

ВЕСТНИК

Тематический выпуск:



Проблемы хирургического лечения опухолей

*Невидимому, все
чудеса врачей
состоят в их силе
внимания к
больному. Этой
силы поэты
вдохотворяют
своему, а врачи
больных
снимают с
своего плеча.*

М.М. ПРИШВИН



ISSN 1609-2163



9 771609 216000 >

Тула * 2008

УДК 612.017.1:616.441

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КОМПОНЕНТА ТИРЕОИДНОЙ ДИЗРЕГУЛЯЦИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭНДОТОКСИКОЗЕ

А.Н. ГОРЯЧЕВ, С.А. КАЛАШНИКОВА, В.В. НОВОЧАДОВ*

В задачу патоморфологов, исследующих щитовидную железу (ЩЖ) в норме и при патологии, входит учет гистофизиологических критериев, позволяющих судить о напряженности гормонального фона. Характеристика ЩЖ предусматривает оценку состояния тироцитов, продуцирующих тироксин и ряда других морфофункциональных признаков, определяющих повышение или снижение функциональной активности ЩЖ [2,7,9]. На всех этапах прижизненной морфологической диагностики остро стоит проблема поиска неинвазивных методов диагностики, которые были бы точными и высокоинформативными [1]. По определению тиреоидных гормонов в периферической крови не представляется достоверно судить о морфологических изменениях в ЩЖ, происходящих при хронической эндогенной интоксикации [3]. Поэтому актуальным представляется проведение математического моделирования компонента тиреоидной дизрегуляции при хроническом эндоотоксикозе (ЭТ) и определение регрессионных уравнений для вычисления морфометрических параметров ЩЖ.

Цель работы – определение возможности математического моделирования в вычислении морфометрических параметров ЩЖ у крыс при хроническом ЭТ.

Материал и методы. При выполнении настоящего исследования безусловно был соблюден принцип проведения работ с использованием экспериментальных животных» [6]. В опыте использовали 57 нелинейных крыс обоего пола, массой 290±47 г. Для моделирования хронического ЭТ использовалась классическая модель с преимущественным поражением печени: многократное введение малых доз экспериментального ЛПС *S. typhimurium* (Sigma, USA) в дозе 0,2 мг/кг в сочетании с тетрахлорметаном (ТХМ) по 0,5 мл/кг массы [5]. Изменения оценивались в трех временных интервалах (30-е, 60-е и 90-е сут). Контролем служили интактные крысы. Выведение из эксперимента проводили с использованием нембутала (100 мг/кг массы). Определение концентрации плазменного тиреотропного гормона (ТТГ), общей и свободной фракции трийодтиронина (Т₃) и тироксина (Т₄), тиреоглобулина (ТГ) проводилось в сыворотке крови методом ИФА с использованием системы Stat Fax 2100/2600 (AWARENESS Technology, USA) наборами тест-систем «Вектор-Бест» (СПб, Россия).

Хроническую эндогенную интоксикацию верифицировали по увеличению содержания в плазме веществ средней молекулярной массы их олигопептидных фракций, концентрации МДА, снижению активности ацилазы печени и почек [4]. Для проведения морфологического исследования щитовидную железу фиксировали в 10% растворе нейтрального забуференного формалина (рН 7,4). Серийные срезы толщиной 5-6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. При морфометрии определяли следующие параметры: средний диаметр фолликула, высоту фолликулярного эпителия, относительный объем коллоида, интерфолликулярного эпителия, относительный объем сосудистого русла, и соединительной ткани [8]. Доказательство участия эндокринной дизрегуляции в пато- и морфогенезе хронического ЭТ было проведено с системных позиций с привлечением математического моделирования, проведенного с использованием корреляционного анализа с построением регрессионных уравнений.

Значимость полученных данных оценивали по критерию Стьюдента и считали значимыми при P<0,05. Корреляционный анализ проводился непосредственно из общей матрицы данных EXCEL 7.0 (Microsoft, USA) с привлечением возможностей программы STATGRAPH 5.1 (Microsoft, USA).

Результаты. Выявлено достаточно большое количество значимых математических связей, имеющих логическое объяснение, которые сочетали в себе искомые морфометрические показатели щитовидной железы (ЩЖ), уровень содержания тиреоидных гормонов в сыворотке крови, позволяющие судить о функциональной активности ЩЖ, биохимические маркеры хронической эндогенной интоксикации (табл.).

Таблица

Значимые корреляции (r) между морфометрическими показателями органов эндокринной системы и биохимическими показателями у крыс при хроническом ЭТ

Морфометрические показатели	Биохимические показатели
Средний диаметр фолликула	ТТГ (0,7877)
	Т ₃ свободный (0,9857)
	Ацилаза почек (0,9069)
Высота фолликулярного эпителия	Т ₃ свободный (0,9705)
	ВСММ (-0,6754)
	Олигопептиды (-0,6641)
	МДА (-0,6762)
	Ацилаза почек (0,6979)
Относительный объем коллоида	Т ₃ общий (0,7287)
	Т ₃ свободный (0,9462)

Для наглядности и облегчения выполняемых расчетов, выбранные параметры представим в относительных единицах, которые определяли по формуле:

$$X_{\text{отн}} = \frac{X_i}{\bar{X}_0}$$

где \bar{X}_0 – среднее значение параметра в группе интактных крыс.

Отклонение исследуемых параметров щитовидной железы у крыс при хроническом эндоотоксикозе от значений интактных животных представлены на рис.1.

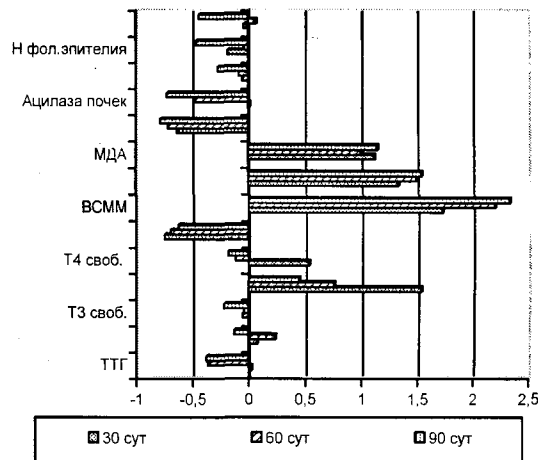


Рис. Отклонение исследуемых параметров щитовидной железы у крыс при хроническом эндоотоксикозе от контрольных значений, относительные ед.

В результате корреляционного и регрессионного расчетов, проведенных для определения наружного диаметра фолликулов щитовидной железы, получены следующие данные:

- коэффициент детерминации $R^2 = 0,997 > 0,95$;
- уровень значимости критерия Фишера $p = 3,92 \cdot 10^{-16} < 0,05$.

Из рассматриваемой совокупности полученных критериям соответствует только параметры «Т₃ свободный», «Ацилаза почек», при коэффициенте корреляции не ниже 0,9 по модулю.

В окончательном виде регрессионное уравнение имеет следующий вид, где погрешность не превышает 2%:

$$Y_{d. \text{ фолликула}} = 125,53 (-0,032 + 0,9418 X_{T3 \text{ своб.}} + 0,0925 X_{\text{Ацилаза почек}})$$

В результате корреляционного и регрессионного расчетов, проведенных для высоты фолликулярного эпителия щитовидной железы у крыс при хроническом ЭТ, получены данные:

- коэффициент детерминации $R^2 = 0,99 > 0,95$;
- уровень значимости критерия Фишера $p = 3,98 \cdot 10^{-11} < 0,05$.

Из рассматриваемой совокупности полученных критериям соответствует только параметры «Т₃ свободный», «Ацилаза почек», «Олигопептиды», «ВСММ», «МДА», при коэффициенте корреляции не ниже 0,9 по модулю.

В окончательном виде регрессионное уравнение:

* Волгоградский ИЦ РАМН, Волгоградский ГМУ, 400131 Г. Волгоград. Пл. Павших борцов, 1

$Y_{\text{высф.лит}} = 308(-1,3 + 2,43X_{\text{ТЗ.своб}} + 0,304X_{\text{ВСММ}} - 0,339X_{\text{Олигон}} - 0,1067X_{\text{МДА}})$
 где погрешность не превышает 5,7%. Для расчета регрессионно-го уравнения объема интрафолликулярного эпителия:

- коэффициент детерминации $R^2 = 0,994 > 0,95$;
- уровень значимости критерия Фишера $p = 5,5 \cdot 10^{-15} < 0,05$.

Из рассматриваемой совокупности полученным критериям соответствует только параметри «Т₃ общий», «Т₃ свободный», при коэффициенте корреляции не ниже 0,73 по модулю.

В окончательном виде регрессионное уравнение имеет вид:

$$Y_{\text{гктолоид}} = 18,7(-1,2453 + 0,5249 X_{\text{Т3.общ}} + 1,7196 X_{\text{Т3.своб}})$$

где погрешность не превышает 3,5%.

Таким образом, для расчета функциональной активности щитовидной железы достаточно измерить параметры «Т₃ свободный», «Т₃ общий», «ВСММ», «Ацилаза почек», «МДА», «Свободные пептиды», «Ацилаза почек» и решить систему уравнений:

$$\begin{cases} Y_{\text{д. фолликула}} = 125,53(-0,03 + 0,94 X_{\text{Т3.своб}} + 0,09 X_{\text{Ацилаза почек}}) \\ Y_{\text{высф.лит}} = 308(-1,3 + 2,43X_{\text{Т3.своб}} + 0,31X_{\text{ВСММ}} - 0,34X_{\text{Олигон}} - 0,11X_{\text{МДА}}) \\ Y_{\text{гктолоид}} = 18,7(-1,25 + 0,53 X_{\text{Т3.общ}} + 1,72 X_{\text{Т3.своб}}) \end{cases}$$

Заключение. Разработана математическая модель, позволяющая с высокой долей вероятности определять структурные изменения, возникающие в ЩЖ при хроническом ЭТ.

Аналогичные вычисления можно вести и для других желез внутренней секреции, используя значения маркеров эндогенной интоксикации и гормонального профиля, характеризующего функциональное состояние изучаемого органа. Преимущества метода – неинвазивность, техническая простота и экономическая доступность.

Литература

1. Горностаев Д.В. Судебно-медицинская оценка поражения щитовидной железы при наркотической интоксикации: Автореф. дисс. ... к.м.н. – М., 2003. – 23 с.
2. Демко П.С. и др. // Актуальные проблемы морфологии: Тр. Сибирского мед. ун-та. – Томск, 2002. – С. 118–119.
3. Калашникова С.А. и др. // Бюл. exper. биологии и медицины. – 2007. – № 12. – С. 707–711.
4. Камыньников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Спр-к: в 2 т. – Мн.: Интерпрессервис, 2003.
5. Новочадов В.В., Писарев В.Б. Эндотоксикоз: моделирование и органопатология. – Волгоград: ВолГМУ, 2005. – 240 с.
6. Правила лабораторной практики в Российской Федерации // Приказ МЗ РФ от 19 июня 2003 г. № 267.
7. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы. Рук-во. – СПб.: СОТИС, 2002. – 288 с.
8. Хмельницкий О.К., Иванова А.Ю. // Архив патологии. – 2000. – №5. – С. 13–18.
9. Davies T.F., Larsen P.R. Thyrotoxicosis. In: Larsen P.R., Ed Williams Textbook of Endocrinology, 10th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2003. – P. 374–421.

УДК615.214.22:612.017

ИММУНОКОРРЕГИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ФЕНИБУТА

М.А. САМОТРУЕВА, А.Н. ОВЧАРОВА, И.Н. ТЮРЕНКОВ*

Существование взаимосвязи между иммунной и нейроэндокринной системами установлено давно, но лишь в последние десятилетия выявлены медиаторы, с помощью которых реализуется взаимодействие между иммунокомпетентными и нервными клетками. Получены убедительные доказательства влияния различных гормонов на функционирование иммунной системы. Установлено участие многих нейромедиаторов в нейроиммунном взаимодействии. На иммунокомпетентных клетках обнаружены рецепторы ко многим известным гормонам и нейро-

пептидам, что доказывает их участие в реализации эфферентного звена нейроиммунных связей [4, 5, 6]. Принципиально важными стали работы по изучению иммуноотрпной активности таких медиаторов центральной и периферической нервной системы, как допамин, серотонин и ГАМК [3]. Было показано, что активация серотонинергической системы через пресинаптические механизмы (блокада обратного захвата серотонина) вызывает снижение иммуногенеза. Активация допаминергических влияний посредством также пресинаптических (блокада обратного захвата допамина или блокада допаминовых ауторецепторов) и постсинаптических (активация постсинаптических рецепторов) механизмов сопровождается стимуляцией иммунного ответа [1]. Увеличение активности ГАМК-ергической системы, достигнутое активацией ГАМК-А рецепторов или модулирующих ГАМК передачу бензодиазепиновых рецепторов приводит к повышению иммунологической реактивности. Снижение же активности ГАМК-ергической системы блокадой соответствующих рецепторов подавляет иммунитет [2, 3].

Исходя из представлений о роли нервной системы в регуляции иммунологической реактивности, становится интересным изучение иммунокорригирующих свойств нейротропных препаратов. Учитывая особенности механизма действия, широкий спектр фармакологических показаний к применению, а также низкую токсичность весьма привлекательными в этом аспекте являются ноотропные средства, особенно, производные ГАМК.

Цель исследования – изучение иммунокорригирующих свойств фенибута при экспериментальной иммуносупрессии.

Таблица 1

Влияние фенибута на формирование реакций гиперчувствительности замедленного типа и прямой гемагглютинации на модели циклофосфановой иммуносупрессии

Группы животных (n=10)	ИР ГЗТ, М ± м. %	Титр антител в РПГА, М ± м. lg
Опыт:	19,7 ± 2,7	1,24 ± 0,13
фенибут (25 мг/кг)	t ₁ = 2,8	t ₁ = 0
+ циклофосамид (100 мг/кг)	при p ₁ < 0,05	t ₂ = 5,7
	при p ₂ < 0,05	при p ₂ < 0,01
Контроль 1: (дист. вода)	11,4 ± 0,47	1,2 ± 0,06
Контроль 2: циклофосамид (100 мг/кг)	8,2 ± 0,6	0,5 ± 0,03
	t ₁ = 4,2	t ₁ = 10,4
	при p ₁ < 0,05	при p ₁ < 0,001

Материалы и методы. Экспериментальная часть работы выполнена на 90 мышах линии СВА обоего пола 3-4-х месячного возраста массой 18-20 г., распределенных по 10 особей в каждой группе. В качестве гетерологичного корпускулярного антигена для иммунизации мышей применяли эритроциты барана (ЭБ). Изучение влияния фенибута на клеточное звено иммунного ответа на ЭБ проводили на основе реакции гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ) – 1-я серия эксперимента [7]. Иммунизацию проводили подкожным введением оптимальной дозы ЭБ (2x10⁸) в 100 мкл. На 5-е сутки вводили под апоневротическую пластинку правой задней конечности разрешающую дозу – 10⁸ ЭБ в 50 мкл физиологического раствора («опытная лапка»), в левую лапку соответственно 50 мкл растворителя («контрольная лапка»). Интенсивность иммунного ответа на инъекции ЭБ определяли через 24 часа – вычисляли индекс реакции (ИР) для каждой мыши по формуле: ИР = (M_о – M_к) / M_к × 100%, где M_о – масса «опытной» лапы, M_к – масса «контрольной» лапы. Влияние фенибута на гуморальное звено иммунного ответа оценивали на основе реакции прямой гемагглютинации (РПГА) – 2-я серия эксперимента [7]. При постановке РПГА иммунизацию проводили однократно внутривбрюшинно 5 x 10⁸ ЭБ в объеме 100 мкл через 1-2 часа после введения фенибута. Через 7 дней после иммунизации животных выводили из эксперимента, получали сыворотку. Для инактивации комплемента сыворотку прогревали при t 56°С в течение 30 мин. Реакцию гемагглютинации проводили в 96-луночных планшетах в объеме 50 мкл разводящей жидкости (0,5% раствора бычьего сывороточного альбумина (БСА), приготовленного на физиологическом растворе), в которой последовательно двукратно разводили исследуемые сыворотки. После разведения сывороток в лунки вносили по 25 мкл 1% взвеси ЭБ. Окончательную регистрацию результатов проводили через 18

* Волгоградский ГМУ, кафедра фармакологии и биофармации ФУВ, 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1