводит к тотальному Т-клеточному дефициту (хелперному и супрессорному) определяя высокий риск инфекционных осложнений.

ФАН до операции превышала возрастную норму во всех группах. В I группе больных она

составила 78 (67–83)%, на 3–4-е сутки после операции произошла значимая ее активация до 89 (78–94)% ($p_w < 0,01$), которая сохранилась и на 7–8-е сутки послеоперационного периода 86 (78–88)% ($p_w < 0,01$).

Во II группе до операции ФАН равнялась 76 (74–80)%, на 3–4-е сутки этот показатель несколько снизился до 73 (70–77)%, но на 7–8-е сутки её активность значительно возросла 82 (78–88)% ($p_w < 0,05$) на уровень, превышающий дооперационный. Исходно у больных III группы активность фагоцитоза составила 81 (75–83,5)%, на 3–4-е сутки отмечено незначительное снижение до 74,5 (71–86)% и на 7–8-е сутки ее стимуляция — 84,5 (70,5–89)%. В I группе, этот показатель уже на 3–4-е сутки значимо превышал исходный уровень.

Экстракорпоральное введение антибиотика стимулирует ФАН. На 3–4-е сутки она в 1,2 раза выше, чем во II группе ($p_u < 0,001$) и III группе ($p_u < 0,01$) больных.

Под влиянием антигенов, IgG появляются только через 5 суток и по активности их выработки судят об антигенной стимуляции гуморального иммунитета в первые дни после операции. Исходно уровень IgG у больных всех групп выше нормы. В I группе больных он равнялся 1200 (900–1400) мг/%, на 3–4-е и 7–8-е сутки отмечено значительное снижение ($p_w < 0,05$). Во II группе дооперационный уровень составил 1350 (980–1400) мг/% и на 3–4-е и 7–8-е сутки отмечено небольшое его уменьшение до 1230 (980–1400) мг/%, и 1300 (1000–1400) мг/%, что соответствовало его уровню до операции.

У больных III группы, до операции уровень IgG составил 1085 (950–1200) мг/% затем этот показатель снизился: на 3–4-е сутки до 970 (900–1300) мг/% и на 7–8-е сутки до 980 (915–1200) мг/%. При сравнении несвязанных групп выработка IgG у больных с внутримышечным введением препарата на 7–8-е сутки после операции в 1,3 раза выше ($p_u < 0,05$).

Высокая курсовая доза антибиотика стала причиной статистически значимо более высокого уровня антител в группе внутримышечного введения. По уровню ЦИК, вместе с величиной антигенной стимуляции определяется эффективность работы фагоцитарного звена иммунитета. Количество ЦИК в I группе больных до операции равнялось 84 (71–109) ед. опт. пл., на 3–4-е сутки выявлено их уменьшение до 76 (63–88) ед. опт. пл. ($p_w < 0,05$). и на 7–8-е сутки этот показатель стал равен 74 (62–106) ед. опт. пл. Этот показатель во II и III группе существенных изменений не претерпел. Снижение антигенной нагрузки при экстракорпоральном введении антибиотика, подтверждается относительно низким уровнем ЦИК. У больных I группы при сравнении независимых групп на II эта-

пе ЦИК меньше, чем во II и III группах ($p_u < 0,05$).

В I группе больных ЛИИ исходно равнялся 0,7 (0,45–0,77) усл. ед. На 3–4-е сутки отмечается его повышение в 1,3 раза до. ($p_w < 0,001$) и на 7–8-е сутки увеличивается в 1,2 раза ($p_w < 0,05$). Во II группе, до операции ЛИИ был равен 0,66 (0,55–0,75) усл. ед. На 3–6е сутки этот показатель повысился в 1,3 раза ($p_w < 0,01$), а на 7–8-е сутки его рост продолжился до 1,2 (0,86–1,96) усл. ед. ($p_w < 0,001$) У больных III группы до операции ЛИИ соответствовал 0,69 (0,54–1,37) усл. ед. На 3–4-е сутки показатель достиг самого высокого в группах уровня 1,035 (0,79–2,575) усл. ед. ($p_w < 0,05$), а на 7–8-е сутки составил 0,99 (0,38–1,63) усл. ед.

Значимый рост уровня ЛИИ на II этапе исследования во всех группах связан с обострением хронических заболеваний на фоне послеоперационной иммуносупрессии и исходной полиморбидностью пациентов. В группе внутривенного введения ЛИИ оставался в два раза выше нормы и сопровождался развитием инфекционных осложнений. На основе исследований, в 2006 году применен алгоритм антибиотикопрофилактики (рис. 3).

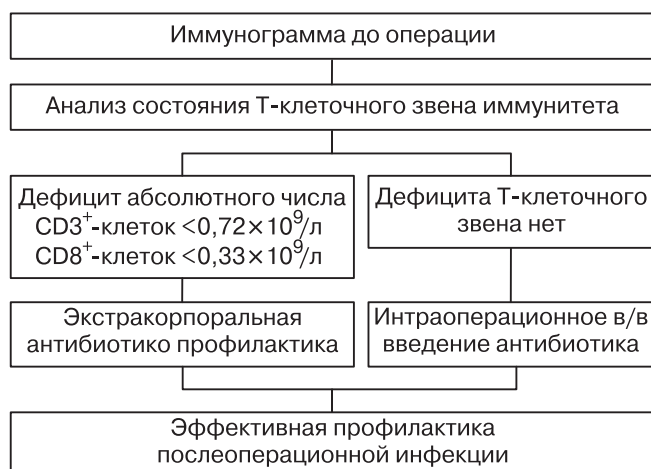


Рис. 3. Антибиотикопрофилактика с учетом исходного состояния Т-клеточного звена иммунитета.

Если до операции имелся дефицит абсолютного числа зрелых Т-лимфоцитов и Т-хелперов, то на 3–4 сутки прогнозировался тотальный Т-клеточный ИД со значительным повышением риска послеоперационных инфекций и в качестве

профилактики применялся экстракорпоральный способ введения антибиотика. Если исходного ИД не было — использовалась стандартная схема внутривенного введения антибиотика во время операции. Использование алгоритма позволило снизить частоту послеоперационных инфекционных осложнений на 5,6% (табл. 3).

Фармакоэкономический анализ использованных методов антибиотикопрофилактики показал, что высокая курсовая доза антибиотика определила и высокую стоимость проведения внутримышечной антибиотикотерапии (1707,6 рублей). В стоимость внутривенной антибиотикопрофилактики вошла так же стоимость терапии послеоперационных инфекционных осложнений (529,7 рублей). В результате чего итоговые затраты на ее проведение превысили стоимость экстракорпорального введения антибиотика, равную 526,8 рублям. Цены приведены на 2005–2006 гг.

ВЫВОДЫ

1. У больных пожилого и старческого возраста, страдающих хроническим холециститом в Республике Бурятия выявлены нарушения иммунитета с развитием дефицита абсолютного числа $CD3^+$ -, $CD8^+$ -клеток.

2. Схема традиционного внутримышечного введения антибиотика позволяет эффективно профилактировать послеоперационные инфекционные осложнения, однако на 3–4-е сутки введения наблюдается углубление иммунодефицита с уменьшением абсолютного и относительного числа лимфоцитов и абсолютного числа $CD3^+$ -, $CD4^+$ -, $CD16^+$ -, $CD22^+$ -клеток. При внутривенном введении антибиотика во время операции углубления исходного иммунодефицита менее выражено, но отмечается рост лейкоцитарного индекса интоксикации в 1,5 раза, а у 14,3% больных развиваются раневые и бронхолегочные инфекционные осложнения.

3. Применение экстракорпоральной антибиотикопрофилактики стимулирует иммунитет и позволяет предотвратить развитие раневых и бронхолегочных инфекционных осложнений.

4. Проведение антибиотикопрофилактики методом экстракорпорального введения у больных пожилого и старческого возраста при плановой холецистэктомии показано при снижении абсо-

Таблица 3

Инфекционные осложнения «открытых» холецистэктомий в отделении плановой хирургии РКБ им. Н.А.Семашко (Улан-Удэ) у больных пожилого и старческого возраста

Осложнения	2002–2005 гг. (n=80)	2006 г. (n=23)
Инфекции раны	5 (6,25%)	—
Бронхолегочные осложнения	3 (3,75%)	1 (4,35%)
Всего:	8 (10%)	1 (4,4%)

лютного числа CD3⁺-клеток менее 0,72×10⁹/л, CD8⁺-клеток — 0,33×10⁹/л. К противопоказаниям для применения метода относятся аллергические реакции на антибиотики или АТФ, нестабильная гемодинамика и гемоконцентрация с Ht > 50%.

5. Использование экстракорпорального введения антибиотика в 3,5 раза уменьшает стоимость эффективной профилактики по сравнению со схемой традиционного внутримышечного введения препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Соколов Е.И. Клиническая иммунология.— М., 1998.— 270 с.
2. Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей / Под ред. М.И.Кузина, Б.М.Костюченко.— 2-е изд.— М.: Медицина, 1990.— 688 с.
3. Ермолов А.С., Упырев А.В., Иванов П.А. Хирургия желчнокаменной болезни: от прошлого к настоящему // Хирургия.— 2004.— № 4.— С. 4–5.
4. Белоцерковский Б.З., Бражник Т.Б., Бурневич С.З. и др. Антибактериальная терапия абдоминальной хирургической инфекции / Под общ. ред. В.С.Савельева и Б.Р.Гельфанда.— М., 2003.— 183 с.
5. Гуляев А.В., Лохвицкий С.В., Ширинский В.Г. Антимикробная профилактика в хирургии.— М.: Триада-Х, 2003.— 125 с.
6. Bratzler D.W., Houck P.M. For the surgical infection prevention guidelines writers workgroup. antimicrobial prophylaxis for surgery: An Advisory statement from the National Surgical Infection Prevention Project // Clin. Infect. Dis.— 2004.— Vol. 38.— P. 1706–1715.
7. Гельфанд Б.Р., Кириенко П.А., Гриненко Т.Ф. и др. Анестезиология и интенсивная терапия / Под общ. ред. Б.Р.Гельфанда.— М.: Литтерра, 2005.— 544 с.
8. Ефименко Н.А., Гучев И.А. Антибактериальная терапия и профилактика цефалоспоридами III поколения (без антисинегнойной активности) в абдоминальной хирургии // Consilium medicum.— 2005.— № 1.— С. 40–41
9. Ивашкин В.Т. Рациональная фармакотерапия заболеваний органов пищеварения.— М.: Литтерра, 2003.— 1045 с.
10. Muriel C., Garcia-Sanchez A., Sanchez F. et al. Changes in the immunologic status related to the duration of the anesthesia/surgery procedure // Rev. Esp. Anesthesiol Reanim.— 1996.— Vol. 43, № 5.— P. 160–163.
11. Гребенюк В.В., Сысолятин А.А., Решетникова Л.К. Способ прогнозирования гнойно-септических осложнений после холецистэктомий Пат. G01N33/53/11.07.2000.
12. Генинг Т.П., Мануйлов К.К. Фармакокинетика антибиотика, вводимого в организм в клеточных носителях // Антибиотики и химиотерапия.— 1991.— № 9.— С. 19–20.
13. Ершов А.Л., Карпушина И.А. Опыт применения модифицированной методики направленного транспорта антибиотиков при тяжёлом течении внебольничной пневмонии // Эфферентная терапия.— 2006.— Т. 12, № 3.— С. 39–44.
14. Михалев А.А., Горбачева С.М. Применение экстракорпоральной антибактериальной терапии в лечении пневмонии на фоне инфекционного эндокардита у ВИЧ-инфицированных больных // Сиб. мед. журн.— 2006.— № 1.— С. 41–44.

Поступила в редакцию 15.10.2007 г.
Рецензент К.Я.Гуревич.

УДК 612.466.22

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ АЛЬБУМИНА В МОЧЕ С ПОМОЩЬЮ ГЕТЕРОГЕННОГО ТВЕРДОФАЗОВОГО КОНКУРЕНТНОГО РЕЦЕПТОРНОГО АНАЛИЗА

Е.С.Ларичева, М.М.Мнускина, А.В.Козлов, А.М.Зайчик*

Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования,

*Диагностический центр № 1, Санкт-Петербург, Россия

© Коллектив авторов, 2007 г.

Проведено сравнение результатов определения концентрации альбумина в моче с помощью гетерогенного твердофазового одностадийного конкурентного рецепторного анализа и иммунотурбидиметрического метода. По своим аналитическим характеристикам метод гетерогенного твердофазового одностадийного конкурентного рецепторного анализа обеспечивает получение сопоставимых с иммунотурбидиметрическим методом количественных результатов.

ВВЕДЕНИЕ

Выявлению в моче малых количеств альбумина, так называемой микроальбуминурии (microalbuminuria, slight albuminuria, pauci-albuminuria), уделяется самое пристальное внимание, поскольку ее обнаружение у больных с сахарным диабетом является наиболее ранним и достоверным признаком развития диабетической нефропатии [1]. У больных с артериальной гипертензией и сахарным диабетом распространенность микроальбуминурии колеблется в пределах от 10 до 40%. У здоровых людей микроальбуминурию выявляют у 5–7% [2].

В проспективных и эпидемиологических исследованиях было показано, что микроальбуминурия является прогностическим фактором смертности как больных с сахарным диабетом или артериальной гипертензией, так и в общей популяции [3].

Диабетическая нефропатия — первично хронический процесс, собирательный термин, включающий в себя, по сути, диабетический гломерулосклероз и хронический пиелонефрит.

Поначалу имеет место гипертрофия и гиперfiltrация нефронов, затем микроальбуминурия при нормальной скорости фильтрации и, наконец, прогрессирующий гломерулосклероз с постепенным развитием хронической почечной недостаточности по гломерулярному типу (процесс может сопровождаться нефротическим синдромом или его элементами — макропротеинурической стадией) [4].

Единственным надежным лабораторным критерием, позволяющим с высокой степенью достоверности выявить доклиническую стадию диабетической нефропатии, является величина экскреции альбумина с мочой [5].

Установлены значения, позволяющие разделить так называемую нормоальбуминурию, мик-

роальбуминурию и клиническую протеинурию. Микроальбуминурию определяют как экскрецию альбумина с мочой в пределах 30–299 мг за сутки. Выведение с мочой больших количеств альбумина указывает на так называемую клиническую альбуминурию, соответствуя экскреции белка более 300 мг/сут [6].

Патофизиологические механизмы, лежащие в основе взаимосвязи между экскрецией альбумина и сосудистыми осложнениями, до конца не выяснены. Возможно, что альбуминурия характеризует системную эндотелиальную дисфункцию, предрасполагающую к развитию сосудистых осложнений в будущем [7].

Необходимость определения концентрации альбумина в моче чувствительными количественными методами объясняется тем, что сам факт обнаружения у пациента микроальбуминурии является ответственным клиническим заключением и требует от врача проведения соответствующих терапевтических мероприятий. Для больного он является весьма серьезным травмирующим психику фактором. В связи с этим, как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты для больного в равной степени нежелательны, поскольку влекут за собой изменение тактики лечения и, в конечном счете, существенно сказываются на прогнозе заболевания. Кроме того, осторожный подход к установлению факта микроальбуминурии связан с весьма высокой физиологической изменчивостью данного показателя в течение суток у каждого отдельного больного. Последнее особенно важно учитывать это при сборе мочи за короткие промежутки времени.

Все современные высокочувствительные и специфичные методы определения альбумина в моче основаны на иммунохимической реакции между специфическими антителами к человеческому альбумину и альбумином.

Используют четыре группы методов:

- радиоиммунный анализ (РИА);
- радиальную иммунодиффузию (РИД);
- иммуноферментный анализ (ИФА);
- иммунотурбидиметрию.

Выбор метода определяется опытом и техническим обеспечением лаборатории. Сравнение этих методов показало, что все они обладают сравнимой точностью, чувствительностью и диапазоном концентраций [8]. Количественные методы определения альбумина в моче обеспечивают предел обнаружения — 20 мг/л. Отклонения укладываются в заданные аналитические пределы, коэффициент вариации (КВ) — 15% и часто — намного ниже. Как показали исследования, результаты большинства методов в целом сопоставимы.

Выбор конкретного метода определяется опытом, аналитическими и, в большей мере, финансовыми возможностями лаборатории. Широкому распространению количественных методов оценки выраженности альбуминурии, как правило, препятствует высокая стоимость тест-систем.

В настоящее время большинство аналитических проблем определения концентрации альбумина в моче решены. Предпочтение отдают иммунотурбидиметрии как методу выбора, поскольку после адаптации готовых наборов реактивов к современным биохимическим анализаторам сам метод определения не представляет особых сложностей. В связи с тем, что в данном методе используются моноклональные антитела, стоимость его достаточно высока. Этим объясняется тот факт, что в рекомендациях ADA (Американской диабетической ассоциации) и NKF (Национального почечного фонда) для скрининга микроальбуминурии предпочтение отдается более простым и дешевым полуколичественным методам определения альбумина в моче с использованием технологии «сухой» химии [9].

Согласно этим рекомендациям у больных с сахарным диабетом исследование экскреции альбумина проводят в два этапа.

На первом этапе проводят полуколичественное определение концентрации альбумина в утренней порции мочи с помощью альбумин-специфичных тест-полосок [10]. При получении положительного результата переходят ко второму этапу — количественному определению концентрации альбумина в моче.

Трудоемкость процесса получения антител, особенно моноклональных, их нестабильность от партии к партии привели к попытке замены антител на рекомбинантные рецепторные белки [11]. Использование альбуминсвязывающего рецепторного белка стрептококка человека группы I(0), полученного в лаборатории генетики мик-

роорганизмов ИЭМ РАМН, позволило разработать тест-систему для определения малых количеств альбумина в моче [12].

Целью настоящего исследования является апробация набора реактивов, производимого компанией «Абрис⁺» для количественного определения концентрации альбумина в моче с помощью метода гетерогенного твердофазового одностадийного конкурентного рецепторного анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено сравнительное изучение результатов определения концентрации альбумина в 99 образцах мочи двумя методами:

а) иммунотурбидиметрическим — на анализаторе ADVIA 1650 фирмы «Bayer» с использованием реактивов и калибраторов этой же фирмы;

б) гетерогенного твердофазового одностадийного конкурентного рецепторного анализа — набором «Микроальбумин-РТФ» производства фирмы «Абрис⁺».

В работе были использованы две серии наборов «Микроальбумин-РТФ» производства фирмы «Абрис⁺». Определение проводили в строгом соответствии с Инструкцией, содержащей описание набора реагентов, состава и принципа действия реактивов, мер предосторожности, необходимых при работе с набором, условий хранения и подробное описание методики работы с набором.

В данном методе альбумин, содержащийся в анализируемом образце мочи, конкурирует с альбумином, меченым пероксидазой, за альбуминовый рецептор, иммобилизованный на внутренней поверхности лунок стандартного 96-луночного полистиролового планшета. Выявление образовавшегося комплекса альбумин — альбумин-связывающий рецептор проводится с помощью ферментативной реакции, в которой пероксидаза реагирует с перекисью водорода в присутствии хромогена тетраметилбензидина. Интенсивность развивающейся в процессе реакции окраски обратно пропорциональна концентрации альбумина в исследуемом образце.

Измерение величины оптической плотности проводили с использованием 96-луночного вертикального фотометра Elx-800 BioTech, США. Промывку лунок проводили с использованием промывающего устройства ProWash («Biohit», Финляндия). Использовали полуавтоматические одноканальные пипетки с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками («Biohit», Финляндия) и расходные материалы, необходимые для постановки иммуноферментного анализа.

Поскольку контрольные материалы с аттестованными значениями для данного метода опре-

деления содержания альбумина не производятся, материалом испытания аналитических характеристик набора реактивов «Микроальбумин-РТФ» служили образцы мочи с добавлением лиофилизированного человеческого альбумина (препарат фирмы «Serva» с известной концентрацией, двух уровней: «нормальный» и «патологический»). Подготовку реагентов для определения альбумина в моче проводили согласно приложенной к наборам инструкции. Определение концентрации альбумина в моче осуществляли с использованием калибровочного графика в системе координат «logit — log».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Среди аналитических характеристик любого метода наибольшего внимания заслуживают такие параметры, как воспроизводимость и правильность метода, а также сравнение результатов с результатами других апробированных методов, условно принятых в качестве референтного.

Воспроизводимость метода. Воспроизводимость метода оценивали по величине КВ. Полученные результаты указывают на то, что набор реагентов «Микроальбумин-РТФ» для определения содержания альбумина в моче позволяет получать надежные результаты как при внутрисерийном (КВ — 7,1%), так и при межсерийном (КВ — 8,4%) определении концентрации альбумина.

Тест «на открытие» (метод добавок). Данный параметр оценивали по процентному соотношению измеренной концентрации альбумина в пробе, полученной при смешении равных объ-

емов контрольной мочи, и калибровочной пробы. Его величина составила 93–107%.

Оценка линейной зависимости. Линейная зависимость между величиной поглощения и концентрацией альбумина составила от 10 до 100 мкг/мл.

Сравнение результатов с «референтным» методом. Сравнимость результатов оценивали по величине коэффициента корреляции. Величина коэффициента корреляции (r), полученная при сравнении результатов определения концентрации альбумина в моче методом гетерогенного твердофазового одностадийного конкурентного рецепторного анализа и иммунотурбидиметрическим методом составила 0,79, уравнение регрессии — $y = 0,89x + 2,6$ (рисунок).

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что набор реагентов для определения содержания альбумина в моче «Микроальбумин-РТФ» производства ООО «Абрис⁺» (Санкт-Петербург) обладает высокими аналитическими характеристиками, позволяющими получать сравнимые результаты с иммунотурбидиметрическим методом, и может использоваться для определения концентрации альбумина в моче.

По нашему мнению, метод гетерогенного твердофазового одностадийного конкурентного рецепторного анализа для определения альбумина в моче обладает рядом достоинств. К ним следует отнести:

— достаточную специфичность и чувствительность, сопоставимую с иммуноферментными и современными иммунотурбидиметрическими тест-системами;

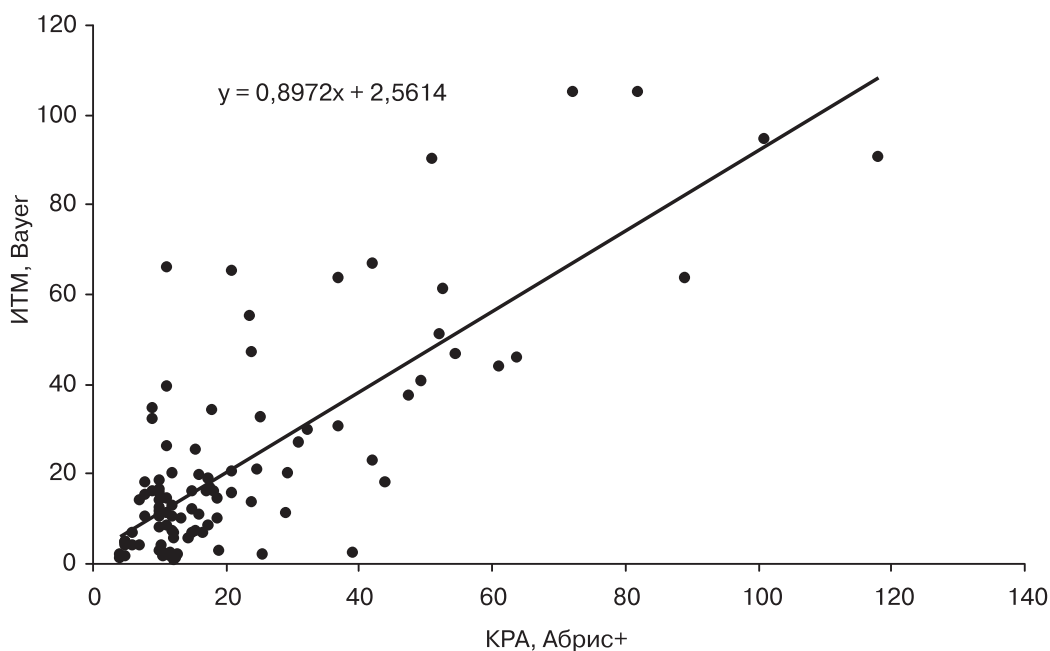


Рисунок. Корреляционная зависимость между результатами определения концентрации альбумина в моче методом гетерогенного твердофазового одностадийного конкурентного рецепторного анализа (КРА) и иммунотурбидиметрическим методом (ИТМ).

— стабильность альбумин связывающего рецепторного белка позволяет добиться высокой межсерийной воспроизводимости;

— невысокую стоимость данной тест-системы по сравнению с тест-системами, использующими моноклональные антитела, что позволяет снизить затраты на обследование пациентов таких групп риска, как сахарный диабет и артериальная гипертензия.

В связи с тем, что в рамках национального проекта «Здоровье» в клиничко-диагностические лаборатории амбулаторного звена поставлен комплект оборудования для проведения ИФА — вертикальный фотометр, встряхивающее и промывающее устройство — определение концентрации альбумина в моче с помощью метода гете-

рогенного твердофазового одностадийного конкурентного рецепторного анализа в формате 96-луночного планшетного варианта может явиться доступной альтернативой иммунотурбидиметрическому методу.

Таким образом, результаты проведенного исследования, свидетельствуют о том, что тест-система, разработанная в институте экспериментальной медицины РАМН, и выпускаемой фирмой «Абрис⁺», имеет высокие аналитические характеристики, а их невысокая стоимость позволяет рекомендовать данный метод для широких скрининговых исследований для выявления ранних стадий диабетической нефропатии и других форм патологии, при которых альбуминурия является важным прогностическим критерием.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Watts N.B.* Albuminuria and diabetic nephropathy: an evolving study // *Clin.Chem.*— 1991.— Vol. 37, № 12.— P. 2027–2028.
2. *Weir M.R.* Microalbuminuria and cardiovascular disease // *Clin. J. Amer. Soc. Nephrol.*— 2007.— Vol.2, № 3.— P. 581–590.
3. *Dyer A.R., Greenland Ph., Elliott P. et al.* Evaluation of measures of urinary albumin excretion in epidemiologic studies // *Amer. J. Epidem.*— 2004.— Vol. 160.— P. 1122–1131.
4. *Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П.* Основы общей патологии. Часть 2. Основы патохимии.— СПб.: ЭЛБИ, 2000.
5. *Definitions of abnormalities in albumin excretion. Nephropathy in Diabetes. Position Statements. Original Article* // *Diabetes Care.*— 2004.— Vol. 27.— P. 79–83.
6. *National Kidney Foundation K/DOQI. Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease.*— Evaluation, Classification and Stratification // *Amer. J. kidney Dis.*— 2002.— Vol. 39, № 1.— P. 1–266.
7. *de Zeeuw D., Parving H.-H., Henning R.H.* Microalbuminuria as an early marker for cardiovascular disease // *J. Amer. soc. Nephrol.*— 2006.— Vol. 17, P. 2100–2105.
8. *Watts G., Rowe D. et al.* Assessement of immunochemical methods for detrmning low concentrations of albumin in urine // *Clin. Chem.*— 1986.— Vol. 32, № 8.— P. 1544–1548.
9. *Keane W.F., Eknoyan G.* Proteinuria, albuminuria, risk, assessment, detection, elimination (PARADE): A position paper of the National Kidney Foundation // *Amer. J. kidney. Dis.*— 1999.— Vol. 33.— P. 1004–1010.
10. *Sacks D.B., Bruns D.E., Goldstein D.E., Maclaren N.K. et al.* Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus // *Clin. Chem.*— 2002.— Vol. 48.— P. 436–472.
11. *Орлова С.Н., Гупалова Т.В., Палагнюк В.Г.* Рецептор человеческого альбумина: клонирование, получение и характеристика очищенного препарата // *Биотехнология.*— 1996.— № 8.— С. 13–21.
12. *Пологнюк В.В.* Разработка тест-систем для рецепторноферментного анализа для определения микроальбуминурии: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук.—СПб., 2001.— 22 с.

Поступила в редакцию 04.07.2007 г.
Рецензент *Н.А.Беляков.*

УДК 54-414:616.153.49

ПРИМЕНЕНИЕ ЭНТЕРОСОРБЕНТОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ КЛЕТКАМИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ДЛЯ УМЕНЬШЕНИЯ АЗОТЕМИИ

А.Р.Гутникова, А.Х.Касымов, Л.Г.Баженев, Б.А.Саидханов, И.В.Косникова
РСЦХ имени академика В.Вахидова, Ташкент, Узбекистан

© Коллектив авторов, 2007 г.

Изучена возможность модификации углеродных сорбентов с помощью иммобилизации на их поверхности не размножающихся клеток микроорганизмов, обладающих высокой активностью уреазы, в частности, *Helicobacter pylori* и *Staphylococcus saprophyticus*. Установлено, что при иммобилизации, независимо от вида микроба, сорбционная емкость сорбента к каждому конкретному метаболиту не меняется. Однако у модифицированных сорбентов появляются новые свойства, позволяющие превращать плохо адсорбирующийся метаболит в продукт, легко адсорбируемый и выводимый из организма. В частности, мочевины, благодаря повышенной уреазной активности, расщепляется до аммиака, так как это происходит в здоровом организме.

ВВЕДЕНИЕ

Среди методов эфферентной терапии при тяжелых формах интоксикации основной является сорбционная терапия, позволяющая за короткое время радикально извлечь из крови, лимфы, энτερальной среды токсичное вещество и тем самым значительно улучшить прогноз заболевания [1–3]. Дальнейшее развитие эфферентных методов связано с созданием сорбентов, обладающих направленной сорбционной способностью по отношению к определенному веществу или токсину [4, 5].

Одним из возможных направлений подобных исследований являются опыты с не размножающимися клетками микроорганизмов, иммобилизованными на сорбенте-матрице. Их использование может дать ряд преимуществ по сравнению, как со свободными клетками, так и с иммобилизованными ферментами, так как позволяет исключить обязательный этап очистки ферментных препаратов и преодолеть трудности, связанные с нестабильностью ферментов.

Острая почечная недостаточность (ОПН) относится к одной из наиболее опасных и часто встречающихся патологий. Тяжелое нарушение азотистого обмена является одним из основных патогенетических факторов, определяющих высокую летальность при этом заболевании. Фармакологическая коррекция этих нарушений остается важнейшей задачей медицины и обуславливает необходимость новых подходов к лечению. В ряде случаев, особенно когда ОПН развивается на фоне других хронических заболеваний, сопряженных с отеками и гиповолемией, необходима осторожность при применении мочегонных средств и ультрафильтрации. В этих случаях представляет интерес возможность использования энтеросорбции [6].

Углеродные сорбенты хорошо элиминируют аммиак, однако большинство из них в недостаточной степени адсорбируют и выводят мочеви-

ну, что и ограничивает использование этого простого метода. Способность уреазы гидролизовать мочевины до аммиака и углекислого газа может заметно повысить эффективность сорбции.

Экспериментальным путем нами установлено, что некоторые микроорганизмы, такие как *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus saprophyticus*, обладают высокой активностью уреазы. И это свойство может быть использовано для придания селективных свойств углеродным сорбентам.

Цель исследования: провести сравнительный анализ эффективности использования клеток различных микроорганизмов для модификации углеродных сорбентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования выполнены на 35 белых крысах массой тела 160–180 г, разделенных на 5 групп.

1-я группа — интактная;

2-я группа — животные с глицероловой моделью острой почечной /недостаточности, служившие контролем для остальных групп.

3-я, 4-я и 5-я группы — животным после моделирования ОПН проводили курс энтеросорбции обычным или модифицированным сорбентами: 3-я группа — базовым сорбентом-матрицей; 4-я группа — сорбентом, модифицированным клетками *Staphylococcus saprophyticus* (SS) и 5-я группа — сорбентом, иммобилизованным клетками *Helicobacter pylori* (HP).

В качестве базового сорбента использован лигнинный сорбент марки АУ-Л.

Для иммобилизации использовали следующие микроорганизмы: культуру HP (B-01), выделенную из биоптата слизистой оболочки желудка больного с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и культуру SS (N-06), изолированную с кожи здорового человека, характеризующуюся высокой уреазной активностью. Для инактива-

ции микроорганизмов в их суспензию добавляли тимол в конечной концентрации 0,01%, который подавлял жизнеспособность бактерий, не оказывая влияния на их уреазную активность.

Имобилизацию клеток микроорганизмов на сорбенте-носителе выполняли следующим обра-

дит, как правило, при снижении клубочковой фильтрации и свидетельствует о развитии ренальной острой почечной недостаточности (таблица).

Основной предпосылкой для применения энтеросорбции при острой почечной недостаточности является то обстоятельство, что при использо-

Таблица

Динамика основных показателей азотистого обмена у животных с острой почечной недостаточностью после энтеросорбции сорбентами различной модификации

Группа	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л	Аммиак, мкмоль/л
1-я (интактная)	6,4±0,1	58,6±3,7	98,0±11
2-я (ОПН)	12,4±0,6	167,0±31,7	144,8±11,6
p1-2	<0,001	<0,02	<0,01
3-я (Эс АУ-Л)	7,07±0,28	68,0±1,3	39,3±2,4
p2-3	<0,001	<0,05	<0,001
p1-3	<0,05	<0,05	<0,01
4-я (Эс АУ-Л-SS)	8,8±0,85	62,2±4,5	58,5±0,5
p2-4	<0,02	<0,05	<0,001
p1-4	<0,05	>0,05	<0,02
p3-4	>0,05	>0,05	<0,001
5-я (Эс АУ-Л-НР)	5,6±0,2	61,8±2,8	74,0±4,0
p2-5	<0,001	<0,05	<0,01
p1-5	<0,02	>0,05	>0,05
p3-5	<0,02	<0,05	<0,01

Примечание: Эс АУ-Л — энтеросорбция базовым сорбентом; Эс АУ-Л-SS — энтеросорбция сорбентом, с иммобилизованными клетками *Staphylococcus saprophyticus*; Эс АУ-Л-НР — энтеросорбция сорбентом, с иммобилизованными клетками *Helicobacter pylori*.

зом: суспензию микробных клеток (НР или SS) (25 млрд. микробных тел/мл) в изотоническом растворе натрия хлорида, смешивали с сорбентом, промытым изотоническим раствором натрия хлорида и высушенным при комнатной температуре. Встряхивали на мешалке в течение 6 часов при температуре 25 °С, затем многократно промывали дистиллированной водой и 0,06 М раствором фосфатного буфера (рН 6,8) и удаляли не адсорбировавшиеся микробные клетки.

ОПН моделировали внутримышечным введением 50% раствора глицерина из расчета 10 мл на 1 кг массы тела животного [7–9]. Соответствующий сорбент животные получали ежедневно *per os* в течение 7 суток 1 раз в день в дозе 0,5 г на 100 г массы тела. После завершения терапии производили забор крови для лабораторных исследований. Определяли содержание мочевины, креатинина и аммиака.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Введение глицерина вызывало токсическое поражение почек. У всех животных отмечалась азотемия, характеризующаяся статистически значимым увеличением содержания в крови мочевины, быстрым увеличением содержания сывороточного креатинина, повышением концентрации аммиака. Нарастание креатинемии параллельно повышению концентрации мочевины в крови происхо-

ждении этого метода возрастает роль желудочно-кишечного тракта в элиминации уремических токсинов. Проведенные исследования выявили, что значительное снижение азотемии наблюдалось у всех животных, прошедших курс энтеросорбционной детоксикации, независимо от типа использованного сорбента. Однако степень выраженности позитивных изменений была различной.

После проведения терапии базовым сорбентом отмечалось значительное, более чем в 3,6 раза, уменьшение содержания в крови аммиака, концентрация которого снизилась в 2,3 раза даже по сравнению с интактной величиной. Это является подтверждением хорошей сорбционной способности углеродных сорбентов к этому метаболиту. Однако концентрация креатинина и мочевины в сыворотке крови, хотя и снизилась по сравнению с ОПН-группой в 2,5 раза и в 1,75 раза, соответственно, но оставалась достоверно выше, чем у интактных животных.

При использовании сорбента, модифицированного клетками *Staphylococcus saprophyticus*, положительная динамика была более выражена: концентрация креатинина снизилась до уровня физиологической нормы. Однако содержание мочевины, несмотря на достоверное уменьшение концентрации относительно контрольной группы, оставалось повышенным. Различия между соответствующим показателем с животными 3-й группы были не достоверными.

Добиться желаемого результата позволило нам проведение энтеросорбции сорбентом, иммобилизованным клетками *Helicobacter pylori*. У этой группы животных снижение концентрации метаболитов носило достоверно выраженный характер, и после завершения курса терапии отмечалась полная нормализация всех изученных показателей.

Известно, что все углеродные сорбенты хорошо адсорбируют аммиак. Это мы наблюдали и в наших опытах, когда после курса энтеросорбции базовым сорбентом содержание его было значительно ниже нормы. Однако любое отклонение от нормы, независимо от того в какую сторону происходит сдвиг, не служит доказательством позитивности происходящего процесса, а лишь указывает на разбалансировку метаболических реакций. А в сочетании с низкой элиминацией мочевины и креатинина, можно с уверенностью сказать о недостаточной эффективности этих сорбентов при данной патологии, что и ограничивает применение метода в клинической практике.

Модификация сорбента клетками микроорганизма «придает ему» дополнительные свойства: за счет иммобилизованного с клетками микроорганизма фермента уреазы позволяет ему, наряду с процессом сорбции, расщеплять мочевину до конечных продуктов, имитируя физиологический процесс, протекающий в здоровом организме. Полученный же в результате этой реакции аммиак адсорбируется на поверхности сорбента. Сопоставление динамики изменения уровня мочевины и аммиака в крови опытных животных подтверждает правильность этого предположения.

Модифицированный сорбент, так же как и сорбент-матрица, элиминирует лишь незначительную часть мочевины. Оставшаяся ее часть посредством высвобождающейся уреазы подвергается дальнейшим превращениям, в результате которых образует-

ся аммиак. Именно этим обусловлена более высокая остаточная концентрация аммиака после использования опытного сорбента по сравнению с сорбентом-матрицей. Но поскольку уровень аммиака после проведения энтеросорбции базисным сорбентом значительно ниже нормы, а после применения модифицированного сорбента приближен к ней, то это следует рассматривать не как негативный фактор, а, напротив, как позитивный аспект, так как делает его использование более физиологичным ввиду восстановления гомеостатического равновесия в организме и нормализации азотистого обмена.

Обобщая полученные данные, можно сделать вывод, что модификация углеродного сорбента иммобилизацией клеток микроорганизмов на его поверхности не оказывает влияния на его сорбционные свойства. Во всех случаях адсорбция метаболитов на его поверхности происходит в равной степени и по одним и тем же принципам. Однако у модифицированного сорбента появляются новые свойства, позволяющие ему превращать плохо адсорбирующийся метаболит в вещество, легко связывающееся с сорбентом, и в последующем элиминировать его из организма.

ВЫВОДЫ

1. Неразмножающиеся клетки микроорганизмов, обладающих высокой уреазной активностью, в том числе, *Helicobacter pylori* и *Staphylococcus saprophyticus*, могут быть использованы для модификации углеродных энтеросорбентов.

2. Модификация углеродных сорбентов путем иммобилизации клеток микроорганизма повышает их селективность в отношении дериватов азотистого обмена и позволяет их использовать для борьбы с азотемией при острой почечной недостаточности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Энтеросорбция / Под ред. Н.А.Белякова.— Л.: Центр сорбционных технологий, 1991.— 236 с.
2. Курляндский Б.А. Об основных тенденциях развития профилактической токсикологии // Токсикологический вестн.— 2002.— № 5.— С. 2–5.
3. Гаев П.А., Калев О.Ф., Коробкин А.В. Энтеросорбция как метод эфферентной терапии.— Челябинск: ЧелГМА, 2001.— 56 с.
4. Николаев В.Г., Михайловский С.В., Гурина Н.М. Современные энтеросорбенты и механизмы их действия // Эфферентная терапия.— 2005.— Т. 11, № 4.— С. 3–17.
5. Бакалинская О.Н., Коваль Н.М., Картель Н.Т. Получение углеродных сорбентов с биоспецифической активностью // Эфферентная терапия.— 2003.— Т. 9, № 2.— С. 16–22.
6. Костюченко А.Л. Экстракорпоральные методы в лечении острой почечной недостаточности // Эфферентная терапия.— 1995.— Т. 1, № 1.— С. 24–30.
7. Кулагин О.Л., Абдалкин М.Е. Изменения функций почек, уровня перекисного окисления липидов и активности антиоксидантных систем при острой глищероловой почечной недостаточности // Нефрология и диализ.— 2003.— Т. 5, № 3.— С. 15–17.
8. Святош Г.А. Морфофункциональные особенности почек крыс с острой почечной недостаточностью при использовании цеолитов в качестве пищевой добавки // Нефрология и диализ.— 2003.— Т. 5, № 3.— С. 20.
9. Носкова А.П. Влияние фуросемида и маннитола на выживаемость крыс при острой почечной недостаточности / В кн.: Фармакологическая регуляция функции почек / Под ред. А.А.Лебедева.— Куйбышев, 1981.— С. 40–44.

УДК 616.43–612.017

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ИММУННЫЕ КОМПЛЕКСЫ И ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ У ДЕТЕЙ С ИНСУЛИНЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Н.А. Ница

Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия, Россия

© Н.А. Ница, 2007 г.

В работе представлены данные об уровне циркулирующих иммунных комплексов, общей активности комплемента и фагоцитарной активности нейтрофилов у детей с инсулинзависимым сахарным диабетом. Показано, что уровень циркулирующих иммунных комплексов нарастал по мере прогрессирования заболевания. Выявлены достоверные различия в величинах спонтанного НСТ-теста у больных с инсулинзависимым сахарным диабетом, по сравнению с контролем, в то время как показатели стимулированного НСТ-теста были ниже соответствующего контрольного показателя, что отражало снижение резерва активных фагоцитов в случае длительного течения заболевания и развития сосудистых осложнений.

ВВЕДЕНИЕ

Хорошо известно, что сахарный диабет приводит к повреждению сосудистой стенки, при этом восстановление поврежденного эндотелия микрососудов резко нарушается. Ведущий фактор этого нарушения точно не известен. Большое значение в снижении регенеративных свойств эндотелия придается иммунокомплексному механизму повреждения базальной мембраны сосудов, перицитов и гладкомышечных клеток [1–4]. Иммунные комплексы могут оседать на базальной мембране микрососудов, связывать фракции комплемента с образованием мембраноатакующих комплексов. Аутоиммунное повреждение базальной мембраны приводит к хемотаксису лимфоцитов, макрофагов, полиморфноядерных лейкоцитов, гладкомышечных клеток, эти клетки вырабатывают широкий спектр цитокинов и адгезивных молекул, которые способны повреждать клеточные мембраны, а также стимулировать синтез новых медиаторов [5].

Принимая во внимание роль гуморального и клеточного иммунитета в патогенезе микроангиопатии при сахарном диабете I типа, представляется необходимым изучить показатели активности полиморфноядерных лейкоцитов, системы комплемента и содержание циркулирующих иммунных комплексов в крови, а также их влияние на состояние сосудистой стенки при сахарном диабете. Так как сахарный диабет нередко осложняется активацией очагов инфекции и даже септическими состояниями, то оценка функциональной активности фагоцитов и системы комплемента может позволить более корректно обосновать целесообразность применения эфферентной терапии у этой группы больных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании принимали участие 48 детей с инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД):

- группа 1 (n = 14) — дети с впервые выявленным сахарным диабетом (СД);

- группа 2 (n = 22) — пациенты с длительно-стью заболевания до 5 лет;

- группа 3 (n = 12) — пациенты, у которых диагностирована диабетическая микроангиопатия (ДМИАП) (диабетическая нефропатия у четверых сочетающаяся с диабетической ретинопатией).

Группу контроля (группа 4, n = 49) составили клинически здоровые дети.

Взятие крови у каждого ребенка производилось однократно как часть диагностического обследования, с согласия пациента и его родителей: у детей 1–3-й групп (n = 38) перед выпиской из стационара при достижении компенсации или субкомпенсации (n = 10) сахарного диабета по показателям суточной гликемии, гликозилированного гемоглобина, липопротеидов, холестерина и тестов на кетонурию.

Мы исследовали параметры гуморального иммунитета на основании уровней циркулирующих иммунных комплексов, общей активности комплемента, а также оценивали бактерицидную активность фагоцитов. Уровень циркулирующих иммунных комплексов определяли фотоколориметрическим методом с использованием 0,025% уксусной кислоты, бактерицидную активность фагоцитов — с помощью НСТ-теста (тест с нитросиним тетразолием), систему комплемента исследовали по ее общей гемолитической активности.

Результаты эксперимента представлены в таблице.

У всех детей с инсулинзависимым сахарным диабетом (1–3-я группы) наблюдалось повыше-

Таблица

Содержание циркулирующих иммунных комплексов, общая гемолитическая активность комплемента и бактерицидная активность фагоцитов у детей с инсулинзависимым сахарным диабетом ($M \pm m$)

Показатели	Группы				P	P
	1-я (n = 14)	2-я (n = 22)	3-я (n = 12)	4-я (n = 49)		
ЦИК, усл. ед.	65,3±2,3	57,5±3,3	74,3±3	46,5±1,3	$P_{1-2} > 0,05$ $P_{1-3} > 0,05$ $P_{1-4} < 0,01$	$P_{2-3} < 0,05$ $P_{2-4} < 0,05$ $P_{3-4} < 0,001$
Общая активность комплемента, %	130±8	115±10,5	132±5	100±10	$P_{1-2} > 0,05$ $P_{1-3} > 0,05$ $P_{1-4} < 0,05$	$P_{2-3} > 0,05$ $P_{2-4} > 0,05$ $P_{3-4} > 0,05$
Базальный НСТ-тест, %	6±1,6	10±1,5	817±3	6,5±2,0	$P_{1-2} < 0,05$ $P_{1-3} < 0,001$ $P_{1-4} > 0,05$	$P_{2-3} < 0,02$ $P_{2-4} < 0,05$ $P_{3-4} < 0,001$
Стимулированный НСТ-тест, %	95±3	45±5	35±2,5	75±4,3	$P_{1-2} < 0,001$ $P_{1-3} < 0,001$ $P_{1-4} < 0,05$	$P_{2-3} > 0,05$ $P_{2-4} < 0,001$ $P_{3-4} < 0,001$

ние уровня циркулирующих иммунных комплексов по сравнению с контрольными показателями:

- у детей с впервые выявленным инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД) концентрация иммунных комплексов превышала контрольные значения на 40%;

- в группе без ДМИАП — на 24%;

- при наличии ДМИАП — на 60%;

При сравнении результатов исследования между опытными группами, было обнаружено достоверно повышенное содержание циркулирующих иммунных комплексов в группе с ДМИАП по сравнению со значениями ЦИК в группе без микроангиопатий (рис. 1).

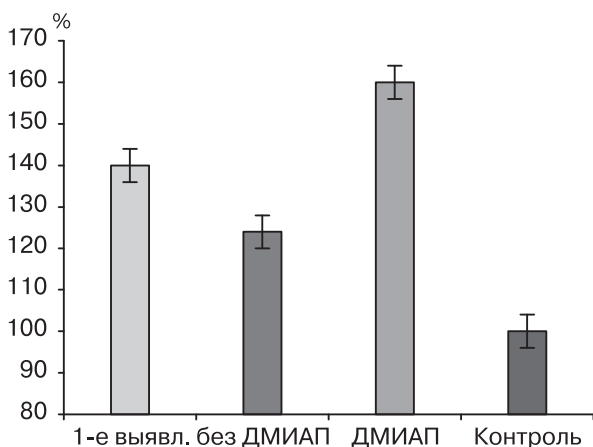


Рис. 1. Содержание циркулирующих иммунных комплексов в крови детей больных инсулинзависимым сахарным диабетом и контрольной группы (по оси абсцисс обследованные группы больных, по оси ординат содержание циркулирующих иммунных комплексов в % к контрольным значениям).

При определении общей гемолитической активности (ОГА) системы комплемента было вы-

явлено усиление ОГА при СД у детей, однако достоверное повышение ОГА обнаружено в группе детей с впервые выявленным СД и в группе с ДМИАП (см. таблицу, рис. 2). Общая гемолитическая активность комплемента в обеих группах превышала контрольные значения в среднем

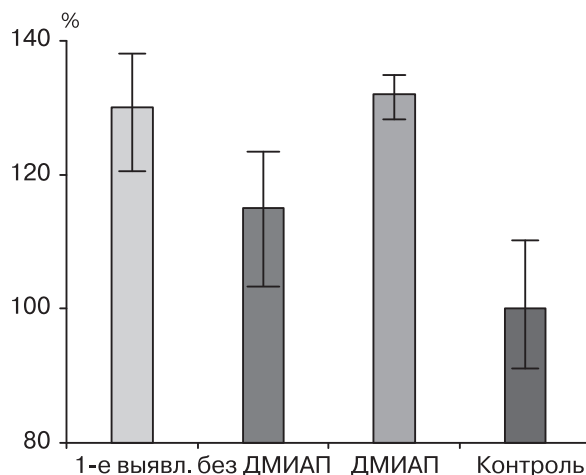


Рис. 2. Общая гемолитическая активность комплемента в крови детей, больных инсулинзависимым сахарным диабетом, и контрольной группы (по оси абсцисс обследованные группы больных, по оси ординат общая активность комплемента в %).

на 30%. Сравнение полученных данных в опытных группах не выявило достоверных различий (см. таблицу).

Повышенное содержание циркулирующих иммунных комплексов в крови детей больных инсулинзависимым сахарным диабетом свидетельствует о нарушении элиминации циркулирующих иммунных комплексов, что, по-видимому, связано с дефектом фагоцитарной системы, являющейся основным механизмом деградации и элиминации иммунных комплексов.

Для оценки функциональной активности фагоцитов был использован метод бессубстратного восстановления нитросинего тетразолия — НСТ-тест (NBT-тест), основанный на способности фагоцитов утилизировать кислород с образованием высокорективных свободных радикалов.

В результате исследований было установлено, что у детей контрольной группы только 4–8% нейтрофилов способны восстанавливать НСТ. У детей с впервые выявленным инсулинзависимым сахарным диабетом результаты базального НСТ-теста не отличались от контрольных показателей. В группе детей с сахарным диабетом без ДМИАП и в группе с ДМИАП значения спонтанного варианта реакции по данным теста восстановления нитросинего тетразолия превышали контрольные показатели, что свидетельствует о значительном усилении внутриклеточного метаболизма нейтрофильных лейкоцитов (см. таблицу, рис. 3).

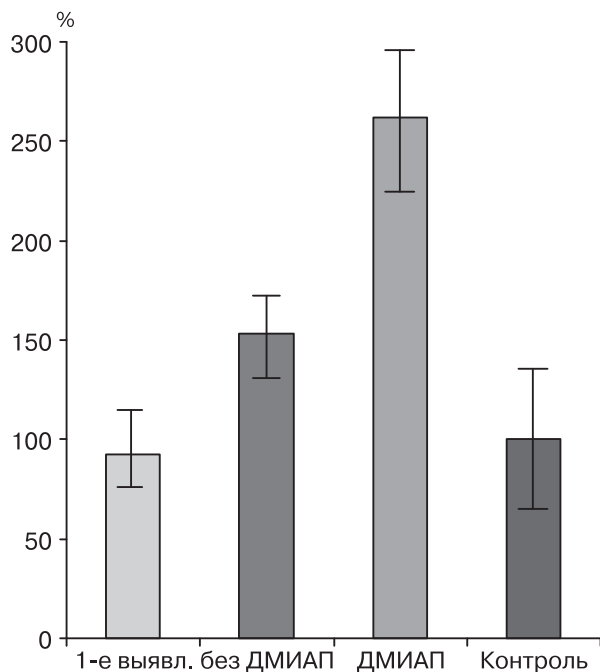


Рис. 3. Показатели базального НСТ-теста у детей больных инсулинзависимым сахарным диабетом и контрольной группы (по оси абсцисс обследованные группы больных, по оси ординат значения базального НСТ-теста в % к контрольным значениям).

С увеличением длительности и тяжести течения сахарного диабета показатели спонтанного теста повышаются: в группе без микроангиопатий бактерицидность в 1,5 выше, чем в контроле, в группе с микроангиопатией — в 2,5 (см. рис. 3). Сравнение данных спонтанного НСТ-теста в опытных группах выявило их достоверные различия (см. таблицу).

Вместе с тем, средние значения показателей стимулированного зимозаном НСТ-теста у детей больных сахарным диабетом были ниже соответ-

ствующего контрольного параметра, что отражало снижение внутриклеточного резерва фагоцитов в случае длительного течения заболевания и развития сосудистых осложнений. С увеличением длительности течения и тяжести сахарного диабета показатели стимулированного теста снижаются: в группе без микроангиопатий бактерицидность на 40%, в группе с микроангиопатией — на 55% ниже, чем в контроле (см. таблицу, рис. 4). Только у детей с впервые выявленным сахарным диабетом были отмечены повышен-

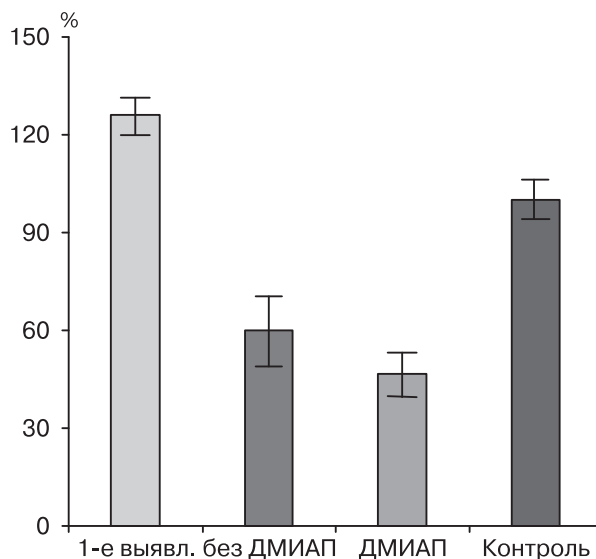


Рис. 4. Показатели стимулированного НСТ-теста у детей больных инсулинзависимым сахарным диабетом и контрольной группы. По оси абсцисс обследованные группы больных, по оси ординат значения стимулированного НСТ-теста в % к контрольным значениям.

ные значения стимулированного НСТ-теста ($95 \pm 3\%$, при контрольном значении $75 \pm 4,3\%$).

Разность между стимулированной и базальной активностью, характеризующая низкий «резерв» функциональной активности, была наименьшей при развитии микроангиопатий. Это согласуется с имевшей место нейтропенией у 40% больных этой группы. Более выраженное нарушение способности фагоцитов к полноценному ответу в НСТ-тесте на фоне нейтропении у данной группы больных мы связываем с более высоким уровнем циркулирующих иммунных комплексов, способным активировать нейтрофилы с освобождением эластазы [6], повреждать клетки, стимулировать апоптоз нейтрофилов [7, 8].

Полученные нами данные о нарушении как базальной, так и стимулированной продукции кислородных радикалов в НСТ-тесте, подтвердили представление о низкой фагоцитарной способности нейтрофилов при развитии сосудистых изменений у детей [9].

Нарушению фагоцитарной функции полиморфноядерных лейкоцитов при сахарном диабе-

те может способствовать гипергликемия и гиперкетонемия. При высоком содержании глюкозы в крови нейтрофилы приобретают сферическую форму и в значительной мере теряют способность образовывать псевдоподии. В результате уменьшается возможность контакта фагоцита с одноименно заряженными клетками, снижаются адгезивные и эмиграционные свойства гранулоцитов.

Кроме того, полученные экспериментальные данные ряда ученых позволяют заключить, что полиморфноядерные лейкоциты, образующиеся при инсулиновой недостаточности, имеют многочисленные нарушения метаболизма, которые в связи с чувствительностью к инсулину зрелых нейтрофилов может исправить лишь замена пула метаболически дефектных клеток новыми, метаболически полноценными полиморфноядерными лейкоцитами, образованными уже в условиях нормализовавшейся концентрации или рецепции инсулина.

В основе снижения активности нейтрофилов при сахарном диабете, как было отмечено ранее, лежит нарушение адгезивных свойств и угнетение хемотаксиса. Что касается реакции опсонизации, которая протекает на фоне активации комплемента, то при данном заболевании она, по-видимому, также нарушается. В пользу этого предположения говорит тот факт, что гемолитическая активность комплемента сыворотки крови больных была повышена.

Проведенные исследования показали, что у больных с сахарным диабетом хроническая гипергликемия является основной причиной нарушений иммунного статуса, в частности, фагоцитарного звена иммунной защиты, что предопределяет прогноз развития микроангиопатии. Нарушения фагоцитоза у больных с сахарным диабетом сохраняются при достижении компенсации углеводного обмена.

Высокие концентрации циркулирующих иммунных комплексов, нарастание активности комплексов при дефиците фагоцитарного звена у детей с сахарным диабетом до развития ДМИАП, по нашему мнению, свидетельствуют об их повреждающем действии при нарушенной элиминации иммунных комплексов системой фагоцитов. Патогенный эффект высоких концентраций циркулирующих иммунных комплексов, возможно, также ответственен за освобождение ферментов полиморфноядерных фагоцитов и повреждение сосудистой стенки. С другой стороны, именно высокий уровень циркулирующих иммунных комплексов, на наш взгляд, может быть одним из механизмов активации коагуляционного звена гемостаза при сахарном диабете.

Таким образом, иммунологический дисбаланс характеризовался: нарастанием концентрации ЦИК, усилением кислородзависимого метаболизма нейтрофильных лейкоцитов с уменьшением их внутриклеточного бактерицидного потенциала.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волкова А.К., Недосугова Л.В., Рудько И.А. и др. Сахарный диабет.— 2000.— № 3.— С. 8–12.
2. Галенюк В.А., Жук Е.А. Иммунологические аспекты патогенеза диабетических ангиопатий // Тер. арх.— 1998.— № 10.— С. 5–9.
3. Петрищев Н.Н. Власов Т.Д. Физиология и патофизиология эндотелия. Дисфункция эндотелия — 2003.— С. 4–38.
4. Петряйкина Е.Е., Рытикова Н.С. Диагностика сахарного диабета 1 и 2 типов // Лечащий врач.— 2005.— № 5.— С. 54–58.
5. Сидельникова В.И., Лифициц В.М., Петрова О.Е. Роль сегментоядерных нейтрофилов в развитии ангиопатий при сахарном диабете / Сб. науч. тр.: ЦНИЛ — вчера, сегодня, завтра.— Воронеж, 2003.— С. 273–276.
6. Groop L., Tuomi T. Cardiovascular morbidity and mortality associated with metabolic syndrome // Diabetes Care.— 2001.— № 24.— С. 683–689.
7. Палеев Н.Р. Сахарный диабет и сердце // Клин. мед.— 2005.— № 8.— С. 37–42.
8. Салтыков Б.Б. Иммуноморфологическое изучение диабетической микроангиопатии // Арх. патол.— 2000.— Т. 62, № 2.— С. 5–9.
9. Harrison D.G. Cellular and molecular mechanism of endothelial cell dysfunction // J. Clin. Invest.— 1997.— Vol. 100.— P. 2153–2157.

Поступила в редакцию 13.11.2007 г.
Рецензент А.В.Козлов.

УДК 54-414

ЗОСТЕРИН — НОВЫЙ СОРБЕНТ ДЛЯ ЭФФЕРЕНТНОЙ ТЕРАПИИ

М.Я. Туркина, Т.В. Печерина
ЗАО «Аквामир», Санкт-Петербург

© М.Я. Туркина, Т.В. Печерина, 2007 г.

Рассмотрены особенности структуры энтеросорбентов, содержащих пектиновые вещества. Приведены новые сведения о зостерине, пектине из морского растения *Zostera marina*, растущего в прибрежных водах теплых морей. Обоснованы высокие сорбционные возможности зостерина, обусловленные его «морским» происхождением. Препарат на его основе — Зостерин-Ультра — прошел исследования в различных медицинских учреждениях. Были продемонстрированы, прежде всего, его высокие антидотное и противоязвенное свойства, и иммуномодулирующая активность.

Явно выраженная биологическая активность морской флоры связана с рядом особенностей их биохимии, которая по всей вероятности сложилась из необходимости выжить в среде, столь необычной для растительной жизни, какой является морская вода. С этой точки зрения одним из самых интересных морских многолетних цветковых растений является *Zostera marina*, произрастающая в прибрежных прогреваемых солнцем водах нескольких морей, в том числе и омывающих нашу страну. Пектин, добываемый из этого растения, называется зостерин. С химической точки зрения зостерин является полисахаридом пектиновой природы.

Как и в пектинах из наземных растений макромолекулы полисахарида «Зостерин-Ультра» состоят из галактуроновой кислоты, продукта окисления моносахарида галактозы. Однако пектин из морского растения *Zostera marina* имеет отличительные черты, определяющие его свойства как эффективного энтеросорбента.

В отличие от линейных биополимеров, к которым относятся пектины из яблок, свеклы, цитрусовых, и т. д., имеющих слабую способность удерживать катионы тяжелых металлов и радионуклиды, макромолекула зостерина имеет совсем другой вид. Это разветвленная пространственная структура, похожая, на пучок спутанных ниток, весь состоящий из ячеек разного размера между главными линейными цепями и их боковыми ответвлениями. Такое строение зостерина является фундаментальной основой его высоких сорбционных качеств.

Зостерин имеет малую степень метоксилирования по кислотным группам галактуроновой кислоты по сравнению с другими растительными пектинами, а поэтому прочнее удерживает положительно заряженные инородные токсичные тела, присутствующие в кровяном русле.

Кроме того, в среди моносахаридов зостерина, включенных в цепи полисахаридов, обнаружен в значительных количествах (40–50%) ред-

чайший моносахарид апиоза. Его значение в эфферентной терапии с участием препарата «Зостерин-Ультра» чрезвычайно, так как пектин, попадая перорально в организм человека, оказывается устойчивым к воздействию ферментов в желудочно-кишечном тракте.

Еще одна из физиологических особенностей препарата, содержащего пектин из *Zostera marina* — быстрота положительного воздействия на организм. Это вызвано способностью проникновения в кровяное русло, по крайней мере, низкомолекулярных (в пределах до 1–30 кД) фракций зостерина.

Применение природных сорбентов в борьбе с эндотоксикозами быстро развивается [1, 2]. Если в середине XX века на первых этапах это были углеродные сорбенты и их модифицированные аналоги [3], то затем их количество стало расти [4–6]. Подавляющее число сорбентов сейчас получают из растительного сырья [7], а точнее из оболочек растительных клеток (сорбенты на основе целлюлозы) или из стромы растений (пектиновые сорбенты). Результаты эфферентной терапии с участием сорбентов первого типа — это полифепан, лигносорб [8] и микроцел [9, 10] — постоянно обсуждаются на страницах журнала [11, 12].

Сорбенты из растительных пектинов, хотя и имеют более длинную историю применения, но не в области медицины, а в пищевой промышленности, как для очистки продуктов переработки, так и как ингредиенты готовых изделий. Интересно, что для производства жележных кондитерских изделий различного ассортимента расход пектина колеблется от 8 кг для цитрусового до 26 кг для свекловичного пектина на 1 тонну готовой продукции. Главными поставщиками растительных пектинов остаются овощи и фрукты (в промышленном масштабе пектины получают из яблок, свеклы, кожуры лимонов). С химической точки зрения все они относятся полисахаридам, состав которых состоит из цепей полигалактуроновой кислоты (отсюда второе название гликаны) [2, 13].

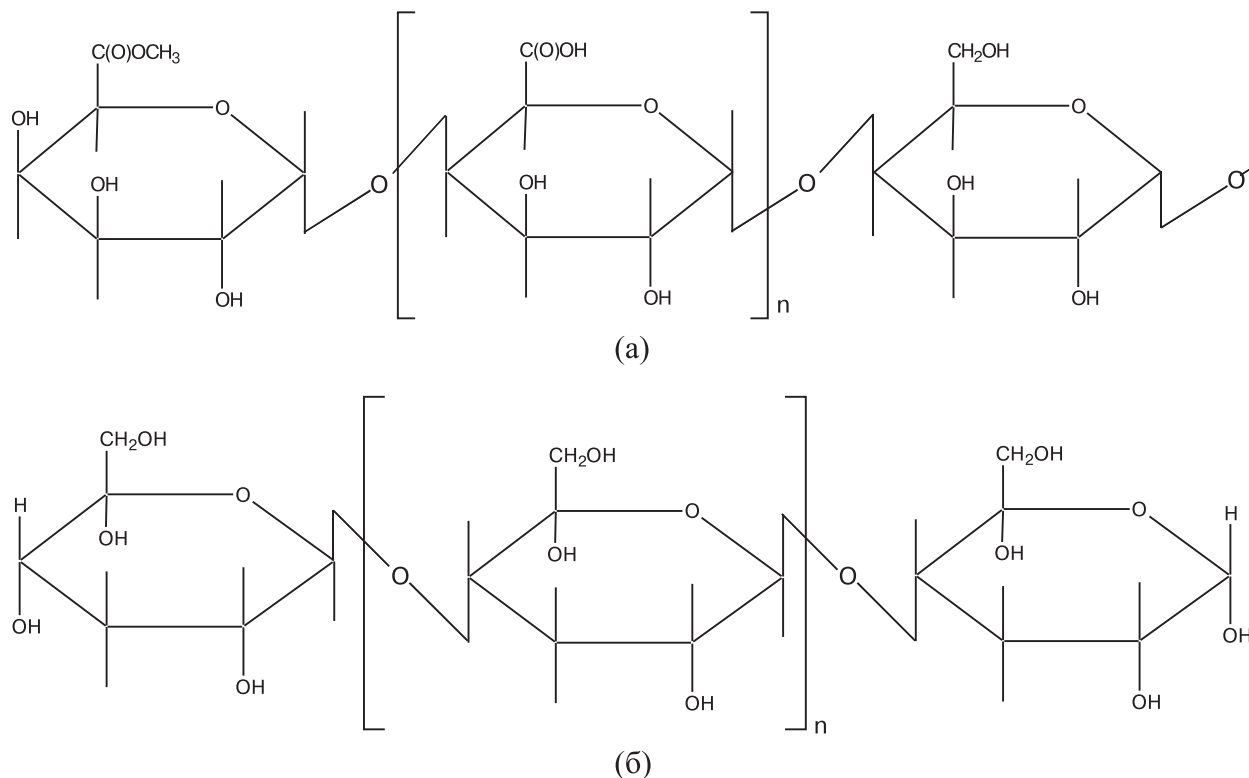


Рис. 1. Структура цепи пектинов (а) и макромолекулы целлюлозы (б).

На рис. 1 представлена структура фрагмента цепи пектинов (а) и для сравнения вид макромолекулы целлюлозы (б), где n — количество звеньев, то есть степень полимеризации.

Величины n для обоих сорбентов близки и массы лежат в интервале 2000–30 000 Д. Считается, что для проявления физиологической активности, как правило, необходимо, чтобы среднечисловая молекулярная масса полисахарида превышала 10–15 кД, и он обладал способностью образовывать высокомолекулярные агрегаты [14].

Сходство структур тоже очевидно, однако, целлюлоза обладает более жестким остовом, характерным для кристаллических веществ [10].

Эффективность сорбентов на основе пектинов сейчас признана во многих клиниках и накопленный опыт их применения в эфферентной терапии показывает, что их возможности раскрыты далеко не полностью [7, 12, 15].

Основное направление исследований — это изучение сорбционных свойств пектинов из разных растительных источников, установление их структуры и связанной с ней «силы» сорбента.

В 1998 году Ю.С.Оводов опубликовал обзор [14], в котором представил успехи ученых США, Японии и других стран в этой области. Немалый вклад внесли работы самого Ю.С.Оводова [14–21].

Ю.С.Оводов и его сотрудники показали, что, во-первых, пектины принадлежат к числу наиболее сложных по структуре объектов природного происхождения, а, во-вторых, именно эта

особенность наделяет их высокой адсорбционной способностью.

К настоящему моменту можно считать установленным, что в структуре макромолекул органических пектинов существуют два вида полимерных цепей галактуроновой кислоты: линейная, названная галактуронаном, и разветвленная, имеющая более сложный состав [14, 22]. Линейные участки цепи состоят из большого числа молекул галактуроновой кислоты, объединенных в длинные цепи путем отщепления от двух молекул кислоты одной молекулы воды. Отдельные участки галактуронана различной длины время от времени включают один или два остатка моносахарида рамнозы (1,2-*L*-рамнопиранозы), образуя, соответственно рамногалактуран.

Таким образом, подавляющее большинство пектинов относится к группе рамногалактуронанов, где есть сравнительно простая по структуре линейная область, которая является остовом макромолекулы, и более сложные, разветвленные фрагменты, присоединенные к ней и имеющие в своем составе другие моносахара. Иногда, но не всегда, разветвленная область пектина тоже представлена одним или несколькими блоками рамногалактуронана. Такова структура остова пектина из пижмы обыкновенной [17] и смолевки обыкновенной [18].

В процессе вегетации, когда идет биосинтез пектиновых веществ, образуется макромолекула пектина, в которой линейная и разветвленные области связаны между собой еще и ковалентны-

ми связями, образующими пространственную решетку [18, 22]. По-видимому, пространственная конфигурация для пептидов из разных растительных объектов имеет индивидуальный присущий только данному пептиду характер. Именно поэтому сорбционные возможности различных пектинов, далеко не одинаковы. Этот вывод важен при обсуждении особенностей пектинов из морских трав, к которым относится и зостерин.

Самым интересным, интенсивно изучаемым и нашедшим разнообразные применения пектином из морской флоры оказался полисахарид из морского многолетнего цветкового растения *Zostera marina*. Впервые он был выделен в 1940 году русским ученым В.И.Мирошниковым, который назвал его зостерином [23].

Zostera marina относится к семейству *Zosteraceae*, которое насчитывает 12 видов. *Zostera marina* и *Zostera asiatica* — типичные, наиболее распространенные морские подводные культуры, растут в прогреваемых прибрежных водах морей северного, и южного полушарий, но *Zostera marina* обнаружена только в морях северного полушария.

Зостера заселяет прогреваемые солнцем илисто-песчаные литорали (литораль — прибрежный участок морского дна, высыхающий при отливе). Она имеет разветвленную корневую систему, образует подводные луга, иногда с очень высоким травостоем — до 100 см. Растения цветут и опыляются под водой, потому что потоки воды переносят пыльцу. К осени созревают семена. Наиболее полно онтогенез зостеры морской представлен В.Н.Веховым [24].

Получаемый из зостеры пектин представляет собой полимер галактуроновой кислоты, то есть он тоже относится к группе рамногалактуронанов. Присутствуют в нем и другие сахара: арабиноза, рамноза, рибоза, галактоза, манноза. Есть в зостерине и еще один моносахарид, о котором мы поговорим позже. Соотношение сахаров в некоторых пределах не постоянно и зависит от природных условий, в которых развивались растения, и от технологических параметров процесса получения пектина.

У пектина из зостеры обнаружены особенности, которые отличают его от гликанов наземных растений, и вследствие этого он имеет некоторые присущие только ему исключительные качества.

В результате ряда исследований [22] стало ясно, что зостерин имеет более сложную конструкцию, чем пектины наземных растений. Хотя он, как и другие пектины, имеет линейный остов из рамногалактурана, и разветвленную область, однако, последняя представляет собою значительно более сложную конфигурацию. К ней присоединен еще один «блок» — ксилогалактуронан (цепи, состоящие из колец галактуроновой кис-

лоты и моносахара ксилозы). Ксилогалактураны были обнаружены ранее в пектинах некоторых наземных растений (например, в пыльце горной сосны [25]). Однако в зостерине этот фрагмент имеет дополнительные разветвления, увеличивающие объем макромолекул.

Вот как описаны детали этой структуры: «В результате макромолекула зостерана отличается значительной сложностью и состоит из нескольких структурных блоков. Наряду с линейной областью галактуронана и рамногалактуронана, разветвленная область зостерана представлена ксилогалактуронаном, в котором боковые углеводные цепи построены из ряда 1,3-связанных остатков D-ксилопиранозы. Некоторые из этих цепей имеют точки разветвления, которыми являются остатки ксилозы, замещенные в 3- и 4-положениях» [22].

Такой характер структуры зостерина является фундаментальной основой его высоких сорбционных качеств. В этом и заключается первая особенность пектина зостерин.

Его макромолекула, по-видимому, представляет собою рыхлую трехмерную «путанку» полисахаридных цепей. В таком клубке («путанке») катионы тяжелых металлов и любые другие органические объекты, ответственные за эндотоксикоз, связываются одновременно с несколькими звеньями макромолекулы. Среди разнообразных по размеру «ячеек» всегда найдутся и такие, в которые токсины будут входить и удерживаться прочно.

Вторая особенность зостерина заключается в том, что в нем очень мало (не более 5% от общего числа гидроксильных остатков) метильных групп, которые в пектинах наземных растений этерифицируют значительную часть карбоксиллов. Степень метоксилирования зостерина не превышает 5% (степень метоксилирования, например, яблочного пектина составляет 70–80%). Это приводит к тому, что зостерин связывает кислотными группами галактуроновых колец и водородными связями значительно больше, чем другие пектины, катионов тяжелых металлов, радионуклидов и токсинов, несущих положительный заряд.

Известно, что неметоксилированные остатки галактуроновой кислоты в пектинах образуют с помощью ионов кальция и магния межмолекулярные мостики, обусловленные ионными и водородными связями между карбоксильными и гидроксильными группами, что приводит к формированию еще одной сетчатой структуры и сопровождается резким увеличением молекулярной массы образующихся агрегатов, ростом их гидрофильности и способности удерживать большие количества внутримолекулярной воды. Действуя, как молекулярные сита, подобные структуры и обеспечивают водно-солевой режим растения в водной среде. Кроме того, эти же структуры мо-

гут оказывать существенное влияние на физиологическую активность zostерана [22].

Третья особенность связана с наличием в zostерине уникального моносахарида АПИОЗЫ. Это одна из пентоз. В ней столько же атомов углерода, кислорода и водорода, как и в молекуле распространенного моносахарида рибозы: $C_5H_{10}O_5$. Обе пентозы есть в zostерине, причем в виде D-формы.

Для наглядности приведем простые структурные формулы сахаров (рис. 2).

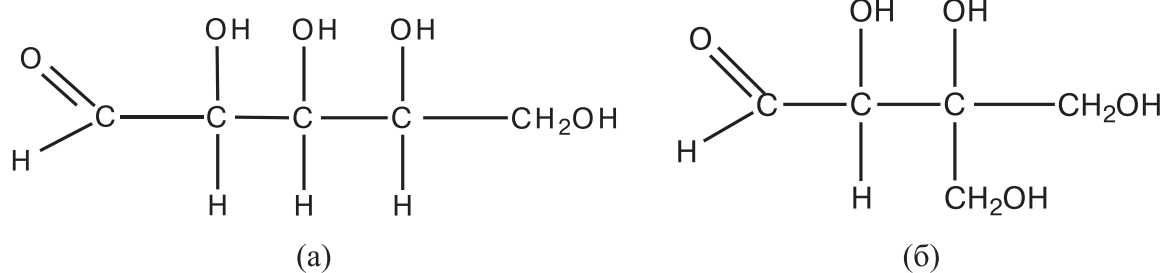


Рис. 2. Формула рибозы (а) и апиозы (б).

Эти похожие молекулы-изомеры совершенно различны, с точки зрения биохимии. Апиоза — редчайший вид сахара. В природе среди сахаров разветвление углеродной цепи и замена водорода на «лишнюю» CH_2OH (метокси)-группу наблюдается крайне редко. Апиозу называют «неправильным» моносахаридом. Она не обнаружена пока в значительных количествах ни в одном из пектинов наземных растений.

В zostерине апиоза присоединена к полисахаридным звеньям галактуроновой кислоты. После обработки пектиназой фрагмент был выделен и получил название — апиогалактуронан [26]. В zostерине его обнаружено удивительно много — на апиогалактуронан приходится примерно четверть макромолекулы, причем апиозы в нем больше, чем галактуроновой кислоты (соотношение приблизительно 5 : 4) [14] (рис. 3).

Апиогалактуронан оказался необычайно устойчивым к действию пектиназ, а, следовательно, обладает большей стабильностью в кишечном тра-

вость морских трав к процессам гниения и разложения в морской воде и после выброса их на берег.

Физиологическая активность zostерина, который в настоящее время широко применяется в качестве лечебной пищевой добавки, хорошо изучена. Это, прежде всего, иммуномодулирующая активность, противоязвенное и антидотное действия. Иммуномодулирующая активность zostерина связана не со всей структурой макромолекулы пектина, а именно с присутствием в ней апиогалактуронана. Яблочный пектин, который на 95%

представляет собой галактуронан, не оказывал в опытах иммуностимулирующего действия [22].

Приходится признать, что природа в виде zostерина подарила уникальный сорбент для очистки организма. В Санкт-Петербурге уже в течение 10 лет налажен промышленный выпуск zostерина из *Zostera marina* [27].

Препарат «Зостерин-Ультра» прошел апробацию во многих лечебных учреждениях, среди которых: Санкт-Петербургская государственная педиатрическая академия, Санкт-Петербургский НИИЭМ им. Пастера, Детский городской пульмонологический центр, больница им. С.П.Боткина, Санкт-Петербургская военно-медицинская академия им. С.М.Кирова, клиника вирусных гепатитов НИИ детских инфекций Санкт-Петербурга, ЦМСЧ № 122, МСЧ № 24, НИИ гриппа РАМН.

Препарат с успехом применяется для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта и печени, язвенной болезни, гепатитов А, В, С, гриппа (профилактика и лечение) и многих других.

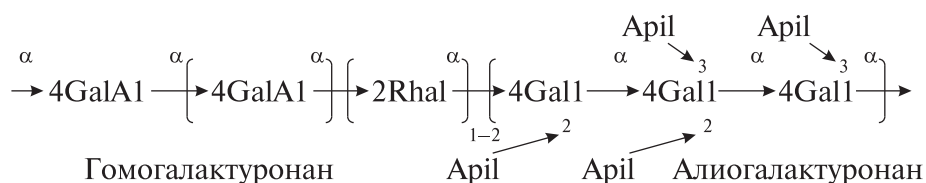


Рис. 3. Фрагмент молекулы zostерина.

кте, чем другие пектины. Таким образом, у токсинов, удерживаемых «путанкой», больше шансов пройти желудочно-кишечный тракт и «покинуть» организм естественным путем. Стало понятно, откуда берется хорошо известная поморам устойчи-

«Зостерин-Ультра» сертифицирован и имеет медаль им. Мечникова «За практический вклад в укрепление здоровья нации».

Опубликован ряд результатов использования zostерина в эфферентной терапии [28–30].

В заключение, нельзя не сказать о том, что замечательное растение zostера прославилось не только среди медиков, биологов и физиологов, но и в истории развития растительного мира. Палеонтологи присвоили ее имя одной из древнейших многоклеточных зеленых водорослей —

зостерофиллум [31]. Примерно 300–400 млн. лет назад она приспособилась жить в воде древнего моря, не имела листьев и размножалась спорами. Именно от растений такого вида пошли моховидные и сосудистые собратья, которые вышли из воды и заселили голые пространства суши.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляков Н.А., Соломенников А.В. — Энтеросорбция, введение в проблему. — Л.: ЛенГИДУВ, 1990. — 35 с.
2. Елизаров Д.П., Елькин А.И., Даванков В.А. и др. Экспериментальное изучение сорбционной активности пространственных адсорбентов // Эфферентная терапия. — 2003. — Т. 9, № 3. — С. 58–61.
3. Хотимченко Ю.С., Кропотов А.В., Хотимченко М.Ю. Фармакологические свойства пектинов // Эфферентная терапия. — 2001. — Т. 7, № 4. — С. 22–36.
4. Бородин Ю.И., Рачковская Л.Н., Шурлыгина А.В. и др. Поведенческие эффекты энтеросорбента «Ноолит» // Эфферентная терапия. — 2000. — Т. 6, № 2. — С. 64–68.
5. Ставицкая С.С., Стрелко В.В., Викарчук В.М. Оценка селективности сорбции ионов токсичных металлов композиционным сорбентом «Ультрасорб» и его компонентами // Эфферентная терапия. — 2001. — Т. 7, № 1. — С. 60–63.
6. Осадчая О.И., Багдасарова И.В., Шейман Б.С., Семенов В.Г. Влияние энтеросорбции препаратом «Энтеросгель» на показатели иммунологической реактивности / Сб. науч. работ Института нефрологии АМН Украины. — Киев, 2004. — С. 30–35.
7. Колесова В.Г., Дадали В.А., Лойко В.И., Марченко В.А. Растения и эфферентная терапия // Эфферентная терапия. — 1995. — Т. 1, № 1. — С. 65–68.
8. Леванова В.П., Исаева Л.В., Артемьева И.С., Соломенников А.В. и др. Природные лигнинные сорбенты // Эфферентная терапия. — 1995. — Т. 1, № 1. — С. 54–57.
9. Беляков Н.А., Леванова В.П., Артемьева И.С., Исаева Л.В. и др. Природный энтеросорбент микроцел. Сообщение 1. Характеристика сорбента // Эфферентная терапия. — 2000. — Т. 6, № 3. — С. 56–61.
10. Беляков Н.А., Леванова В.П., Артемьева И.С., Исаева Л.В. и др. Природный энтеросорбент микроцел. Сообщение 2. Физико-химические, фармакологические свойства и применение в медицине // Эфферентная терапия. — 2000. — Т. 6, № 4. — С. 54–57.
11. Якубовский М.М., Пентюк А.А., Хмельницкий О.К., Луцок Н.Б. и др. Противолучевая эффективность комплексных препаратов, сочетающих сорбционные и антиоксидантные свойства // Эфферентная терапия. — 1995. — Т. 1, № 2. — С. 46–48.
12. Брискин Б.С., Демидов Д.А. Энтеросорбция и ранняя нутритивная поддержка пектиносодержащим препаратом в лечении хирургического эндотоксикоза // Эфферентная терапия. — 2005. — Т. 11, № 2. — С. 3–9.
13. Лоевко Ю.Н., Артюхов А.А., Козловская Э.П., Мирошников В.А. и др. Зостерин. — Владивосток: Дальнаука, 1997. — 88 с.
14. Оводов Ю.С. Полисахариды цветковых растений: структура и физиологическая активность // Биоорганическая химия. — 1998. — Т. 42, № 7. — С. 483–581.
15. Лазарева Е.Б., Меньшиков Д.Д. Опыт и перспективы использования пектинов в лечебной практике // Антибиотики и химиотерапия. — 1999. — № 2. — С. 37–40.
16. Оводова Р.Г., Головченко В.В., Шашков А.С., Попов С.В. и др. Структурное исследование и физиологическая активность пектина из ряски *Lemna minor* L // Биоорганическая химия. — 2000. — Т. 26, № 2. — С. 743–751.
17. Полле А.Я., Оводова Р.Г., Шашков А.С., Оводов Ю.С. Выделение и общая характеристика полисахаридов из пиявки обыкновенной // Биоорганическая химия. — 2001. — Т. 27, № 1. — С. 52–56.
18. Бушнев О.А., Оводова Р.Г., Шашков А.С., Чижов А.О. и др. Строение силена, пектина из смолки обыкновенной *Silene vulgaris* (Moench) Garke // Биохимия. — 2003. — Т. 68, Вып. 12. — С. 1687–1696.
19. Оводова Р.Г., Бушнев О.А., Шашков А.С., Чижов А.О. и др. Структурное исследование пектина сабельника болотного *Comarum palustre* L. // Биохимия. — 2005. — Т. 70, Вып. 8. — С. 1051–1062.
20. Bushneva O.A., Ovodova R.G., Shashkov A.S., Ovodov Yu.S. Structural studies on hairy region of pectic polysaccharide from campion *Silene vulgaris* (Oberonia behen) // Carbohydr. Polym. — 2002. — Vol. 49. — P. 471–478.
21. Golovchenko V.V., Ovodova R.G., Shashkov A.S., Ovodov Yu.S. Structural studies of the pectic polysaccharide from duckweed *Lemna minor* L. // Phytochemistry. — 2002. — Vol. 60. — P. 89–97.
22. Попов С.В., Оводова Р.Г., Бушнев О.А., Головченко В.В. и др. Иммуномодулирующее и противовоспалительное действие пектинов и их фрагментов в зависимости от химического строения / Тез. конф.: «Молекулярная и клеточная биология», 2005. — С. 35.
23. Мирошников В.И. Зостера как промышленное сырье // Прикладная химия. — 1940. — Т. 13, № 10. — С. 1477–1489.
24. Вехов В.Н. Зостера морская Белого моря. — М.: МГУ, 1992. — 144 с.
25. Bouveng H.O. Polysaccharides in Pollen. The Xylogalacturonan from Mountain Pine (*Pinus mugo* Turra) Pollen // Acta chem. Scand. — 1965. — Vol. 19. — P. 953–963.

26. *Ovodov Yu.S., Ovodova R.G., Bondarenko O.D., Krasikova I.N.* The pectic substances of Zosteraceae. Part IV. Pectinase digestion of zosterine // Carbohydr. Res.— 1971.— Vol. 18.— P. 311–318.
27. *Технологический* регламент производства БАД «Зостерин-Ультра». — СПб., 2005.
28. *Бондаренко И.Г., Бурова С.Л.* Полифункциональность пектина «Зостерин-Ультра» при желудочно-кишечной патологии / Мат. VI междунар. съезда: Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения.— СПб., 2002.— С. 548–550.
29. *Бондаренко И.Г., Пилявский С.О.* Эффективность пектина «Зостерин-Ультра» при некоторых формах терапевтической патологии / Прикладная кинезиология.— 2003.— № 2.— С. 28–30.
30. *Туркина М.Я., Печерина Т.В.* Тезисы четвертого съезда общества биотехнологов России им. Ю.А.Овчинникова, Пущино 6–7 декабря 2006 г., М: МаксПресс, 2006 г, С. 197–199.
31. *Рейвн П. и др.* Современная ботаника.— М: Мир, 1990.— 291 с.

Поступила в редакцию 5.04.2007.
Рецензент *А.В.Соломенников*.

УДК:615.03.011.32:[546.33:631.445.122/.124](-37)(571/16)

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ ГУМАТА НАТРИЯ, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ТОРФА ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Р.Р.Исмазова, А.У.Зиганшин

Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия

© Р.Р.Исмазова, А.У.Зиганшин, 2007 г.

Показана возможность использования гумата натрия очищенного в качестве кровеостанавливающего средства на основе данных, полученных при определении показателей обратимой агрегации эритроцитов крови.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из важнейших показателем реологических свойств крови является обратимая агрегация эритроцитов (ОАЭ). Усиление агрегации форменных элементов крови при ряде патологических состояний и обусловленные этим нарушения в системе микроциркуляции определяют актуальность вопроса о фармакологической регуляции ОАЭ. В настоящее время поиск препаратов, влияющих на агрегацию эритроцитов и реологические свойства крови, затруднен и ведется недостаточно интенсивно. Поэтому мы предположили возможность исследования влияния гумата натрия очищенного на свертываемость крови и агрегацию эритроцитов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта использовали гумат натрия очищенный (ГНО), полученный из низинного древесно-травяного торфа (месторождения «Темное») Томской области [1].

Определение обратимой агрегации эритроцитов проводилось в Научно-исследовательском институте биологии и биофизики Томского государственного университета с помощью вибрационного фотометрического способа определения показателей обратимой агрегации эритроцитов в микрообъемах крови [2].

Принцип действия прибора основан на свойстве крови изменять оптическую плотность в зависимости от степени агрегации эритроцитов, усиление или ослабление которой может быть вызвано исследуемыми веществами. Измеряя интенсивность света, проходящего через исследуемую пробу крови, с одновременной регистрацией величины механического воздействия, разрушающего агрегаты, определяются показатели обратимой агрегации эритроцитов (ОАЭ).

В исследуемую пробу крови, обработанную антикоагулянтом гепарином (50 ЕД на 1 мл крови), объемом 0,045 мл добавляли 0,005 мл исследуемого вещества, перемешивали, помещали

в герметичную камеру и воздействовали механическими колебаниями с частотой 13 кГц и амплитудой от 0,1 до 1,0 мкм, создаваемыми пьезоэлементом (напряжение питания пьезоэлемента от 20 до 200 В) и достаточными для полной дезагрегации крови. Изменение оптической плотности исследуемой пробы крови, обусловленные изменениями агрегационного состояния эритроцитов, преобразовывали в электрический сигнал фотоэлементом, усиливали усилителем и регистрировали на бумажной ленте самописцем.

Степень дезагрегации контролировалась в процессе перемешивания с помощью фотометрии и микроскопирования. При включении мешалки происходила дезагрегация эритроцитов, что проявлялось в виде резкого возрастания фотометрического сигнала в первоначальный момент времени, с дальнейшей его стабилизацией в течение 5–30 секунд. После достижения полной дезагрегации, соответствующей максимальной оптической плотности исследуемой пробы крови, отключали питание пьезоэлемента и регистрировали скорость спонтанной агрегации эритроцитов (рисунок).

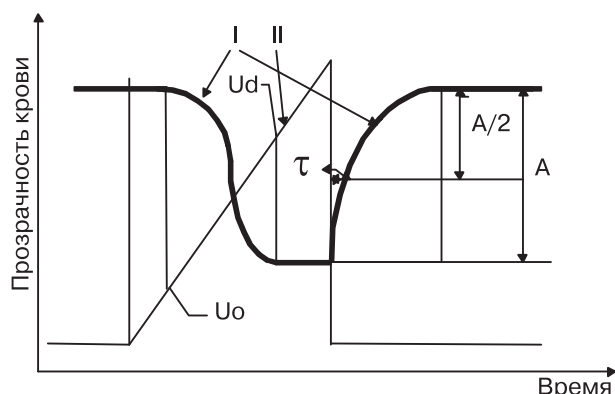


Рисунок. Схема, поясняющая принцип определения показателей обратимой агрегации эритроцитов (пояснения в тексте).

I — зависимость оптической прозрачности крови от времени в процессе дезагрегации и спонтанной агрегации эритроцитов; II — зависимость напряжения питания вибратора от времени.

U_0 — минимальное напряжение, подаваемое на пьезоэлемент, при котором начинается разрушение агрегатов эритроцитов (повышение оптической плотности); оно характеризует минимальную механическую прочность агрегатов эритроцитов (В).

U_d — минимальное напряжение питания пьезоэлемента, начиная с которого дальнейшее возрастание разрушающих усилий не приводит к увеличению оптической плотности (агрегаты разрушены до отдельных эритроцитов). Этот показатель характеризует максимальную механическую прочность агрегатов эритроцитов (В).

Скорость спонтанной агрегации эритроцитов определяли как величину, обратную полупериоду агрегации — t — времени в течение которого амплитуда фотометрического сигнала (А) изменяется на 50%.

Величина А является показателем, характеризующим количество эритроцитов, участвующих в процессе обратимой агрегации эритроцитов (мм).

На основании измеренных значений показателей ОАЭ расчетным путем определяли индекс агрегации — $J_a = U_d/t$, характеризующий соотношение агрегационных и дезагрегационных процессов и интегральный коэффициент агрегации — $K = U_0 U_d A/t$.

В качестве препаратов сравнения, влияющих на ОАЭ, использовали декстран (молекулярная масса 15 000) и трентал. Последний добавляли к пробам крови *in vitro* в конечной концентрации 4 мг/мл, конечная концентрация декстрана

в крови составляла 50 мг/мл. Интервал между добавлением препарата и измерением исследуемых показателей был не менее 15–20 мин.

Показатель обратимой агрегации эритроцитов, является одним из факторов в формировании реологических свойств крови, а, следовательно, и его влияние на ранозаживляющие процессы. Значительное усиление процессов образования агрегатов при ряде патологических состояний и обусловленные этим нарушения в системе микроциркуляции, определяют актуальность вопроса о фармакологической регуляции ОАЭ.

В настоящее время поиск препаратов, целенаправленно влияющих на агрегацию эритроцитов и реологические свойства крови, затруднен и ведется недостаточно интенсивно. Поэтому мы предположили возможность исследования гумата натрия на свертываемость крови и агрегацию эритроцитов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Измеряя интенсивность света, проходящего через исследуемую пробу крови, с одновременной регистрацией величины механического воздействия, разрушающего агрегаты, определяли показатели обратимой агрегации эритроцитов относительно препаратов сравнения трентала и декстрана (табл. 1–4).

Из данных, представленных в таблицах, видно, что гумат натрия, очищенный на фоне пре-

Таблица 1

Средние значения результатов определения обратимой агрегации эритроцитов по отношению к веществам сравнения

Вещество	U_0 , В	U_d , В	А, мм	t, сек.	К	I
Вода для инъекций	8,3	76,0	38,7	16,7	1469,3	4,55
Трентал, 4 мг/мл	10,5	69,7	31,0	16	1418	4,36
Декстран, 50 мг/мл	12,0	59,3	18,2	22,3	580,8	2,66

Таблица 2

Средние значения результатов определения обратимой агрегации эритроцитов к веществам сравнения в процентах по отношению к контролю

Вещество	U_0 , В	U_d , В	А, мм	t, сек.	К	I
Вода для инъекций	100	100	100	100	100	100
Трентал, 4 мг/мл	126,5	91,7	80,1	95,8	96,5	95,8
Декстран, 50 мг/мл	144,6	78,0	47	133,5	39,5	58,5

Таблица 3

Средние значения результатов определения обратимой агрегации эритроцитов при применении гумата натрия очищенного

Вещество	U_0 , В	U_d , В	А, мм	t, сек.	К	I
0,1 моль/л NaOH	16	70	46	17	3030,6	4,1
0,001% раствор ГНО	16,8	110,0	43,2	12,7	6286,1	8,66
0,01% раствор ГНО	17	112	43,5	12,4	6679,3	9,03
0,1% раствор ГНО	17,1	113,5	44,2	12,2	7031,6	9,3

Таблица 4

**Средние значения результатов определения обратимой агрегации эритроцитов при применении
гумата натрия очищенного в процентах по отношению к контролю**

Вещество	Uo, B	Ud, B	A, мм	t, сек.	K	I
0,1 моль/л NaOH	100	100	100	100	100	100
0,001% раствор ГНО	105	157,14	93,91	74,71	207,4	211,21
0,01% раствор ГНО	106,25	160	94,56	72,94	220,39	220,24
0,1% раствор ГНО	106,87	162,14	96	71,76	232,02	226,8

паратов сравнения (декстран и трентал) значительно увеличивает свертываемость крови и агрегацию эритроцитов, то есть обладает кровоостанавливающим действием. Причем наблюдается увеличение агрегации эритроцитов при более высоких концентрациях (коэффициент агрегации K для 0,001% раствора ГНО составил 207,4;

для 0,01% раствора ГНО — 220,39; для 0,1% раствора ГНО — 232,02).

Таким образом, гумат натрия очищенный можно отнести к средствам, повышающим свертываемость крови, а кровоостанавливающий эффект можно использовать как дополнительный для лечения кровоточащих ран.

ЛИТЕРАТУРА

1. Федько И.В., Гостищева М.В., Исмадова Р.Р. Фармацевтическая оценка свойств гуминовых веществ торфов, полученных различными способами // Торф в решении проблем энергетики, сельского хозяйства и экологии / Мат. межд. конф.— Минск, 2006.— С. 249—251.
2. Тухватулин Р.Т. Адаптивные изменения обратимой агрегации эритроцитов: Автореф. дисс... д-ра биол. наук.— Томск, 1996.— 44 с.

Поступила в редакцию 29.06.2007 г.
Рецензент А.М. Зайчик.

ХРОНИКА

2-Й МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС ПО «ПРЕДИАБЕТУ» И «МЕТАБОЛИЧЕСКОМУ СИНДРОМУ»

Сеидова Г.Б.

25–28 апреля 2007 г. в Барселоне прошел международный конгресс, посвященный проблемам предиабета и метаболического синдрома. В работе конгресса приняли участие около 3 тысяч исследователей из более чем 90 стран. Работа конгресса проходила в четырех холлах конгресс-центра.

В первый день работы конгресса проходили пленарные заседания по темам:

1. «Абдоминальное ожирение, метаболический синдром и глобальный кардиометаболический риск».

2. «Центральная нервная система, эндокринные и кардиоваскулярные взаимоотношения в предиабете».

3. «Вхождение в новую эру диабета и предупреждение сердечно-сосудистых заболеваний».

Необходимость внедрения метаболического синдрома в клиническую практику обусловлена высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений, связанных с атеросклерозом: инфарктом миокарда, инсультом и сахарным диабетом 2-го типа, что приводит к ранней инвалидизации и росту фатальных и не фатальных осложнений у трудоспособного населения.

Диагностика метаболического синдрома помогает выявить пациентов с повышенным долгосрочным риском сердечно-сосудистых заболеваний, лиц с высоким риском развития сахарного диабета и ишемического инсульта. Исследования свидетельствуют и о наличии реципрокной взаимосвязи психосоциальных факторов риска и метаболическом синдроме.

Во второй день проходили следующие заседания:

1. «Введение в тему — дефиниции и эпидемиология».

2. «Метаболический синдром — тайны и мифы».

3. «Глобальный риск и значение его для предиабета и метаболического синдрома».

4. «Старение и метаболический синдром, предиабет и диабет».

5. «Митохондриальные механизмы и метаболический синдром, предиабет и сахарный диабет».

6. «Роль печени в инсулинорезистентности и метаболическом синдроме».

7. «Церебральная манифестация метаболического синдрома».

8. «Неотложная метаболическая терапия».

9. «Эпидемиология и скрининг».

10. «Можем мы задержать прогрессирование заболевания у пациентов с гипергликемией? Доказательства и клинические исследования».

Критерии IDF менее чувствительны, чем критерии АТР III при оценке коронарных событий у пациентов с метаболическим синдромом. Риск развития сахарного диабета особенно велик при сочетании 4 из возможных 5 компонентов метаболического синдрома. Компоненты метаболического синдрома тесно связаны с функциональным состоянием органов пищеварения, так изменения в печени у больных с метаболическим синдромом способствуют развитию воспалительно-некротических изменений в ней вследствие накопления свободных жирных кислот, что приводит к несоответствию синтеза и секреции триглицеридов, стимулирующих воспалительные реакции и при прогрессировании — к фиброзу.

Метаболическая терапия, подразумевающая метаболические, сосудистые, органопротективные эффекты актуальна для пациентов с метаболическим синдромом.

Третий день:

1. «Гипергликемия и болезни сердца».

2. «Уменьшение риска и предупреждение кардиоваскулярных заболеваний».

3. «Клеточные механизмы и метаболический синдром, предиабет и сахарный диабет».

4. «Абдоминальное ожирение».

5. «Адипокины и факторы воспаления».

6. «Васкулярные эффекты гипогликемической терапии».

7. «Метаболический синдром и миокард»

8. «Уменьшают ли кардиоваскулярные заболевания прицельное лечение индивидуальных компонентов метаболического синдрома?».

Сахарный диабет рассматривается как неинфекционная эпидемия мирового масштаба, с имеющейся тенденцией к дальнейшему увеличению. Коррекция постпрандиальной гипергликемии приобретает большую актуальность.

Коррекция компонентов метаболического синдрома с помощью медикаментозной терапии с применением препаратов с различными механизмами действия, наряду с основным действием, снижает уровень других его компонентов, а индивидуально каждый из них способствует снижению риска развития сердечно-сосудистых осложнений на 30%.

Абдоминальное ожирение играет важную роль в регуляции уровней маркеров воспаления. С-РБ представляет независимый предиктор сердечно-сосудистых событий и инсулинорезистентности с прогностической ценностью.

Четвертый день:

1. «Гипогликемическая терапия предупреждает сердечно-сосудистые заболевания?».

2. «Предиабет, метаболический синдром у молодых».

3. «Сердце и сосуды».

4. «Механизм заболевания: инсулинорезистентность и предиабет».

5. «Сотрудничество в профилактике».

Модификация образа жизни неоспорима в плане снижения риска развития сердечно-сосудистых событий. Она подразумевает физические нагрузки умеренной интенсивности в сочетании с редукцией энергетической ценности (калорийности) диеты, с дифференцированным применением отдельных компонентов диеты.

В пленарных сессиях выступали ведущие специалисты: P.Zimmet, K.G.M.Albert, P.Lefebvre, H.C.Gerstein, A.Ceriello, R.A.DeFronzo, J.-P.Despres, M.Hnefeld, J.E.Shaw, M.Brownlee, M.Stumvoll, S.M.Grundy, K.Malmberg, S.Soderberg, A.Karasik, A.Melander, P.Segal и др.

«ЭФФЕРЕНТНАЯ ТЕРАПИЯ»
Свидетельство о регистрации № 014112 от 04.10.95 г.

Оригинал-макет подготовлен ООО «РИП».

Подписано в печать 25.12.07 г. Формат 60×90 ¹/₈. Бумага офсетная. Гарнитура Newton. Печать офсетная. Усл. печ. л. 6,25. Тираж 1000 экз.

Цена договорная.

Санкт-Петербург, Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования.

191015, Санкт-Петербург, Киришная ул., д. 41.

Отпечатано в ООО «РИП».