

сведений об участии цитокинов: IL-12, IL-10 в патогенезе ИКБ.

Известно, что одним из индукторов синтеза IL-12 служат микробные клетки. Важным его эффектом является способность направлять дифференцировку Th0 в сторону Th1 (Фрейдин И.С., 1999). IL-10 наоборот подавляет синтез цитокинов Th1 клетками и является физиологическим антагонистом IL-12.

Цель нашего исследования состояла в изучении особенностей продукции IL-12 и IL-10 у больных разными формами ИКБ в ранний период болезни.

Обследовано 28 больных. Из них с эритемной формой болезни (ЭФ) 18 человек, с безэритемной формой (БЭФ)-10. Средний возраст заболевших составил  $51,32 \pm 2,5$  года. Серологическая диагностика ИКБ осуществлялась стандартным методом НМФА с использованием коммерческого диагностикума НИИЭМ им Н. Ф. Гамалеи РАМН. Диагноз был подтвержден в динамике у 85,6% больных ЭФ ИКБ и у всех с БЭФ.

Содержание цитокинов в сыворотке крови определяли методом твердофазного ИФА с использованием реактивов "R&D Diagnostic Inc, USA", с чувствительностью 1 пг/мл, анализ цитокинового профиля проводили при поступлении, на 10 день болезни.

Длительность лихорадочного периода у больных с ЭФ болезни составила  $4,04 \pm 0,76$ , с БЭФ-  $6,31 \pm 0,8$  дня. Кроме ОИС проявления болезни у пациентов с эритемными и безэритемными формами характеризовались симптомами органических поражений. У 12 (42,8%) выявлены на ЭКГ нарушения проводящей системы, 4 (14,3%) больных предъявляли жалобы на боли в сердце, 8 (28,6%) на боли в суставах. Поражение нервной системы проявлялись астеническим синдромом и дисциркуляторной энцефалопатией у 7 (29,1%) пациентов. Увеличение печени зарегистрировано у 4 (16,6%) больных у одного из них с повышением ферментов (ALT в 4раза).

У пациентов с ЭФ ИКБ при первом исследовании отмечена тенденция к снижению синтеза IL-12p70 ( $5,66 \pm 1,43$  пг/мл, при норме  $7,61 \pm 2,75$  пг/мл), заметного отличия показателей в динамике не было ( $p > 0,05$ ). Одновременно мы зафиксировали достоверное повышение IL-10 в 1,7 раза в этой группе пациентов ( $24,32 \pm 2,44$  пг/мл, в группе контроля  $13,86 \pm 0,7$  пг/мл,  $p < 0,001$ ). В динамике через 10 дней этот показатель также сохранялся повышенным ( $22,61 \pm 1,4$  пг/мл,  $p < 0,01$ ).

У больных БЭФ ИКБ наблюдалось повышение синтеза IL-12p70 при первом исследовании ( $20,67 \pm 10,63$  пг/мл) с достоверным нарастанием в динамике ( $40,90 \pm 16,37$  пг/мл, контроль  $7,61 \pm 2,75$  пг/мл,  $p < 0,05$ ). При этом уровень IL-10 также оказался повышенным в 3 раза ( $44 \pm 04$  пг/мл,  $p < 0,05$ ). В последующем наблюдалось снижение его содержания до  $26,27 \pm 2,58$  пг/мл, ( $p < 0,01$ ).

Таким образом, анализ проведенных исследований показал, что продукция цитокинов у больных ИКБ зависит от формы болезни. У больных и эритемной формой преобладает активация противовоспалительных цитокинов, а с безэритемной регистрируется повышение цитокинов обоих классов. Последующие

исследования позволят уточнить роль выявленных особенностей в патогенезе ИКБ.

### МЕТОДИКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОЛЕРАНТНОСТИ ЖИВОТНЫХ К ТРОМБИНУ

Сулкарнаева Г.А., Согрин Э.Н.,  
Бышевский А.Ш., Шаповалов П.Я.  
*Тюменская медицинская академия*

Известны способы определения толерантности организма к тромбину, требующие большого количества экспериментальных животных и значительной длительности наблюдений. Среди них приём, выполняемый на большом числе лабораторных крыс для оценки влияния одного вида воздействий или одной дозы какого-либо соединения на это свойство организма [Л.В.Михайлова, 1970]: после изучаемого воздействия на животных, им инъецируют в яремную вену тромбин и затем в течение 24 ч учитывают частоту гибели. Недостатки этого приёма: 1) необходимость использовать около 100 особей (по 50 в контрольной и в подопытной группах) для оценки влияния одного вида воздействия на толерантность к тромбину, 2) длительность наблюдений. Известен также способ [Р.Ф.Каптюх 1970], сущность которого заключается в том, что после изучаемого воздействия (или воздействий) животным инъецируют раствор тромбина и через 0.5 ч в пробах крови определяют 1) время рекальцификации, 2) толерантность к гепарину, 3) уровень гепарина, 4) антитромбиновую активность, 5) уровень антитромбина III, 6) антифибринолитическую активность, 7) активность фибриногенолиза, 8) протромбиновое время, 9) потребление протромбина, 10) активность антиплазмина. Сопоставляя степень изменений этих величин, устанавливают, отличается ли сдвиг каждого из 10-ти показателей у контрольной и подопытной групп, составляют суждение о толерантности к тромбину, выражая ее изменения качественно – «выше или ниже, чем в контроле».

Недостатками способа являются: невысокая специфичность отобранных показателей [З.С.Баркаган, 1988; В.П.Балуда и др., 1995.], длительность определений (до 24 ч) и еще около 3-4 ч (математический анализ результатов) – всего около 28 ч, неоднозначность ответа (одни из перечисленных показателей могут уменьшаться, другие увеличиваться), качественный характер ответа: «толерантность уменьшилась или увеличилась».

Цель представляемой разработки – количественное определение толерантности экспериментальных животных к тромбину и ее изменений при разнообразных воздействиях.

Существенные признаки разработки таковы: 1) тромбин заданной активности вводится в яремную вену фиксированного животного после пробуждения от наркоза в количестве, определяемом массой тела животного (активность – 25 с по времени свертывания 0.2% раствора фибриногена, 1 мл/кг массы крысы); 2) отбор пробы крови производится через 30 мин в малом объеме (0.9 мл) в шприц с 0.1 мл 3.8% раствора трехзамещенного цитрата натрия; В плазме крови

определяют единственный показатель – содержание фибриногена, свертываемого тромбином. По изменению содержания фибриногена после введения тромбина судят о толерантности к тромбину организма. Эффективность разработки по сравнению с ранее известными способами заключается в уменьшении числа определяемых показателей с 10 до 1-го, уменьшении числа используемых реагентов и препаратов, сокращении затрачиваемого на определение времени в 10-12 раз. Специфичность определений обусловлена тем, что фибриноген является основным субстратом тромбина в процессах свертывания [Д.М.Зубаиров, 2000; А.Ш.Бышевский и др., 1991.], тем, что изменения уровня реагирующего на тромбин фибриногена при экзогенной гипертромбинемии, положенной в основу способа, зависят от результативности работы всех систем, обеспечивающих выживание организма при ускоренном тромбообразовании [З.С.Баркаган, 1988; В.П.Балуда и др., 1995].

Преимущества разработки заключаются в том, что её применение позволяет количественно оценивать степень изменения толерантности к тромбину при каком-либо воздействии по сравнению с контрольной группой животных.

Подтверждением эффективности разработки являются результаты описанного ниже эксперимента.

Партию животных, близких по массе тела, разделили на три одинаковые группы по 6 особей в каждой – группа 1-я контрольная, группа 2-я – животным в составе рациона вводили ацетилсалициловую кислоту в течение 3-х дней (4 мг/кг в день); группа 3-я – животным вводили L-тироксин как активатор тромбогенеза в течение 3-х дней (35 мг/кг в день); группа 4-я – крысы воздействиям не подвергались – у них устанавливали содержание фибриногена в исходных условиях (в норме)

На 4-й день животным 1-й, 2-й и 3-й групп ввели в яремную вену слева раствор тромбина (1 мл/кг, активность 25 с) и через 30 мин взяли по 0.9 мл крови из яремной вены справа в шприц, содержащий 1 мл 3.8% раствора цитрата натрия, смешали, отделили плазму центрифугированием в течение 10 мин при 250 g. Одновременно взяли кровь у крыс 4-й группы. Определили содержание фибриногена во всех пробах, осадив его добавлением к плазме равного объема тромбина (0.1 мл и 0.1 мл) и экспозицией на водяной бане при 37°C в течение 10 мин. Сгусток фибриногена извлекли, промыли в 0.14 М растворе хлорида натрия, осушили фильтровальной бумагой, поместили в 1 мл 0.5 М раствора едкого натра и после инкубации на водяной бане при 60°C, охладив, определили оптическую плотность при 278 мкм. Содержание фибриногена установили по калибровочной кривой, построенной с растворами фибриногена разных концентраций.

Результаты:

- у крыс группы 4-й концентрация фибриногена -  $2.2 \pm 0.04$  г/л; у крыс, которым ввели тромбин без предварительного воздействия –  $1.0 \pm 0.03$  г/л; у крыс, получивших ацетилсалициловую кислоту –  $1.4 \pm 0.02$  г/л; у крыс, получивших тироксин, -  $0.3 \pm 0.008$  г/л.

Рассчитали остаточную концентрацию фибриногена по отношению к величине, найденной у интактных крыс по формуле:

$$D = 1 - \{[(C_k - C_0) : C_k] \times 100\}$$

где  $D$  – остаточная концентрация фибриногена в %,  $C_k$  – концентрация у крыс группы 4-й (контроль – тромбин не вводили и воздействиям не подвергали),  $C_0$  – концентрация фибриногена у получивших тромбин на фоне воздействия (в данном случае – введение ацетилсалициловой кислоты или тирокина).

Остаточная концентрация является характеристикой толерантности к тромбину – ее значения у крыс, которым тромбин ввели без предварительных воздействий, принимали за 100-процентную толерантность к тромбину. Это позволило рассчитать изменения толерантности в процентах:

Остаточная концентрация фибриногена в плазме крови (в % к исходной) у интактных крыс = 100-процентной толерантности; у животных сравнимой группы толерантность равна  $X\%$ .

Согласно этой пропорции у крыс 2-й группы, которым вводили ацетилсалициловую кислоту, а затем тромбин (45.6 принято за 100%; 63.6 - за  $X\%$ ) величина  $X$  составила 139%.

Таким образом, величина толерантность к тромбину у крыс, получивших ацетилсалициловую кислоту, увеличилась до 139% и это согласуется с представлениями о способности ингибиторов превращения арахидоновой кислоты в тромбоцитах снижать угрозу тромбообразования [И.А.Дементьева, 1998].

У крыс 3-й группы (получали тироксин) – толерантность ( $X\%$ ) снизилась до 29.8%, что согласуется с наблюдениями, выявившими низкую переносимость тромбина на фоне гипертиреоза [О.Ф.Мысник, 2000].

На такое же исследование, которое было выполнено примерно за три часа, упомянутые выше приёмы требуют более суток при использовании 12 реагентов вместо 3-х. Существенно и то, что результат, полученный с помощью предложенной разработки, выражен количественно и однозначно.

#### ЭКСПИРАТОРНЫЙ СТЕНОЗ ТРАХЕИ У БОЛЬНЫХ С ФЕНОТИПИЧЕСКИМИ ПРИЗНАКАМИ НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Филипенко П.С., Кучмаева Т.Б.

*Ставропольская Государственная*

*Медицинская Академия,*

*Ставрополь*

Соединительная ткань в организме человека составляет около 50% всей массы тела. Источником развития соединительной ткани является мезенхима, из которой формируются внешне столь непохожие друг на друга ткани (кожа, гладкие мышцы, хрящи, кости, кровь и лимфа). Несмотря на внешнее различие перечисленных типов тканей, все они отличаются удивительным постоянством структурных элементов. Многообразие и сложность морфологии и функций соединительной ткани обеспечивает ее центральное место в саногенетических процессах и предполагает активное участие основных ее элементов в развитии многих видов патологии. (Земцовский Э.В., 1998).

Еще в 20-40 годы прошлого столетия некоторые крупные советские патологи и педиатры придавали