После проведенного курса озонотерапии наблюдались значительные изменения в показателях фертильности спермы. Нормализовалось процентное содержание активно подвижных сперматозоидов. Уменьшилось процентное содержание неподвижных сперматозоидов (в среднем до 25,8 %). Скорость сперматозоидов увеличилась в среднем до 2,2 мм/мин. Практически все двигательные характеристики сперматозоидов пришли к норме, что не наблюдалось в группе пациентов, получавших только общепринятую терапию.

Следует отметить, что терапевтическое действие озона при субфертильности у мужчин, проявляющееся улучшением показателей фертильности, а также улучшением ряда иммунологических показателей ((ИЛ-1α, ИЛ-4, ИЛ-8, ФНО-α) спермоплазмы, являющихся важными характеристиками репродуктивной системы, требуют, несомненно, дальнейшего изучения.

На основании полученных нами результатов можно считать, что озонотерапия позволяет существенно улучшать мужскую фертильность.

НОВОЕ В ТЕХНОЛОГИЯХ ДИАГНОСТИКИ И КОНТРОЛИРУЕМОЙ ТЕРАПИИ АНТИФОСФОЛИПИДНОГО СИНДРОМА

Момот А.П., Сердюк Г.В., Момот О.А.
ЦНИЛ Алтайского государственного медицинского университета, Барнаул

В соответствии с рекомендациями Международного подкомитета по тромбозам и гемостазу (1995, 2002) общепринята трехэтапная схема диагностики антифосфолипидного синдрома (АФС) по выявлению эффектов аутоантител, обладающих свойствами волчаночных антикоагулянтов (ВА). Трудоемкость такой диагностики существенно ограничивает возможности клиницистов по профилактике тромбоэмболической болезни, в т.ч. в послеоперационном периоде, помощи женщинам с упорной невынашиваемостью беременности.

Цель исследований. Разработать и апробировать в клинике комплекс скрининговых и противовесных проб на ВА, применимых для оперативной диагностики АФС.

Материалы и методы: Все исследования проводили на бедной тромбоцитами плазме 215 больных с установленным по международным критериям диагнозом АФС. Контрольную группу составили 50 здоровых людей без АФА в плазме крови. Все измерения проводили на оптических коагулометрах «Thrombotimer-4» и «Coag-a-Mate XM».Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета статистических программ “Statistica”. Использовались лиофильно высушенные яды гадюки Расселла, гюрзы среднеазиатской, эфы песчаной, АПТВ-реагенты различного состава и тромбопластиновые реагенты.

Результаты: В качестве замены импортных АПТВ-реагентов, чувствительных к эффектим ВА, нами отобран АПТВ-реагент (ВА+), дающий близкие результаты с зарубежными «золотыми» стандартами. Был также создан оригинальный АПТВ-реагент, низкочувствительный к действию ВА (АПТВ ВА-). Из ядовых тестов в качестве эталонного, как известно, используется коагуляционная проба с ядом индийской змеи – гадюки Расселла. В виду отсутствия этой змеи на территории СНГ нами найдена и изучена доступная замена этого реагента – яд гюрзы среднеазиатской. В проведенных сравнительных исследованиях установлена идентичность результатов определения ВА с помощьбю этих двух коагулаз. Были отобраны также тромбопластиновые реагенты, высоко- и низкочувствительные к действию ВА.

Апробация предложенных противовесных тестов (на основе АПТВ, протромбинового теста и теста с коагулазой яда гюрзы) у больных, в сравнении с традиционными подходами, позволила выявить их высокую информативность и возможность проводить количественный учет выраженности патологии. Последнее способствовало оптимизации контролируемой терапии АФС, в частности по учету динамики уменьшения содержания ВА в плазме в процессе проведения курсов дискретного плазмафереза. Ценной особенностью предложенного алгоритма диагностики заключается в появлении возможности таких определений на фоне проведения гепаринотерапии или при приеме антикоагулянтов непрямого действия (варфарина).

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИТЕЛ К NO-СИНТАЗЕ В КРОВИ И СЛЕЗЕ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ И ДОНОРОВ

Мягкова М.А., Абраменко Т.В., Копоров Д.С., Панченко О.Н.,Нероев В.В., Чеснокова Н.Б., Рябина М.В., Охоцимская Т.Д.
Институт физиологически активных веществ РАН, Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца, Черноголовка

Цель: В последние годы получило развитие новое научное направление исследований, связанное с изучением факторов гуморального иммунитета – естественных антител (е-ат), которые продуцируются В-клетками в норме в отсутствие антигенной стимуляции. К настоящему времени изучены основные свойства этих антител и их отличие от антител, полученных активной иммунизацией. Так известно, что они связываются с эндогенными биорегуляторами и участвуют в регуляции гомеостаза, являются низко аффинными полиспецифическими иммуноглобулинами и существуют в виде иммунных комплексов, осуществляя транспортную функцию. Исследованиями последних лет установлено, что естественные антитела изменяют свои свойства (аффинность, специфичность) при развитии патологии и их содержание может коррелировать с течением заболевания. Вот почему разработка методов определения е-ат является актуальной задачей для выбора новых критериев диагностики и прогноза заболеваний.

Оксид азота – NO является основным вазодилятирующим фактором, препятствующим тоническому сокращению сосудов. NO образуется под действием фермента NO-синтазы путем окисления терминально-

го атома азота гуанидина в L-аргинине. NO-синтаза существует в виде трех изоформ, выполняющих указанную выше функцию, но имеющих отличие в аминокислотной последовательности. Целью настоящей работы явилась разработка метода определения уровня е-ат к эндотелиальной NO-синтазе (е-NOS), которая относится к конституциональным ферментам и стабильно экспрессируется в эндотелиальных клетках. Инсулин способствует вазодилятации за счет активации синтеза NO клетками эндотелия. При инсулинорезистентности, характерной для сахарного диабета 2-ого типа, показано уменьшение инсулин-опосредованной и эндотелий-зависимой вазодилятации. Результаты различных исследований свидетельствуют о том, что сахарный диабет (СД) сопровождается дисфункцией эндотелия, который при этом теряет способность к адекватному синтезу вазодилататоров. Нарушение соотношения вазоактивных факторов играет важную в развитии диабетической нефро- и полинейропатии. Кроме того, изменение ауторегуляции сосудов сетчатки приводит к развитию диабетической ретинопатии.

Методы исследования: Больным проводили стандартное офтальмологическое обследование, флуоресцентная ангиография глазного дна. Определение уровня е-ат к эндотельальной NO-синтазе в сыворотке крови и слезе выполняли иммуноферментным методом анализа.

Разработка метода выявления уровня е-ат основана на процедуре гетерогенного иммуноферментного анализа (ИФА). На полистирольных планшетах сорбировали специфический антиген (Аг), полученный методом активированных эфиров с использованием полимерной матрицы 4-полинитрофенилакрилата. Этот способ синтеза позволил максимально сохранить структуру исходного соединения – С-концевого пептида эндотелиальной NO-синтазы. Данный 20-членный пептид является уникальным отличительным признаком е-NOS от других изоформ этого фермента. Уровень е-Ат определяли по изменению оптической плотности (OD_{492}) в ИФА. Была исследована зависимость изменения оптической плотности от концентрации иммобилизованного Аг и степени разведения сыворотки и слезы. Обнаруженные е-Ат относились к иммуноглобулинам класса М.

Математическая обработка полученных данных проводилась с помощью специальной программы.

Результаты: Было обследовано 49 человек (98 глаз). Среди больных диабетической ретинопатией (ДР) выделена группа больных с пролиферативной диабетической ретинопатией (ПДР) - 25 человек, с препролиферативной диабетической ретинопатией (Пре ПДР) – 5 человек, группа больных с другими глазными заболеваниями без сахарного диабета - 10 человек, и группа здоровых лиц – 9 человек. Группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Таблица 1. Результаты определения уровня е-ат к е-NOS методом ИФА

Группа	Количество человек (глаз)	Среднее значение OD_{492} (M±δ)	
		В крови	В слезе
ПДР	25 (50)	0,40±0,16	0,8±0,36
ПреПДР	5(10)	0,43±0,14	0,88±0,37
Другие заболевания	10(20)	0,45±0,2	0,67±0,24
Доноры	9(18)	0,3±0,1	0,76±0,35

При анализе множественного критерия Шиффа не обнаружена достоверная разница в группах больных с диабетической ретинопатией (ДР) и нормальными донорами. Статистически значимая разница по уровню е-Ат к е-NOS в крови (p=0,04) выявлена только между группой лиц с другими глазными заболеваниями и группой доноров. Далее для поиска дифференциального диагностического критерия больные с диабетической ретинопатией были разделены на группы в зависимости от особенностей течения ДР – наличия и степени выраженности неоваскуляризации, глиоза, макулярных изменений, геморрагической активности, отложений экссудата, проведения лазеркоагуляции. Однако статистически значимой разницы между группами по уровню е-Ат к е-NOS в крови и слезе выявлено не было.

На следующем этапе работы больные с ДР были разделены на группы в зависимости от особенностей течения сахарного диабета (СД). Была выявлена статистически значимая разница (p <0,05) по уровню е-Ат к е-NOS в крови в зависимости от тяжести заболевания и его компенсации СД.

Таблица 2. Результаты ИФА е-ат к е-NOS у больных сахарным диабетом

Тяжесть течения СД	Легкое течение	Средней тяжести	Тяжелое течение
Уровень е-Ат к е-NOS в крови (M±δ)	0,12±0,05	0,38±0,1	0,5±0,2
Степень компенсации СД	Компенсированный	Субкомпенсированный	Декомпенсированный
Уровень е-Ат к е-NOS в крови	0,38±0,11	0,4±0,12	0,63±0,3

Как видно из представленных в таблице данных при легком и компенсированном СД наблюдается наименьшее отклонение в уровне е-ат к е-NOS по сравнению с нормой. Этот факт является косвенным отражением нарушений в организме при СД.

При анализе диабетических осложнений выявлялась статистически значимая разница по уровню е-Ат к е-NOS в крови (р=0,0004) в зависимости от наличия (0,53±0,2) или отсутствия (0,37±0,1) синдрома диабетической стопы.

При анализе типа лечения выявлена статистически значимая разница по уровню е-Ат к е-NOS в слезе (р=0,02) в группе больных с инсулинопотребным СД (0,67±0,32) по сравнению с инсулиннепотребным СД (0,9±0,36).

Выявлялась статистически значимая разница по уровню е-Ат к е-NOS в слезе в зависимости от приема нитропрепаратов (р=0,03) – у лиц не принимавших нитропрепараты уровень е-Ат к е-NOS в слезе был выше(0,42±0,16), чем у принимавших(0,34±0,11).

При построении регрессионной модели было выявлено, что наиболее значимо на уровень е-Ат к е-NOS в крови у больных СД влияли возраст, тяжесть, компенсация и длительность СД, прием нитропрепаратов, наличие экссудаций и геморрагий на глазном дне. Ошибка уравнения =0,089.

На уровень е-Ат е-NOS в слезе наиболее значимо влияют степень тяжести и компенсация СД, тип СД, инсулинопотребность, наличие диабетических осложнений. Ошибка уравнения=0,12.

Выводы

Впервые разработан метод ИФА выявления е-ат к е-NOS в крови и слезе человека. Одновременное определение уровня е-Ат к е-NOS в крови и слезе у больных СД с ДР показало отличие в их содержании по сравнению с нормой. Было выявлено, что уровень е-Ат к е-NOS в слезе в 2-3 раза выше, чем к крови. Были обнаружены изменения уровня е-Ат к е-NOS в завимости от характера течения СД и наличия диабетических осложнений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мягкова М.А. // Естественные антитела к низкомолекулярным соединениям. М, 2001г.

2. А.В.Погожева, М.А. Мягкова // Питание и естественные антитела в кардиологии, М,2001

3. О.Н. Бондаренко, Г.Р. Галстян, М.Б. Анциферов и др. // Биологическая роль оксида азота при сахарном диабете. Сахарный диабет, М, №2, 2002 г.

4. В.С. Задионченко, Т.В. Адашева, А.П. Сандомирская. // Дисфункция эндотелия и артериальная гипертония: терапевтические возможности. - Русский медицинский журнал. 2002. - том 10. - № 1. – с.145.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТОЯНИЯ СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПЕПТИДОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ НЕКОТОРЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНОВ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ НА БАЗЕ ГОРОДСКОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ БОЛЬНИЦЫ №-2 ГОРОДА НАЛЬЧИКА

Нагоев Б.С., Боттаев Х.Б., Юанов А.А., Катаева И.П.
Кабардино-Балкарскии государственный университет, Городская Клиническая Больница№-2, Нальчик

В последние годы большое значение придают изучению состояние среднемолекулярных пептидов (СМП) плазмы крови при инфекционно-воспалительных заболеваниях, являющийся универсальным маркером интоксикации (Б.С.Нагоев с соавт.,1998, И.А.Кимова,2000.;Ж..Р.Шогенова,2002). В связи с этими данными представляет значительный интерес определение уровня среднемолекулярных пептидов при воспалительных заболеваниях органов брюшной полости. Под наблюдением находилось 34 больных (18-женщин,16-мужчин) с острыми и хроническими заболеваниями органов брюшной полости в возрасте от 20 до 72 года , которым проводился курс консервативной терапии. В числе обследованных :у 12 больных установлен диагноз острый панкреатит ,у 8 обострения хронического панкреатита, у 6 острый холецистит, у 8 больных обострения хронического холецистита с наличием симптомов реактивного панкреатита. Определение содержания среднемолекулярных пептидов в плазме крови проводили скрининговым методом В.В.Николайчика с соавторами(1987) в модификации М.И.Габриловича (1998).Нормальные показатели (от 0,700 до 1,410 ОЕ) установлены при обследовании 30 доноров Республиканской станции переливания крови(X±m=1,055±0,002 ОЕ). Исследования среднемолекулярных пептидов у обследованных больных проводили на высоте острого или обострения хронического процесса (1-4 дни), в периоде угасания патологического процесса (5-8 дни) и в период реконвалесценции т.е. перед выпиской больных из стационара.

В результате проведенных исследовании у больных острым холециститом(1,710±0,03 ОЕ) и при обострении хронического холецистита (1,640±0,02 ОЕ) обнаружено закономерное и достоверное возрастание содержания СМП в плазме крови с максимальным значением в периоде разгара заболевания и на высоте обострения. В периоде угасания клинических симптомов, параллельно положительной динамике заболевания (т.е. уменьшению боли в правом подреберье ,снижению температуры и купированию эндотоксикоза) происходило снижение уровня СМП в плазме крови(1,159±0.03 ОЕ; 1,220±0,03 ОЕ соответственно). В период ранней реконвалесценции, перед выпиской больных из стационара уровень СМП в плазме крови у больных острым холециститом достигает нормальных величин, а у больных хроническим холециститом или холецистопанкреатитом исследуемые показатели оставались существенно повышенными. Аналогичная картина в изменении содержания СМП отмечено в динамике заболевания острым или с обострением