

Работа выполнена на кафедре педиатрии и подростковой медицины Тбилисского Государственного Медицинского Университета и Республиканском научно-исследовательском центре медицинской биофизики и внедрения новых биомедицинских технологии имени академика Н. В. Карсанова

На правах рукописи

ИНГА МАМУЧИШВИЛИ

**ВЗАИМОСВЯЗЬ СТРЕСС-ИНДУЦИРУЕМЫХ НАРУШЕНИЙ В
НЕЙРОГУМОРАЛЬНОЙ СИСТЕМЕ И СИСТЕМЕ ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЯ У
ПОДРОСТКОВ**

14. 00. 09 – Педиатрия

ДИ С С Е Р Т А Ц И Я

на соискание ученой степени доктора
медицинских наук

Научные консультанты:

Караман Пагава
доктор медицинских наук, профессор

Галина Сукоян
доктор биологических наук, профессор

Тбилиси
2006

КРАТКИЙ СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ И СОКРАЩЕНИЙ

АКТГ – адренкортикотропный гормон;

АТФ – аденозин-5'-трифосфорная кислота, основной источник энергии в клетке;

АДФ - аденозиндифосфорная кислота;

АМФ –аденозинмонофосфат;

АФК – активные формы кислорода, высокореактивные короткоживущие соединения кислорода с непарным электроном на внешней орбите атомов этого химического элемента; появление в клетках таких соединений сопровождается повреждением клеточных мембран за счет активации перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот. В качестве антагониста супероксидного радикала в клетке в большом количестве содержится фермент супероксиддисмутаза. Было показано, что вещества, угнетающие образование кислородных радикалов, такие, например, как аллопуринол, который ингибирует активность ксантиноксидазы, дают положительный эффект в отношении сохранности тканей в эксперименте, но их клинические эффекты нуждаются в дальнейшем изучении;

БА – бронхиальная астма;

Гистамин - продуцируемый нейронами, клетками слизистой оболочки желудка, тучными клетками, базофилами и тромбоцитами, служит медиатором желудочной секреции, частоты сердечных сокращений и функций иммунитета, зависящих от типа рецепторов. Точная роль всех упомянутых веществ в системном ответе на повреждение до конца не ясна;

ГТФ - гуанозинтрифосфорная кислота;

Заднее перивентрикулярное ядро - расположено в гипоталамусе и содержит нейроны, секретирующие пептиды, важные для репродуктивной системы и системы, обеспечивающей реакцию организма на стресс: гонадотропин-рилизинг-гормон, нейропептид Y и производные проопиомеланокортина — β -эндорфин и α -меланоцитстимулирующий гормон;

Ил-1 - Интерлейкин-1 отвечает за различные биологические эффекты фактора активаций лимфоцитов и эндогенного пирогена. Различные формы Ил-1 имеют разное биологическое действие, разные рецепторы и функции. Их биологическое действие заключается в стимуляции пролиферации Т-лимфоцитов, возникновении лихорадки, синергичном действии с другими цитокинами, обеспечивающем быстрый синтез в печени острофазовых белков, протеолиз в скелетных мышцах и стимуляцию гипоталамо-гипофизарной системы (кортикотропиновый рилизинг-фактор и АКТГ);

ИЛ-2 - Интерлейкин-2, истинный лимфокин (иммуностимулятор), который был первоначально открыт и обозначен как фактор роста Т-лимфоцитов. Синтез Ил-2 угнетен у больных после термической травмы;

Ил-6 - Интерлейкин-6, семейство гликопротеинов, которые главным образом усиливают иммунитет и способствуют синтезу в печени острофазовых белков. ИЛ-6 выявляется в крови после введения эндотоксинов, а также после некоторых операций и термической травмы;

ИФН-γ - Интерферон-γ, гликопротеин, выделяемый Т-лимфоцитами при их стимуляции, активирует макрофаги, приводя к выделению ими ИЛ-1 и ФНО, угнетает репликацию вирусов. Повышение уровня ИФН описано у больных с воспалительными поражениями в области таза;

IgE – иммуноглобулин E;

IgA – иммуноглобулин A;

IgG – иммуноглобулин G;

Калликреины-кинины - являются потенциальными вазодилататорами, которые повышают проницаемость капилляров, вызывают отек, боль, повышают бронхиальное сопротивление, усиливают клиренс глюкозы и участвуют в водно-электролитном обмене;

КФ – креатинфосфат;

Мелкие нейросекреторные клетки — расположены в гипоталамусе и выделяют кортикотропин-рилизинг-гормон и аргинин-вазопрессин в портальную систему гипофиза; эти нейроны следует отличать от крупных нейросекреторных клеток, выделяющих аргинин-вазопрессин непосредственно в кровь;

НАД – никотинамидадениндинуклеотид;

НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат;

Норадренергическая система голубоватого места — норадренергические ядра, расположенные в стволе мозга и регулирующие процессы возбуждения в центральной нервной системе и активность симпатической нервной системы;

Орексоген — любое вещество, возбуждающее аппетит, например нейропептид Y;

Паравентрикулярное ядро — расположено в гипоталамусе и содержит нейроны, секретирующие кортикотропин-рилизинг-гормон и аргинин-вазопрессин, которые в свою очередь регулируют секрецию адренокортикотропного гормона в гипофизе;

Проопиомеланокортин — предшественник адренокортикотропного гормона, β-эндорфина и α-меланоцитстимулирующего гормона, выявляемый преимущественно в заднем паравентрикулярном ядре гипоталамуса и передней доле гипофиза;

Серотонин, или 5-гидрокситриптамин, выявляемый в тромбоцитах, вызывает вазоконстрикцию и агрегацию тромбоцитов и выделяется из них в кровь при повреждениях;

СОД – супероксиддисмутаза;

Стресс — состояние, угрожающее нарушением гомеостаза;

Фактор транскрипции c-fos/c-jun — гетеродимер, который стимулирует промоторы многих генов, участвующих в процессах роста и деления клетки;

ФНО - фактор некроза опухолей, или кахектин, является белком, названным так первоначально из-за его способности вызывать гибель опухолевых клеток и кахексию при инфекционных заболеваниях в эксперименте. Полагают, что ФНО, который продуцируется рядом клеток, действует синергично со многими другими цитокинами. ФНО и ИЛ-1 индуцируют синтез эйкозаноидов и фактора активации тромбоцитов, ингибируют активность липопротеинлипазы и снижают трансмембранный потенциал в скелетных мышцах;

ЦАМФ – циклический АМФ;

ЦГМФ – циклический ГМФ;

ЦТК – цикл трикарбоновых кислот;

ЦТФ - цитозинтрифосфорная кислота;

УТФ - уридинтрифосфорная кислота;

Эйкозаноиды — это класс веществ, представляющих собой продукты окисления полиненасыщенных жирных кислот с длинными цепями, которые вырабатываются из арахидоновой кислоты и синтезируются всеми клетками, за исключением лимфоцитов. К этим веществам относятся простагландины, тромбоксаны, лейкотриены, гидроксикоэкозаноэвые кислоты и липоксины. Эти вещества не содержатся в клетках, а синтезируются de novo, вызывая эффекты, которые зависят от типа продуцирующих их клеток. В качестве характерных для них эффектов описывают регуляцию системного, легочного и регионарного кровотока, центральный и периферический нейротрансмиттерный, а также гормональный и иммунологический эффекты;

СОДЕРЖАНИЕ

№	ОГЛАВЛЕНИЕ	Стр.
	ВВЕДЕНИЕ	10-18
1.	ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	19-131
1.1.	Физиология ответа на стресс	19-27
1.1.1.	Физиологические механизмы стресса и повреждающая стрессорная ситуация и адаптация к ней.	28-35
1.2.	Системы, вовлеченные в реализацию стрессорных реакций	35-38
1.2.1.	Центральная нервная система	35-38
1.2.1.1.	Нейроэндокринный контроль ответа на стресс	39-45
1.2.1.2.	Система голубоватое место – норадреналин	46-47
1.2.1.3.	Система аргинин-вазопрессин	48-49
1.2.1.4.	Нейропептид Y	49
1.2.1.5.	Эндокринная ветвь в развитии стресс-реакции.	50-53
1.2.1.6.	Репродуктивная ось	54-57
1.2.1.7.	Ось роста	57-58
1.2.1.8.	Метаболизм и лептин	58-59
1.2.1.9.	Гастроинтестинальный тракт	59-61
1.2.1.10.	Другие системы	61-64
1.3.	Дисфункция системы ответа на стресс	65-68
1.3.1.	Нормальный ответ на стресс. Центральная организация механизмов устойчивости к эмоциональному стрессу.	65-68
1.4.	Общие патогенетические механизмы внутриклеточного действия стрессоров, ксенобиотиков и других факторов окружающей среды на организм подростков.	68-69
1.4.1.	Нарушение процессов биоэнергетики	69-71
1.4.2.	Механизмы токсического повреждения систем энергообеспечения клетки	71-75
1.4.3.	Нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция	75-77
1.4.4.	Повреждение цитоскелета	77-79
1.4.5.	Активация фосфолипаз	79-80

1.4.6.	Активация протеаз	80
1.4.7.	Активация эндонуклеаз	81
1.4.8.	Активация свободно-радикальных процессов в клетке	81-87
1.4.8.1.	Биологические последствия свободно-радикальных процессов	88-91
1.5.	Бронхиальная астма и механизмы защиты органов дыхания от неблагоприятных воздействий	91-107
1.5.1.	Роль ионов кальция в реализации аллергических реакций при бронхиальной астме	108-109
1.5.2.	Биологические маркеры бронхиальной астмы	109-114
1.5.3.	Нейрогенная регуляция дыхательных путей	114-120
1.5.4.	Эндокринная регуляция при бронхиальной астме	120-122
1.5.5.	Свободные радикалы в физиологии и патологии легких	123-128
1.5.5.1.	Механизмы клеточной антирадикальной защиты	129-131
2.	КЛИНИЧЕСКАЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	132-236
2.1.	Материал и методы исследования	132
2.1.1.	Дизайн клинических исследований	132-142
2.1.1.1.	Дизайн клинического когортного пилотного исследования подростков, подверженных эмоционально-информационному напряжению.	132-139
2.1.1.2.	Дизайн клинического когортного пилотного исследования подростков, частоболеющих острой респираторно-вирусной инфекцией.	140-141
2.1.1.3.	Дизайн клинического когортного пилотного исследования подростков, с диагнозом бронхиальной астмы атипического генеза	141-142
2.1.2.	Дизайн экспериментальных исследований	143
2.1.2.1	Методы исследования	144
2.1.2.1.	Получение митохондрий и определение токсичности	144-145
2.1.2.2.	Исследование иммунологических показателей	145
2.1.2.3.	Исследование скорости дексаметазон-индуцированного апоптоза	145
2.1.2.4.	Определение содержания катехоламинов.	145-146
2.1.2.5.	Определение содержания серотонина.	146
2.1.2.6.	Определение активности каталазы.	146-147
2.1.2.7.	Определение НАД·Н –оксидазы	147
2.1.2.8.	Определение содержания супероксидного аниона.	147-148
2.1.2.9.	Определение активности СОД (КФ 1.15.1.1.)	148
2.1.2.11.	Определение активностей глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы.	149

2.1.2.12.	Определение содержания малонового диальдегида.	149
2.1.2.13.	Определение содержания адениловых нуклеотидов	149-150
2.1.2.13a	Определение содержания АТФ в крови.	150
2.1.2.13b	Определение АДФ и АМФ.	150-151
2.1.2.14.	Определение креатинфосфата.	151
2.1.2.15.	Определение неорганического фосфата.	151-152
2.1.2.16.	Определение содержания лактата.	152
2.1.2.17.	Определение содержания пирувата.	153
2.1.2.18.	Определение содержания НАД и НАДФ.	153
2.1.2.19.	Определение содержания НАД·Н.	154
2.1.2.20.	Определение содержания цитохрома С.	154
2.1.2.21.	Определение содержания эндотелина-1.	155
2.1.2.22.	Планирование медицинского эксперимента и статистическая обработка результатов.	155-159
2. 2.	РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	160
2.2.1.	Состояние стресс-лимитирующих систем подростков при информационно-эмоциональном перенапряжении и общие механизмы адаптации подростков к различным экстремальным и экологическим факторам.	160-169
2.2.1.2.	Влияние длительно информационно-эмоционального напряжения на психологический статус и состояние серотонинергической регуляции у подростков.	170-172
2.2.2.	Моноаминоергическая регуляция поведенческих реакций при гипокинезии неполовозрелых животных.	172-175
2.2.3.	Метод дифференцировки токсического действия различных металлов на клетки почек, печени и сердца, неполовозрелых животных.	176-180
2.2.4.	Функциональный ответ и резервные возможности стресс-лимитирующих систем у частоболеющих подростков.	180-187
2.2.5.	Функциональный ответ и резервные возможности стресс-лимитирующих систем у частоболеющих подростков.	187-195
2.2.6.	Функциональный ответ и резервные возможности стресс-лимитирующих систем у подростков при сочетанном воздействии стрессорных факторов внутренней и внешней среды.	196-201
2.2.7.	Патогенетические механизмы стрессорных реакций при бронхиальной	202-235

	астме атопического генеза.	
	ВЫВОДЫ	236
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	238-254

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы.

Стресс и болезнь неразрывно связаны между собой, и имеется большое количество данных подтверждающих гипотезу о том, что стрессорные воздействия прямо положительно коррелируют с частотой заболеваний [P. DeVito, 1994], особенно у подростков, организм которых наиболее чувствителен к стрессорным воздействиям [D.R.Baldwin, S.M.Harris, L.N.Chambliss, 1997]. Около 25% населения США испытывают отрицательное влияния постоянного стресса и около 50% обратившихся к врачу пациентов в Америке подвержены проблемам, связанным с последствиями стресса [G.S.Jr. Everly, 1989]. Живой организм стремится получить и поддерживать наиболее оптимальные условия своей жизни. Когда условия окружающей среды не оптимальны, индивидуумы приспосабливаются к существующим обстоятельствам [K.V.Sudakov, Belova T.I., Yumatov E.A., 1985; K.B.Судаков, 1981]. В норме постоянно поддерживается динамическое равновесие взаимодействия противодействующих процессов, «гомеостаз». Экстремальное регулирование физиологических процессов направлено на минимизацию последствий влияния факторов внешней и внутренней среды организма. В настоящее время установлено, что эмоциональный стресс, как и стресс, вызванный инфекцией, вирусом и другими патогенными микроорганизмами и ксенобиотиками, может спровоцировать практически любое заболевание. Когда организму предъявляются чрезмерные требования или угрозы, адаптивный ответ начинает иметь стереотипный неспецифический характер - состояние известное как "стресс", общий адаптационный синдром [Селье Г., 1960, 1972, Selye H., 1956, 1976]. Под неспецифичностью стресса понималась относительная независимость реакций от характера стимуляции. В то же время стресс, выступая как неспецифический компонент, находится в неразрывном единстве со специфическими реакциями организма на воздействующие агенты, изменениями на всех уровнях – организменном, органном, тканевом, клеточном и молекулярном. Одной из основных мишеней стрессорных воздействий считают сердечно-сосудистые функции и активность центральной нервной системы. Реакция на стресс в

значительной степени зависит от индивидуальной реактивности человека и животных, от индивидуального состояния их нейрорегуляторных механизмов [К.В.Судаков, 1976, 1998; Н. Selye, 1970]. Стрессорные реакции организма генетически детерминированы и сформировались в результате эволюции как механизм активного приспособления [Д.К. Беляев, 1979]. Эмоциональное возбуждение, первоначально складывающееся на уровне гипоталамо-лимбико-ретикулярных структур мозга, генерализовано распространяется в восходящем направлении на кору больших полушарий, а в нисходящем – на различные внутренние органы.

Формирование “застойного” возбуждения, происходящее с обязательным участием моноаминергических систем мозга, является основой эмоциональных стрессов. При снижении устойчивости центральных нейрхимических механизмов происходит дисрегуляция сердечно-сосудистых функций, сопряженная с нарушением обмена биологически активных веществ и лежащая в основе патологических синдромов, развивающихся при стрессе [К.В. Судаков, 1997; G. Aguilera, C. Rabadan-Deihl, X. Luo, A.Kiss, 1996; W.F. Ganong, 1996]. Метаболические сдвиги в процессе стресса включают изменение секреции адреналина и норадреналина мозговым веществом надпочечников и симпатическими нервными окончаниями соответственно. Основными нейроэндокринными звеньями стресса считаются: симпато-адреналовое, гипоталамо-гипофизо-надпочечная ось, через которые мозг воздействует на каждую клетку организма в течение воздействия угрожающих стимулов. Роль симпато-адреналовой системы в развитии адаптивных реакций организма, впервые показана в работах Л.А.Орбели (1938) и В.Кеннона (1927) еще до того, как Г.Селье сформулировал свою концепцию о стрессе. Г.И.Кассиль и Э.М.Матлина (1973) выделили три стадии развития адаптивных процессов: фазу быстро наступающей адаптивной активации, фазу длительной и устойчивой активации и третью фазу – фазу ослабления и прогрессирующего истощения функций. Переход к третьей фазе отражает переход к необратимым изменениям и может закончиться формированием патологического синдрома или шока с полным истощением симпато-адреналовой системы [Л.С.Штерн, 1960]. Кроме того, стресс, как известно, закачивается состоянием иммуносупрессии (усилением гуморального и подавлением клеточного иммунитета). Стресс-реакция иммунной системы обусловлена дифференциальным эффектом гормонов стресса, глюкокортикоидов и катехоламинов, на регуляторное соотношение CD4+/CD8+ клеток и продукцию различных типов цитокинов. С другой стороны, острый стресс, как известно, стимулирует провоспалительную деятельность [К.Г.Гуревич, 2002; В.Netterstrom, A.M.Hansen, 1999].

Ключевыми и субклеточными системами, тесно взаимосвязанными с друг с другом, на которые направлено действие различных стрессорных агентов являются:

- система энергетического обмена и стабильности клеточных мембран;
- система гомеостаза внутриклеточных микро- и макроэлементов;
- система активации свободно-радикальных процессов в клетке и система антиоксидантной защиты;
- система пластического обмена.

Чаще всего в зависимости от вида стрессорного агента одна из перечисленных систем является пусковой, но в дальнейшем особую значимость для характера адаптационной реакции поврежденной клетки приобретают другие. Очень часто две или несколько из упомянутых систем связаны между собой по типу "порочного круга".

В настоящее время предпринимаются попытки снизить уровень загрязнения окружающей среды, как одного из важнейших постоянно присутствующих стрессорных факторов, с тем чтобы повысить эффективность работы защитных систем (фармацевтическим путем). Особенно важно это для детей и подростков — они очень чувствительны к чужеродным химическим веществам, поскольку механизмы защиты у них еще не развиты в полной мере. Таким образом, комплексное исследование интимных механизмов развития и прогрессирования стрессорных синдромов, повышения риска срыва адаптации и развития состояний предболезни и болезни является одной из важнейших проблем подростковой медицины.

Целью настоящей работы является выявление ранних критериев диагностики преморбидных состояний организма подростков, идентификация биоэнергетических и нейротрансмиттерных систем (подсистем), ответственных за формирование устойчивости резервных систем организма к стрессорным воздействиям в подростковом возрасте.

Для достижения этой цели в работе были поставлены следующие **задачи**:

- изучить взаимосвязь между состоянием симпато-адреналовой и серотонинергической регуляциями и редокс-потенциалом клетки под воздействием эмоционально-информационного стресса и гипокинезии;
- изучить взаимосвязь между состоянием симпато-адреналовой и серотонинергической регуляциями и редокс-потенциалом клетки у частоболеющих подростков;

- изучить взаимосвязь между состоянием дофаминергической системы и активностью системы энергетического обеспечения у подростков с бронхиальной астмой;
- изучить взаимосвязь между состоянием симпато-адреналовой и серотонинергической регуляциями и редокс-потенциалом клетки, активностью иммунной и эндотелиальной систем при бронхиальной астме;
- изучить роль увеличения активности НАДН- и НАДФН-оксидаз-зависимого образования активных форм кислорода в глюкокортикоид-индуцированном апоптозе лимфоцитов у часто болеющих острыми респираторно-вирусными заболеваниями подростков и у подростков с бронхиальной астмой;
- изучить взаимосвязь между состоянием симпато-адреналовой и серотонинергической регуляции и редокс-потенциалом клетки под воздействием наложения эмоционально-информационного стресса и бронхиальной астмы;
- изучить резистентности печени, почек, легких, мозговой ткани, сердца и воздействию различных доз тяжелых металлов и токсических соединений на основную внутриклеточную мишень - дыхательная цепь митохондрий у неполовозрелых беспородных белых крыс.

Научная новизна. В работе разрабатывается новое направление - учение о биомаркерах, которое является актуальным и важным направлением в современной биомедицинской науке, педиатрии и экологической педиатрии. В качестве биологических маркеров рассматриваются количественно определяемые биологические параметры, которые являются индикаторами здоровья подростка, риска развития заболевания, воздействия стрессорных агентов, эффектов окружающей среды, диагностики заболевания, метаболических процессов, эпидемиологии и т.д. Показано, что система энергетического обеспечения и различные звенья нейрохимических систем являются основными мишенями проявления индивидуальных реакций организма подростков на различные стрессорные воздействия и, по-видимому, принимают участие в формировании личностных особенностей организма. При этом наибольшее значение дофаминергической системы связано с экстраверсией, а дефекты в серотонинергической системы с развитием депрессивных состояний. Показано, что между состоянием катехоламинергической системы и механизмами развития стресса, выраженностью стрессорной реакции у подростков при эмоционально-информационном стрессе, аллергической реакции существует тесная взаимосвязь. Причем степень дисбалансирования катехоламинергической системы напрямую сопряжена со степенью выраженности стресс-реакции, независимо от ее этиологии. При действии стрессорного фактора в фазе компенсации

катехоламинергическая и биоэнергетическая системы работают однонаправлено, при этом их согласованное функционирование определяет степень выраженности стресс-реакции с тем, чтобы она была адекватной стрессорному воздействию. В фазе срыва компенсаторных возможностей катехоламинергическая и биоэнергетические системы могут функционировать как антагонисты и замыкать порочный круг в формировании патологических изменений, способствовать развитию приобретенной митохондриальной патологии.

Показано, что цитотоксичность тяжелых металлов, большинства химических агентов обусловлена тремя взаимосвязанными механизмами: угнетением митохондриального дыхания клеток мозга, кардиомиоцитов, гепатоцитов, нефроцитов вследствие изменения мембранного потенциала митохондрий и нарушения активности ферментов дыхательной цепи и цикла Кребса.

Знание патогенетических механизмов цитотоксического действия эндоэкологических факторов позволит разработать высоконадежные, доступные клиники тест-системы ранней диагностики эндогенной интоксикации и наметить пути эндоэкологической реабилитации, повышения резистентности адаптивных систем организма подростков, что обеспечит значительное снижение заболеваемости в подростковом возрасте.

Гипокинезия одновременно с нарастанием нервно-психического напряжения (из-за ограничения общей двигательной активности и монотонной мышечной работы в условиях современного учебного процесса и быта подростков) является мощным стрессорным агентом и патогенетическим фактором риска развития прежде всего сердечно-сосудистых и цереброваскулярных расстройств. Резкое однократное ограничение двигательной активности, не говоря уже о повторных, хроническом ее ограничении, приводит к тяжелым продолжительным поведенческим изменениям. Длительная хроническая гипокинезия в сочетании с большими потоками обрабатываемой информации способствует развитию информационной патологии вегетонейроциркуляторных дистоний и других невротических расстройств. Напряженность иммунологического статуса сочетается со снижением содержания в лимфоцитах окисленных форм пиридиновых нуклеотидов, редокс-потенциала НАД/НАД·Н (маркер дезадаптационных процессов в системе энергообеспечения) и НАДФ/НАДФ·Н (маркер пластического обмена), нарушением корреляции между редокс-потенциалом НАДФ/НАДФ·Н и содержанием IgE. При этом содержание свободного серотонина повышается, а адреналина уменьшается что ведет к резкому снижению отношений [адреналин]/[серотонин] и

[норадреналин]/[адреналин]. Установлено, что степень снижения отношения [адреналин]/[серотонин] коррелирует с частотой возникновения приступов бронхиальной астмы в ночное время. Впервые показано, что при бронхиальной астме у подростков происходит ослабление координации между метаболической системой лимфоцитов и функциональной активностью иммуннокомпетентных клеток. На основании обнаруженного снижения активности ряда митохондриальных оксидоредуктаз у лиц с персистирующей формой бронхиальной астмы и у частоболеющих ОРЗ подростков можно предположить нарушение анаэробных процессов лимфоцитов, стимулировать окислительных реакций. Выявленные нарушения метаболизма лимфоцитов определяют снижение их функции, что приводит к развитию вторичного иммунодефицита и хронизации заболевания.

Практические рекомендации.

Рассматривать комплексное воздействие стрессорного агента или сочетанное воздействие различных стрессорных агентов на организм подростков на систему энергетического обеспечения, состояние симпатно-адреналовой, дофаминергической и серотонинергической и иммунной систем, как единую систему, нарушение в одном звене которой существенно повышает риск образования порочного круга метаболических и нейроциркуляторных нарушений.

Использовать выявленные разнообразные корреляции уровня и обмена нейромедиаторов для ранней диагностики нарушений глубинных нейрохимических процессов у подростков под воздействием различных стрессорных агентов и разработки их рациональной терапии.

Проводить оценку состояния системы энергетического обеспечения, редокс-потенциал, содержание цитохрома с, активностей НАД-*H*-оксидаз для раннего выявления риск-факторов развития иммунодефицитных состояний.

При бронхиальной астме в качестве маркера развития глубоких трудно обратимых изменений считать повышение содержания эндотелина-1 при одновременном снижении содержания адреналина и редокс-потенциала системы энергетического обеспечения.

Использовать апробированный в работе высокоинформативный и легкодоступный тест оценки токсичности действия тяжелых металлов по угнетению окисления *NADH* в качестве тест-системы ранней диагностики нарушения эндоэкологии организма подростка.

Апробация работы. Работа апробировалась на совместном заседании кафедры педиатрии и подростковой медицины Тбилисского государственного медицинского университета и Республиканского научно-исследовательского центра медицинской биофизики и внедрения новых биомедицинских технологий им. Н.В.Карсанова.

Диссертация рекомендована к публичной защите.

Основные результаты работы докладывались и обсуждались на X-XI Всероссийском Национальном конгрессе “Человек и Лекарство”, Москва, 2003, 2004; Third International Conference of Children’s Health and Environment, London, 2004; III Российский конгресс по патофизиологии с международным участием “Дизрегуляционная патология органов и систем”, Москва, 2004; International Symposium “Biological Motility”, Pushino-on Oke, 2004; Всемирном конгрессе аллергологов и иммунологов, Москва, 2004, Тбилиси, 2004; Актуальные вопросы медицины, Кобулеты, 2004; Всероссийский конгресс ”Современные проблемы педиатрии и клинической диагностики в педиатрии”, Москва, 2004

По материалам диссертации опубликовано 18 работ.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, глав, посвященных обзору литературы, описанию методов исследования, изложению результатов и их обсуждению, выводов и списка литературы, **включающего 328 источника.**

Работа изложена на 254 страницах машинописного текста и иллюстрирована 36 рисунками и 22 таблицами.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Физиология ответа на стресс.

Живой организм стремится получить и поддерживать наиболее оптимальные условия своей жизни. Когда условия окружающей среды не оптимальны, индивидуумы приспособляются к существующим обстоятельствам, пытаются уйти к более выгодным условиям. В 1878 г. Бернард первым признал наличие физиологического ответа животных на стимулы окружающей среды, который он назвал "milieu interieur" - внутренней средой. W.B. Cannon (1927, 1932) позже назвал эту концепцию "гомеостаз", в котором динамическое равновесие получается в результате оптимального взаимодействия противодействующих процессов в организме хозяина. Он также идентифицировал рефлекс "борись или беги" у животных, подвергнутых сильному стрессу и потенциально

разрушительные эффекты стресса на индивидуум. Физиологической основой ответа на стресс считалась активация эндокринологических факторов, включающих симпатическую адrenomедулярную ось [Leonrd B.E., 2000]. Когда организму предъявляются чрезмерные требования или угрозы, адаптивный ответ начинает иметь стереотипный неспецифический характер - состояние известное как "стресс" [Селье Г., 1960, 1972, Selye H., 1956, 1976]. Термин стресс исходит из области физики, а в медицинскую науку введен в 1926 г. известным австрийским эндокринологом Ганс Селье. Ганс Селье впервые сформулировал понятие стресса как: "совокупность всех неспецифических изменений, возникающих под влиянием любых сильных воздействий и сопровождающихся перестройкой защитных сил организма или, другими словами, стресс представляет собой неспецифический ответ организма на любое предъявленное ему требование, сумму характерных стереотипных ответных реакций организма на различные воздействия".

Стресс составляет важную часть нашей повседневной жизни. Потенциально же опасным для психического и физического здоровья человека является слишком продолжительный, хронический стресс, который затрудняет адаптацию к постоянно изменяющимся условиям среды обитания. Неспецифический ответ организма на различные экстремальные воздействия, на любые раздражители и что особенно важно не только экстремальные, а и просто новые факторы окружающей среды, не представляющие собой самостоятельного явления и реализуется, как необходимое звено индивидуальной адаптации организма к среде [Selye H., 1956, 1976]. Все эти симптомы Г.Селье назвал общим адаптационным синдромом и включил в него: увеличение и повышение активности коры надпочечников; сморщивание вилочковой железы и лимфатических узлов; появление язвочек желудочно-кишечного тракта.

Г. Селье выделил три фазы "общего синдрома адаптации":

- реакцию тревоги, когда организм готовится к встрече с новой ситуацией;
- фазу сопротивления, когда организм использует свои ресурсы для преодоления стрессовой ситуации;
- фазу истощения, когда резервы организма катастрофически уменьшаются.

Г.Селье впервые обратил внимание на то, что у всех пациентов, страдающих от самых разнообразных недугов имеется ряд общих симптомов. К ним относятся потеря

аппетита, мышечная слабость, тахикардия, тахипноэ, повышение артериального давления, утрата мотивации и многое другое.

Под неспецифичностью стресса понималась относительная независимость реакций от характера стимуляций. В то же время стресс, выступая как неспецифический компонент находится в неразрывном единстве со специфическими реакциями организма на воздействующие агенты. Стресс это всегда реакция целого организма каким бы простым или сложным он ни был и потому в понятие о стрессе как о неспецифических реакциях организма следует включать изменения на всех уровнях – организменном, органном, тканевом, клеточном и молекулярном.

После создания дисциплины нейроэндокринологии, концепция Селье неспецифического ответа была уточнена. Mason [68] показал, что в зависимости от типа стрессорного воздействия, например, голодание и высокотемпературный шок, существенно различается уровень образования кортикостероидов. Таким образом, существует уникальный, но количественно отличающийся, эндокринный ответ на различные физические, химические и психологические стрессоры и что эти ответы изменяются от одной разновидности животных к другой и от одного индивидуума к другому в пределах разновидности.

В настоящее время стресс может быть определен как патологическое или экстремальное регулирование физиологии животного, чтобы справиться с неблагоприятными эффектами окружающей среды. Термин стресс обычно используется, чтобы идентифицировать чрезвычайный ответ на неблагоприятные стимулы, которые причиняют повреждающую патофизиологическую реакцию у хозяина, создают изменения в поведении, физиологии и восприимчивости к болезням [Massey L.J., 1998]. Другие формы стимулов могут придавать силу физиологическим ответам хозяина, без любых неблагоприятных эффектов. Такой ответ называют эустресс - положительный стресс [Kreuz L., 1972; Netterstrom B., Hansen A.M., 2000].

Классифицируя стресс реакции Г.Селье выделял общий и местный адаптационный синдром в зависимости от преобладания общих или локальных неспецифических реакции в единой картине стресса. Разделяют стресс на острый и хронический. Стресс-реакция не только предшествует развитию устойчивой адаптации, но и играет важную роль в ее формировании. Это обеспечивается, во-первых, путем мобилизации энергетических и структурных ресурсов организма и их направленного перераспределения в сторону

преимущественного обеспечения систем, ответственных за адаптацию к данному фактору, а во вторых, путем прямого влияния стрессорных гормонов и медиаторов на метаболизм и функцию клеток-системы или органа-мишени [Абрамова В.В., Маркова Е.В., 2001; Альперович Д.В. и соавт., 1999, Ашмарин И.П., 2001].

Стресс определяется как состояние, в котором мозг интерпретирует количество стимулов как чрезмерное или их качество как угрожающее и отвечает на них генерализованным способом [Базян А.С., 1999; Wilder R.L., 1995]. Биологические, физические или психологические стрессоры ускоряют подобный ответ, названный Г. Селье "общим адаптационным синдромом". Полная свобода от стресса, как считал Г.Селье, означала бы смерть, слабые стрессорные раздражения, являются нормальным явлением в жизни индивидуума и необходимы для ощущения ее полноты. Такой стресс называется эу-стрессом. Однако сам стресс, если он сильно выражен и/или достаточно продолжителен может не только стать патогенетической основой различных болезней, но и привести к смерти.

В течение стресса функциональное состояние сердца и дыхания увеличено, кровоток переадресован, чтобы обеспечить самую высокую перфузию к мозгу и мышечной системе. Мозг сфокусирован на восприятие угрозы и противодействие ей [Гельман В.Я., 1990]. Кроме того, эндокринные программы удовольствия, роста и воспроизводства отключаются (shut down) для экономии энергии. Катаболизм увеличивается и энергия используется главным образом, чтобы снабдить мозг, сердце и мышцы [Кеннон В., 1927; Панин Л.Е., 1963].

Адаптивный или гомеостатический ответ направлен на защиту внутренней среды от изменений, которые подвергают опасности выживание организма [Панин Л.Е., 1963]. Адаптивный ответ на бедственную ситуацию пропорционален интенсивности стимула и лежит в диапазоне от простой ограниченной реакции до генерализованного системного состояния, которое воздействует на весь организм [Селье Г., 1960, 1961, 1979]. По мере формирования устойчивой адаптации к нарушению гомеостаза, составляющего стимул стресс-синдрома, постепенно исчезают, как и сам стресс-синдром, сыграв свою важную роль в становлении адаптации. Это состояние между стрессом (агрессией) и адаптацией служит доказательством того, что стресс сложился в процессе эволюции, как необходимое неспецифическое звено более сложного целостного механизма адаптации. В связи с этим, биологический смысл стрессовой реакции состоит в мобилизации главным образом тех структур функциональной системы, которая обеспечивает принятие решения, и

формирования и формирования многокомплексного эффекторного ответа в целях и выборе оптимального варианта интегральной реакции на ту или иную агрессию (рис. 1).

Метаболические изменения в процессе стресса включают секрецию адреналина и норадреналина мозговым веществом надпочечников и симпатическими нервными окончаниями соответственно. Оба гормона связаны с фазой "дерись или беги" ответа на стресс, описанной Cannon в 1914 г. Когда Г.Селье описал стресс, как неспецифический генерализованный ответ на разнообразные стимулы в 1936 г., важность глюкокортикоидных гормонов коры надпочечников стала очевидной. Г.Селье (1960) указал на надпочечную гипертрофию, тимолимфатическую дистрофию и образование язвы желудка как классическую триаду ответа на стресс.

Гипоталамо-гипофизо-надпочечная ось и симпатoadреналовая система служат периферийными ветвями, через которые мозг воздействует на каждую клетку организма в течение воздействия угрожающих стимулов [Chrousos GP., 1998; Chrousos GP., Gold PW., 1992; Holsboer F., 1995]. Мозг также дифференциально активизирует вагальный и крестцовый парасимпатические эфференты, которые являются медиаторами ответа кишечника на стресс [Goyer A., 1990], кроме того, стресс, как известно, закачивается состоянием иммуносупрессии [Maes M., 1998].

Более детальные исследования показали, что стресс может усиливать гуморальный иммунитет при подавлении клеточного иммунитета. Этот ответ обусловлен дифференциальным эффектом гормонов стресса, глюкокортикоидов и катехоламинов на Т-хелперы-1/Т-хелперы-2 клетки и продукцию различных типов цитокинов [Kiecolt-Glaser J., 1984, 1987, 1989].

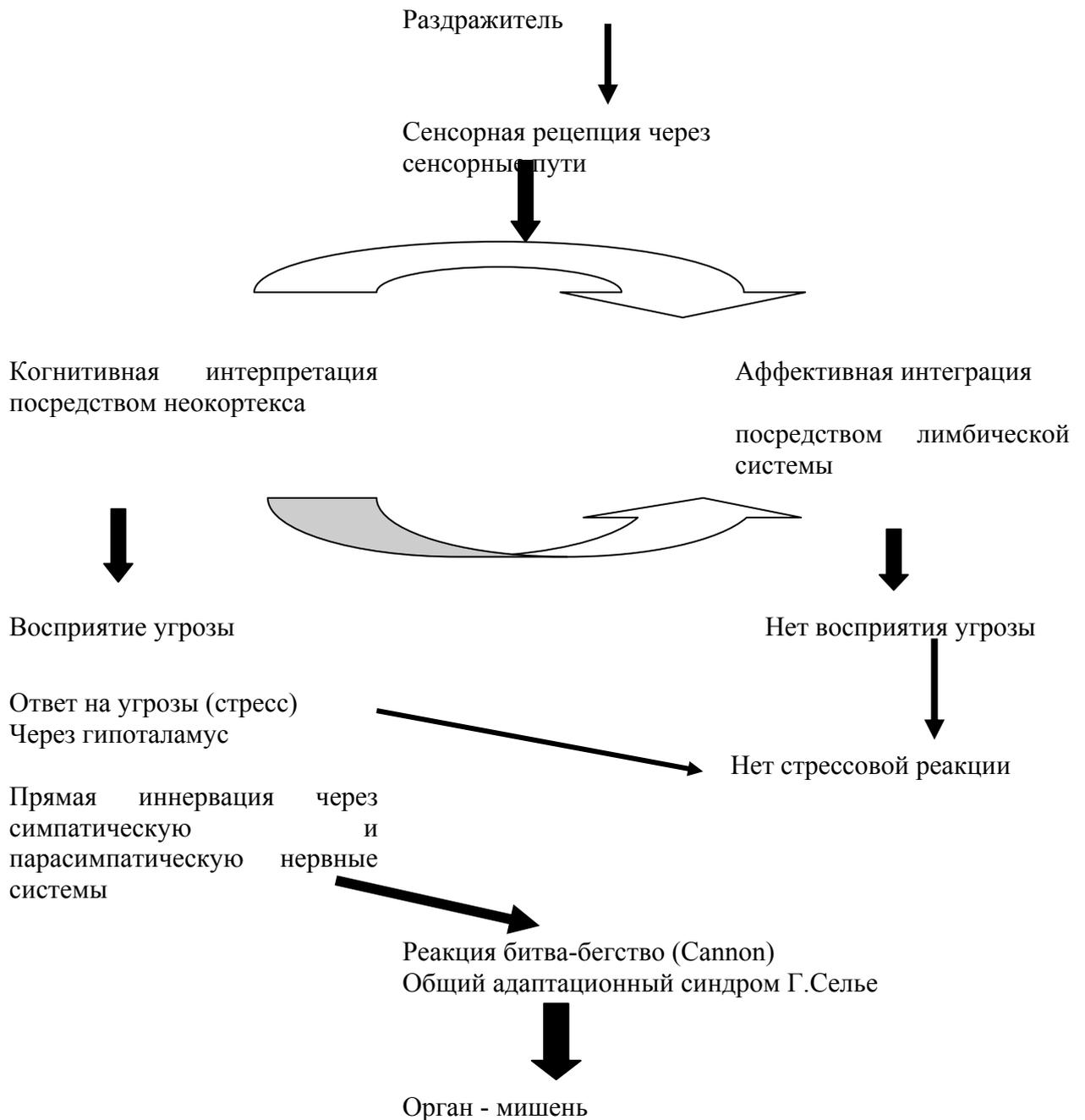


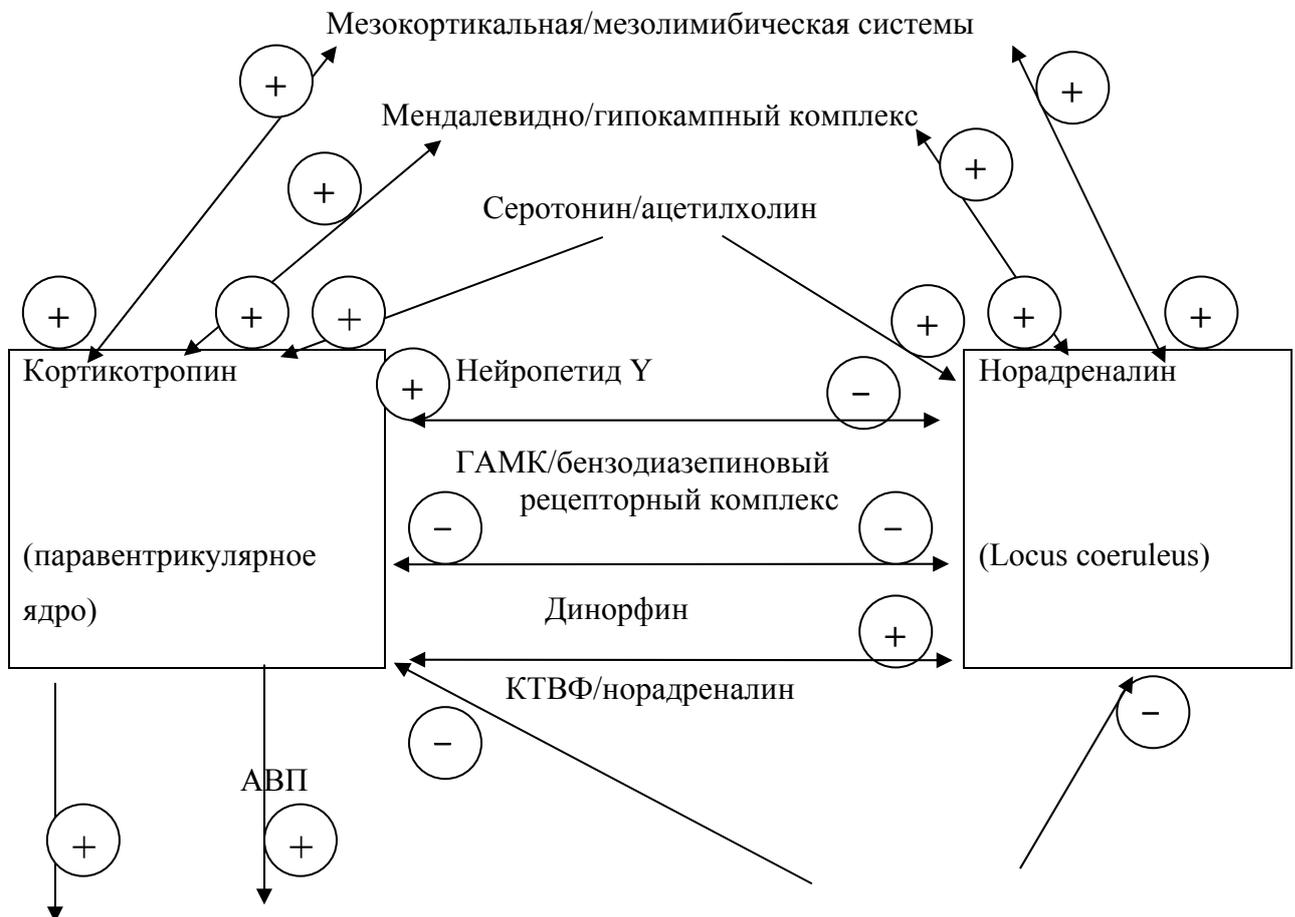
Рис. 1. Вариант ответа на стрессовую ситуацию (агрессию).

Через эти механизмы стресс может влиять на начало или курс инфекционной, аутоиммунной / воспалительной, аллергической и опухолевой болезни [Halvorsen R., Vassend O., 1987; Lovallo W., 1997].

Мозговой цикл инициирует и поддерживает ответ на стресс. Он включает управление центрами вышеупомянутых периферийных исполнительных элементов.

Гипоталамус управляет секрецией проопиомеланокортинов, которые включают аденокортикотропный гормон (АКТГ) и β -эндорфины. АКТГ стимулирует секрецию гормонов коркового вещества надпочечников - глюкокортикоидов, главным образом кортизола у людей и кортикостерона у крыс [Markel A.L., Amstyslavski S.Y., Naumenko E.V., 1987]. Последний играет разрешающую роль в секреции адреналина мозговым веществом надпочечников.

Кроме того, β -эндорфины могут стимулировать мозговое вещество надпочечников к увеличению секреции адреналина [41С]. Система голубоватое место (Locus coeruleus) - норадреналин управляет индуцированной стрессом возбуждением симпатoadреналовой системы. Barrington nucleus, nucleus tractus solitarius и дорсальные двигательные нейроны блуждающего нерва, управляют дифференциальной активацией вагального и сакрального парасимпатического эфферента, которые управляют ответом кишечника на стресс [Healy D., 1997]. Миндалевидное тело, действуя совместно с гиппокампом, anterior cingulate and prefrontal cortices, являются медиаторами сосредоточенной реакции на воспринятую угрозу, аффективной негибкости и поведения, связанного с опасностью [Ашмарин И.П., 2001].



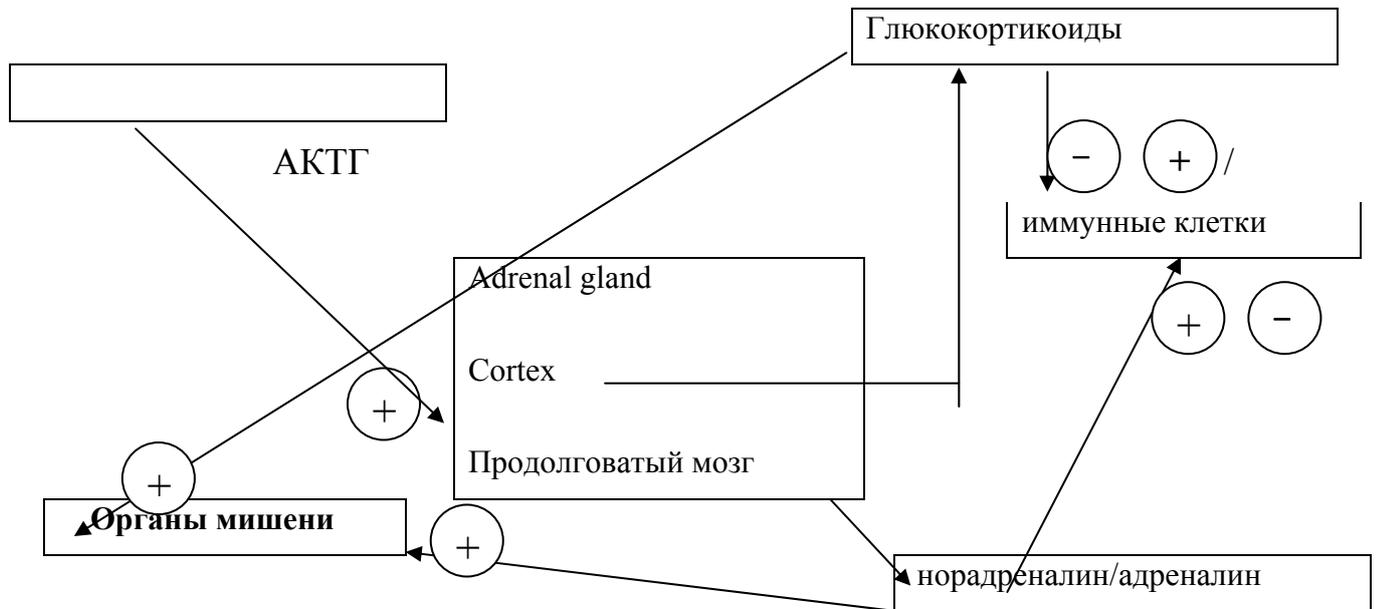


Рис. 2. Схематическое представление центрального и периферического компонента стрессорной системы [В.Е. Leonard, 2000].

+ = активация, - - ингибирование, АКТГ – адренкортикотропный гормон, АВП – аргинин вазопрессин, КТВФ- кортикотропинвысвобождающий фактор

1.1.1. Физиологические механизмы стресса и повреждающая стрессорная ситуация и адаптация к ней.

Многообразные ситуации, вызывающие тяжелый и длительный стресс, чреватый повреждением внутренних органов, в конечном счете, сводятся к конфликту между повелительной потребностью немедленного осуществления оборонительной, пищевой, половой реакций и непреодолимым запретом на них [Fukenstein S., 1957]. В самой элементарной и обнаженной форме этот конфликт воспроизводят, подвергая животных болевому раздражению и одновременно лишая их возможности уйти от боли. Этот конфликт является более сложным, когда человек подвергается воздействиям социальной среды, угрожающим его существованию или достоинства, а ответ на ответную реакцию наложен другими условиями, которые требуют выдержки во избежание еще большей опасности [Кеннон В., 1927].

Чем больше продвинутых специфических событий находится в эволюционной цепи, тем сильнее развит мозг [Орбели Л.А., 1938]. Люди характеризуются самым высоким уровнем вклада мозга в обработку информации, сложными социальными навыками, люди

особенно социальные и оптимальные условия для их функционирования обычно требуют наличия "significant others". Из-за хорошо организованной психики и богатого опыта обучения, тонкие социальные стимулы могут затрагивать их чувство собственного достоинства [Олескин А.В., 1999 а,б]. Специфическая природа вышеупомянутых отношений заставляет мозг воспринимать присутствие "significant others" как стимул безопасности и удовольствия [Ашмарин И.П., 2001; Базян А.С., 1999]. Другая обычная форма психологического стресса связана с угрозой чувства собственного достоинства индивидуума. Такая угроза создает состояние опасения проигрыш окружающей среде. Люди сильно различаются в отношении субъективного восприятия угрозы, и что уязвимость индивидуума к стрессу определяется балансом между двумя различными силами, а именно, стрессом и гибкостью. Генетические факторы и влияние окружающей среды, особенно в критические периоды развития, вносят вклад в психологические характеристики каждого индивидуума [Буреш Л., Бурешова О., Хьюстон Дж., 1991; Вельтищев Ю.Е., Фокеева В.В., 2001; Гельман В.Я., Кременевская С.И., 1990].

Эмоции регулируются лимбической системой. В этом регулировании участвуют сенсорные таламические ядра, базолатеральное и миндалевидное тело, голубоватое место, гиппокамп и гипоталамус. Этот же комплекс структур головного мозга участвует в стрессовом нейроцикле, что может объяснить, почему эмоциональные угрозы, особенно эффективны в мобилизации системы ответа на стресс у людей [Судаков К.В., 1981].

Некоторые факторы, которые определяют ответ индивидуума на стресс, предполагается могут быть унаследованы количественной генетикой человеческого поведения [Спицын В.А., 1991]. По некоторым оценкам, приблизительно от половины до двух третей различий в чертах индивидуальности, определяются генетическими факторами. Генетический полиморфизм и клинически существенные изменения экспрессии генов вовлечены в регулирование системы ответа на стресс. Существенное количество различий ответа на стресс зависит от окружающей среды, включая события в ранней жизни и более поздние события с переменными или постоянными эффектами. Младенчество, детство и юность - периоды увеличенной мозговой пластичности. Патологическая активация системы ответа на стресс в течение этих критических периодов может иметь глубокий эффект на ее функцию, приводя к предрасположению к патологическим состояниям [Симонов П.В., 1987]. В этих стадиях развития, психосоциальные травмы приводят в движение каскад ментальных изменений, которые часто заканчиваются отдаленной предрасположенностью к беспокойству, депрессии или к другим связанным со стрессом болезням [Healy D., 1997; Leonard L.E., 1989]. Несмотря на

слабую изученность этого явления, в нескольких исследованиях была показана связь между активностью гипоталамо-гипофизарной осью и беспокойством и настроением [Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С., 1998].

Выдержка, действительно, оказывается обеспеченной путем критического напряжения механизмов коркового торможения, но при этом заторможенным или видоизмененным оказывается только внешний поведенческий компонент реакций. Ее внутренний вегетативный компонент, стресс-реакция мобилизация функций кровообращения, дыхания и т.д. сохраняется и даже может оказаться более интенсивной и длительной, чем при осуществлении самой поведенческой реакций. Эта ситуация, рассмотрена в трудах И.П. Павлова (1952), Г.Ф.Ланга (1948, 1950), П.К.Анохина (1948) и других исследователей, должна характеризоваться, в частности тем, что усиленная стресс-реакция проявляется длительным и значительным повышением концентраций катехоламинов и глюкокортикоидов в крови.

Ответ нёйроэндокринной системы, выделение медиаторных соединений и последующее нарушение клеточного и внеклеточного метаболизма зависят от объема, продолжительности и характера повреждающего стрессора. Хотя точное взаимодействие ответов на повреждение до настоящего времени полностью не изучено, возможные их паттерны известны. Эти паттерны отмечаются внутри подсистем, включающих в себя ось «гипоталамус—гипофиз», вегетативную (или автономную) нервную систему, классические гормоны, медиаторные соединения с местным (пара-кринным) и общим (эндокринным) действием, продукты метаболизма эндотелиоцитов и внутриклеточные молекулярные шапероны.

Cuthbertson и соавт. (2002) выделили во времени две фазы повреждения метаболических ответов больных на повреждение, фазы отлива и прилива (рис. 3).

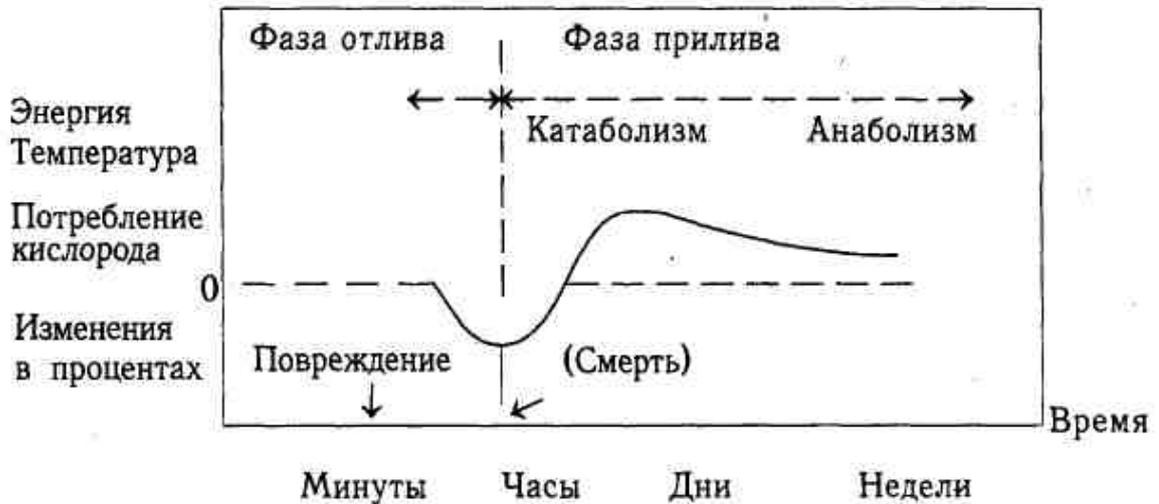


Рис. 3. Фазы отлива и прилива ответа на повреждение (Cuthbertson в модификации Moore)

Фаза отлива соответствует немедленным последствиям повреждения, которые уменьшают энергетические затраты в покое. В фазу отлива отмечаются уменьшение объема циркулирующей крови (например, при кровотечении), объема циркулирующей плазмы (например, при ожоговой болезни) и/или потеря эффективного циркулирующего объема (например, потери в так называемое третье пространство, возникающие в результате травмирования ткани). Эти изменения могут вызвать секвестрирование клеток крови или шок. Снижение сосудистого сопротивления воспринимается барорецепторами и рецепторами, реагирующими на растяжение, и стимулирует нервные рефлексы через симпатическую нервную систему, а также активирует выделение катехоламинов, аргинин-вазопрессина и ангиотензина II. Выделение гормонов модулируется рядом соединений (табл. 1).

Таблица 1. Нейроэндокринные ответы на повреждение

Выделение гормонов усилено		Выделение гормонов снижено или не изменено
Эпинефрин	В-Эндорфин	Инсулин
Норэпинефрин	Гормон роста	Эстрогены
Дофамин	Пролактин	Тестостерон

Цлюкагон	Соматостатин	Тироксин
Ренин	Эйкозаноиды	Трийодтиронин
Ангиотензин II	Гистамин	Тиреотропный гормон
АКТГ	Кинины	Фолликулостимулирующий гормон
Кортизол	Серотонин	Лютеинизирующий гормон
Альдостерон	Интерлейкин-1	
Аргинин-вазопрессин	Фактор некроза опухолей	Инсулиноподобный фактор роста

Фаза прилива соответствует периоду компенсации с увеличением скорости обменных процессов и активности ферментов, направленной на продукцию глюкозы и соответственно на восстановление объема циркулирующей крови, стимуляцию иммунной системы и продукцию печеночных острофазовых белков и внутриклеточных молекулярных шаперонов, называемых белками теплового шока. Позже, если компенсаторные реакции возобладают, энергетические затраты уменьшаются, а обмен в дальнейшем приобретает анаболическую направленность. Заживление ран, рост вновь образованных капилляров, перестройка ткани и восстановление утраченной функции происходят в течение длительного временного промежутка.

В ходе такого моделирования выяснилось, что степень стресс-реакций и возникающих повреждений существенно возрастает, если на основной элементарный конфликт наслаиваются дополнительные воздействия, усиливающие активацию аппарата эмоций [Селье Г., 1979]. Дополнительными воздействиями являются сигналы, заранее уведомляющие о неизбежном болевом ударе, нанесении ударов через случайные не слишком короткие промежутки времени, порождающие ожидание боли, сопряженное с тревогой и страхом [Судаков К.В., 1998]. Аналогичное значение имеет введение, помимо основного «конфликта», дополнительных: нанесение боли в ответ на выработанную пищевую реакцию или в ответ на реакцию, при помощи которой животному раньше удавалось уйти от опасности. По крайней мере, два эмоциональных фактора тревожное ожидание, вызванное предупреждением о боли, и конфликт между безусловными рефлексами или между прежним опытом и реальностью резко усиливают стресс-реакцию в создаваемых экспериментально безвыходных ситуациях и отягощают повреждающее действие стресса. Нетрудно заметить, что аналогичные факторы могут играть роль в

сложных социальных коллизиях, вызывающих стресс-синдром и стрессорные заболевания у человека [Олескин А.В., 1999].

Большая роль в стресс-реализующих системах и в развитии стрессорных повреждений принадлежит адренергической регуляции (рис. 4). Показано, что в динамике развития реакций адренергической и гипофизарно-адреналовой системы на стресс обнаруживается три периода [Малышев В. В. и др., 1982 а]. В первый период с момента начала эмоционально-болевого воздействия и на протяжении 36-39 ч после его окончания, в 34 раза повышается концентрация кортикостерона в плазме крови и органах, в 1,52 раза снижается в сердце и надпочечниках содержание катехоламинов, угнетается в этих органах синтез и нейрональный захват меченого норадреналина, развивается выраженная эозинопения. Во второй период через 39-45 ч после окончания действия стрессорного фактора, в плазме крови, в органах резко снижается концентрация кортикостерона и развивается эозинофилия. В третьем периоде на протяжении последующих 67 суток, показатели функционального состояния адренергической и гипофизарно-адреналовой систем постепенно приближаются к исходным.

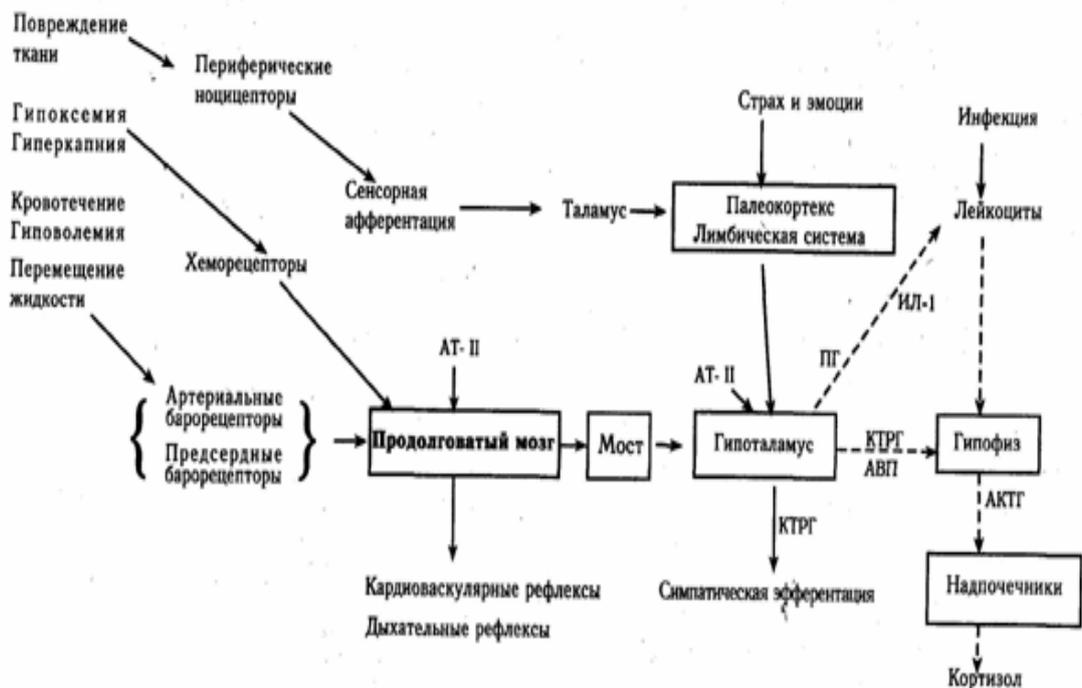


Рис. 4. Нейроэндокринная регуляция

Под влиянием этого эмоционально-болевого воздействия возникают постепенно прогрессирующие и продолжающиеся после завершения воздействия активация перекисного окисления липидов (ПОЛ), снижение содержания гликогена в миокарде, разобщение процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях, выделенных из сердечной мышцы. Наиболее глубокие нарушения функции митохондрий сердца в виде снижения интенсивности дыхания и фосфорилирования развиваются к 45 ч после окончания стрессорного воздействия, совпадают с пиком эозинопении, завершающимся эозинофилией [Astoria M., 1984; McEwen B., 1999].

1.2. Системы, вовлеченные в реализацию стрессорных реакций.

1.2.1. Центральная нервная система

В настоящее время можно считать установленной роль центральной нервной системы (ЦНС) в качестве основного регулятора и интегратора стрессорных реакций. Информация с ЦНС может поступать по специфическим афферентным путям от экстеро- и интерорецепторов или гуморальным путем через соответствующие рецепторы, локализованные в нейронах. Действительно, при стрессе в ЦНС, органах и тканях млекопитающих происходит целый ряд изменений, помогающих выжить как данному субъекту, так и виду в целом [Селье Г., 1972]. Наблюдается мобилизация тех поведенческих реакций и функций, которые позволяют организму быстрее адаптироваться к неблагоприятным условиям; "лишние" в этот период поведенческие реакции и функции, обеспечивающие размножение, питание и рост организма, подавляются.

Симпатическая иннервация периферийных органов происходит из эфферентных преганглионарных волокон, которые оканчиваются в ганглиях, где образуют синапсы с постганглионарными нейронами и иннервируют гладкие мышцы сосудистой сети, сердечные, скелетные мышцы, почки, кишечник, и многие другие органы. Преганглионарные нейроны являются холинергическими, принимая во внимание, что постганглионарные нейроны - главным образом адренергические.

Гормональный ответ возникает на уровне организма и зависит от рефлексов, возникновение которых опосредовано афферентными нервами. Хотя возникновение рефлекса, направленного на активацию симпатической нервной системы, может

отмечаться на уровне продолговатого или спинного мозга, полагают, что для этого требуется координация со стороны гипоталамуса, подобная той, которая имеет место при контроле за секрецией гормонов передней долей гипофиза. Точный путь прохождения сигнала от афферентных нервных окончаний к гипоталамусу был детально прослежен первоначально в отношении АКТГ и в меньшей степени для вазопрессина и катехоламинов (рис. 5). Другие ядра гипоталамуса играют центральную роль в возникновении этих рефлексов за счет контролирующих рилизинг-факторов, которые управляют секрецией различных гормонов передней долей гипофиза или деятельностью вегетативной нервной системы [Шаляпина В. Г., 1976, 1996].

Нейротрансмиттеры воздействуют на клетку через связанные с мембраной регулируемые лигандами ворота ионных каналов. Стероиды и трийодтиронин (T_3) связываются с цитозольными рецепторами, которые распадаются от белков теплового шока, переносятся в ядро и вызывают специфическую генную транскрипцию. Механизм трансдукции сигнала для интерлейкинов в настоящее время недостаточно ясен. Симпатическая система также вносит вклад в циркуляцию адреналина и части норадреналина от мозгового вещества надпочечников [Кассиль Г.И., Матлина Э.М., 1973]. Э.Гельгорном (19) и Г.И.Кассилем было установлено, что параллельно с симпато-адреналовой активируется и ваго-инсулярная система, которая в определенном смысле является антиподом первой. При активации симпато-адреналовой системы (САС) повышается реактивность (готовность к действию) всей симпатической системы (чувствительных, двигательных, психических компонентов) – эту реакцию принято называть эрготропной.

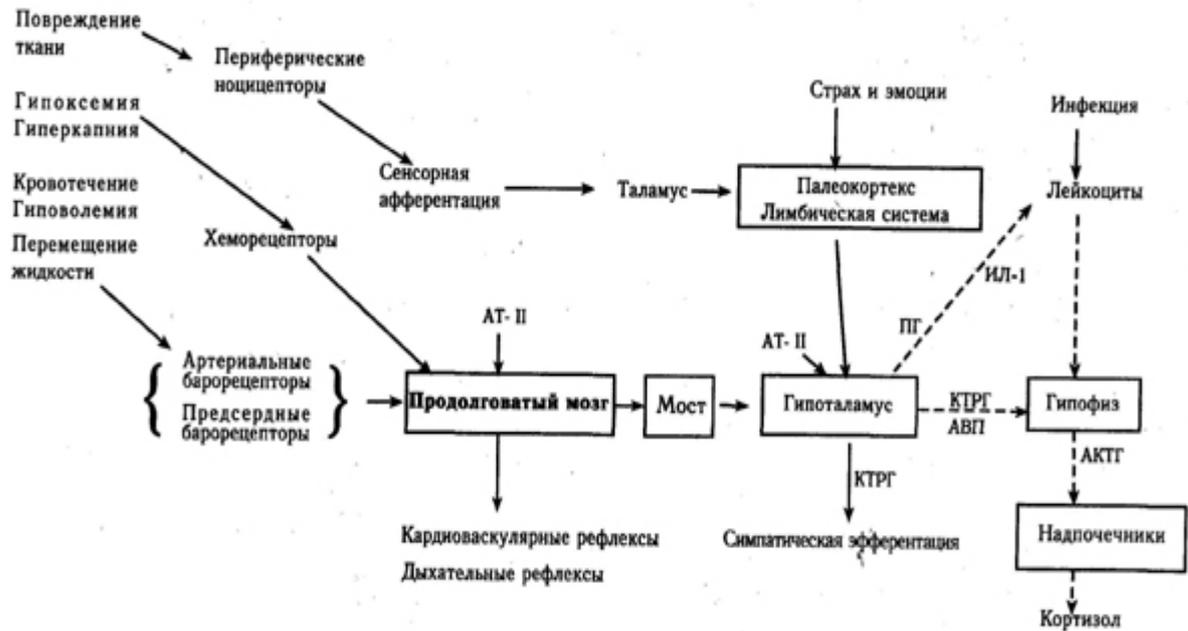


Рис. 5. Схематическая диаграмма гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, показывающая основные афферентные сигналы пути прохождения сигнала и места модуляции и взаимодействия. Обозначения: *А Т-II* — ангиотензин II, *ПГ* — простагландины *ИЛ-1* — интерлейкин-1, *КТРГ* — кортикотропный рилизинг-гормон, *АВП* — аргинин-вазопрессин, *АКТГ* — адренокортикотропный гормон (Lilly M. P., Gann D.S. // Arch. Surgery. 2000) "

Активация ваго-инсулярной системы проявляется в торможении, замедлении, нормализации функции – трофотропная реакция. Эрго- и трофотропные функции, действуют в организме как синергично, так и антагонистически в зависимости от количества выделившихся медиаторов. Кроме классических нейромедиаторов ацетилхолина и норадреналина, симпатический и парасимпатический отдел вегетативной нервной системы включают несколько субпопуляций target-selective и нейрохимически кодированных нейронов, которые экспрессируют разнообразные нейропептиды и, в некоторых случаях, АТР, окись азота или липидные медиаторы воспаления. кортикотропин, нейропептид Y (NPY) и соматостатин обнаружены в постганглионарных норадренергических вазоконстрикторных нейронах. Трансмиттеры в симпатических ганглиях также модулируется нейропептидами, произведенными преганглионарными волокнами и вставочными нейронами, также как и первичными афферентными коллатеральными нервами [Nagatsu T., et al., 1984]. Показано, что серотонин, гамма аминокислотная кислота (ГАМК), опиоидные пептиды, дофамин могут выполнять стресс-

лимитирующие функции, взаимодействуя со стресс-реализирующими системами [Меерсон Ф.З., 1986].

Регулируя, направляя или перераспределяя поток энергии в организме, гормоны стресса осуществляют неспецифическую функцию, на основании которых строятся новые специфические механизмы адаптации, обеспечивая развитие резистентности на новом уровне. Неспецифическая активация мозга распространяется на нейроэндокринные образования гипоталамуса, в которых происходит переключение возбуждения с нервного на эндокринный путь (аденогипофиз).

Образование новой адаптивной системы происходит при обязательной перестройке работы генетического аппарата клетки, так как необходимо чтобы в клетках и органах, образующих такую систему, возникли структурные изменения, фиксирующие систему и увеличивающие ее физиологическую мощность [Ely D., et al., 1996; Kvetnansky R., et al., 1996]. Через взаимосвязь между интенсивностью воздействия внешних факторов и активностью генетического аппарата осуществляется увеличение синтеза нуклеиновых кислот и белков, происходит формирование структурного следа в системах, специфически ответственных за адаптацию организма к данному конкретному фактору среды.

1.2.1.1. Нейроэндокринный контроль ответа на стресс

Характерные процессы ответа на стресс включают мобилизацию запасенной энергии с ингибированием последующего хранения энергии и глюконеогенеза, обостренное, сосредоточенное внимание на воспринятую угрозу, увеличение мозговой перфузии и использование глюкозы мозгом, увеличение активности сердечно-сосудистой системы и дыхания, увеличение доставки субстратов энергии к мышцам, ингибирование репродуктивной физиологии и поведения, модуляция иммунной функции и уменьшение аппетита. Организованное взаимодействие нескольких нейротрансмиттерных систем в мозге лежит в основе фенологии поведенческих, эндокринных, висцеральных, вегетативных и иммунных ответов. Эти трансммиттеры включают кортикотропин-высвобождающий гормон, вазопрессин, опиодные пептиды, дофамин и норадреналин. Синтез аминов, выполняющих медиаторную функцию связан с определенными структурными образованиями, расположенными от каудальной части продолговатого мозга до ростральных ядер гипоталамуса, а аксоны распределяют окончания во всех отделах ЦНС. Вне мозга, наблюдается увеличение секреции гипофизом пролактина и

панкреатическая секреция глюкагона. Кроме того, имеется глобальное снижение синтеза нейропептида Υ в мозге и уменьшение гипоталамного производства гонадотропинвысвобождающего гормона, сопровождаемое уменьшением секреции гонадотропинов гипофиза.

Действуя наряду с механизмами возбуждения центральных и периферических отделов нервной системы, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система участвует в обеспечении адаптивной реакции организма на стресс (рис. 6). Во время стресса весь этот комплекс активируется, в результате чего возникает клиническая картина синдрома, который Ганс Селье назвал стрессовым [Chrousos G.P., Gold P.W., 1992]. Показано, что кортикотропинвысвобождающий гормон вовлечен в механизм ответа на стресс, возбуждение (состояние настороженности и повышенного отклика на внешние раздражители) и вегетативную активацию [Ely D., et al., 1996]. Некоторые из ядер гипоталамуса содержат клетки, высвобождающие кортикотропный гормон, включая преоптическую область, дорсомедиальное ядро, дугообразное ядро, задний гипоталамус и мамиллярное ядро, в миндалевидном теле, *substantia innominata* и *bed nucleus of the stria terminalis* и являются вовлеченными в координацию вегетативной деятельности. Паравентрикулярное ядро гипоталамуса содержит большинство клеток, которые стимулируют секрецию АКТГ гипофиза. Основные регуляторы активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси на молекулярном уровне — кортикотропин-рилизинг-гормон (КТРГ, или кортиколиберин — пептид, состоящий из 41 аминокислоты) и аргинин-вазопрессин (или антидиуретический гормон — пептид, состоящий из 9 аминокислот), которые вырабатываются мелкими нейросекреторными клетками паравентрикулярного ядра гипоталамуса и попадают затем в портальную систему гипофиза [Cuthbertson, 2002]. Там они оказывают синергическое стимулирующее влияние на секрецию АКТГ, усиливая тем самым секрецию кортизола в коре надпочечников. Норадренергические нейроны ствола головного мозга (*locus ceruleus*, или голубоватое место), регулирующие механизмы возбуждения в ЦНС и симпатико-адреномедуллярную систему в целом, имеют реципрокные связи (обеспечивающие взаимную иннервацию и стимуляцию) с мелкими нейросекреторными клетками гипоталамуса, вырабатывающими КТРГ, и нейронами паравентрикулярного ядра, секретирующими аргинин-вазопрессин.

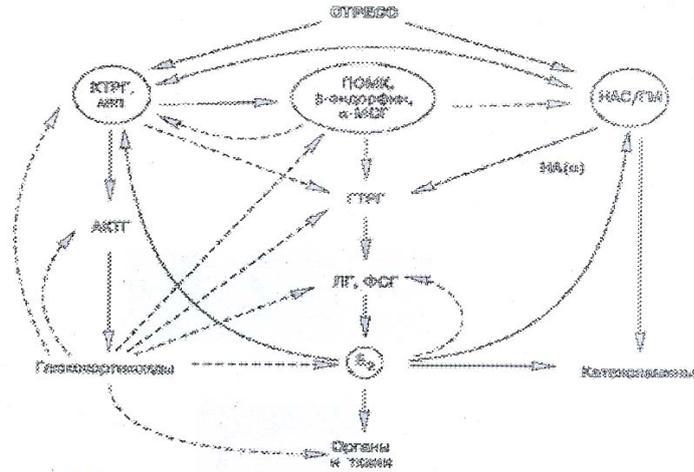


Рис. 6. Механизмы взаимодействия репродуктивной системы с гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системой (ГГНС) и норадренергической системой голубоватого места (НАС/ГМ) при стрессе.

Таблица 2. Возможные патогенные влияния кортикотропин-рилизинг-гормона (КТРГ), секретируемого в центральной нервной системе и в периферических органах и тканях

Изменения уровня КТРГ	Заболевания или функциональные расстройства
КТРГ, секретируемый в центральной нервной системе Повышенная секреция	Психические нарушения, связанные с гиперкортицизмом Меланхолическая депрессия Расстройства аппетита Хронический алкоголизм Синдром хронического физического перенапряжения Соматические нарушения, связанные с гиперкортицизмом Остеопороз Избыточное отложение висцерального жира Бесплодие
Пониженная секреция	Атипичная депрессия Сезонные аффективные расстройства Ревматоидный артрит Послеродовые дистимии, депрессии и аутоиммунные заболевания Предменструальный синдром Климактерическая депрессия
КТРГ, секретируемый в периферических органах и тканях Повышенная секреция «иммунного» КТРГ	Усиление физиологических асептических воспалительных реакций
Повышенная секреция плацентарного КТРГ	Преждевременные роды
Пониженная секреция плацентарного КТРГ	Перенашивание беременности
Пониженная секреция КТРГ в яичниках	Дисфункция яичников Ановуляторные циклы Дисфункция желтого тела
Повышенная секреция КТРГ в яичниках	Ранняя менопауза
Пониженная секреция в эндометрии	Бесплодие Ранний самопроизвольный выкидыш

Эти нейроны находятся в парвоцеллюлярной области паравентрикулярного ядра и нервные аксоны этих нейронов достигают срединного возвышения. КТРГ также обнаружен в небольшой группе нейронов паравентрикулярного ядра, которые находятся в

стволе мозга и спинном мозге. Эти нейроны вовлечены в регулирование функции вегетативной нервной системы [Ely D., et al., 1996].

Стресс - мощный активатор производства КТРГ гипоталамусом и внегипоталамическими областями [Kvetnansky R., et al., 1996]. Механизмы, посредством которых стресс стимулирует КТРГ нейроны, неясны. Участвует ли в этом процессе кортикотропин или другой трансмисмиттер (например, норадреналин) пока не установлено. Участки закрепления КТРГ найдены в аденогипофизе, во всем мозге и на различных периферийных участках, типа мозгового вещества надпочечников, предстательной железы, кишечника, селезенки, печени, почек и тестикул. КТРГ действует на мозг, чтобы активизировать симпатическую нервную систему с последующим возбуждением секреции адреналина мозговым веществом надпочечников и норадренергического оттока к сердцу и почкам [Seymour M., Antelman M., Lowis A.C., 1984]. Другие последствия действия кортикотропинвысвобождающий гормон включают увеличение среднего артериального давления и частоты сердечных сокращений. При этом КТРГ ингибирует парасимпатическую сердечную активность, вызывает периферическую вазодилацию и гипотензию [Панин Л.Е., 1963]. Физиологическая роль КТРГ в регулировании вегетативной нервной системы поддерживается данными, демонстрирующими эффект антагонистов рецепторов КТРГ на уменьшение индуцированной стрессом секреции адреналина [Тигранян Р.А., 1988]. Рецепторы КТРГ принадлежат к группе с семью трансмембранными фрагментами, в которых закрепление КТРГ стимулирует внутриклеточное накопление цАМФ. Большинство вышеупомянутых эффектов КТРГ может быть блокировано введением антагонистов гормона, что поддерживает гипотезу, что это поведение имеет специфическую связь с рецепторами КТРГ [Theoharides T.C., et al, 1998]. Кроме того, антагонисты рецепторов КТРГ уменьшают многие из поведенческих последствий стресса, что подчеркивает медиаторную роль эндогенных пептидов во многих связанных с ответом на стресс поведенческих нарушениях [Судаков К.В., 1998].

Механизмы, которые включают и выключают ответ на стресс неясны. Однако, имеется разрозненная информация относительно управления секреции КТРГ другими трансмисмиттерными системами. Антагонисты гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и бензодиазепин имеют подавляющий эффект на нейроны КТРГ, принимая во внимание, что холинергические и серотонинергические нейроны стимулируют синтез КТРГ. Норадреналин и опиодные пептиды имеют стимулирующие и подавляющие эффекты на производство КТРГ в зависимости от дозы и вовлеченного подтипа рецептора. Глюкокортикоиды - мощные ингибиторы синтеза КТРГ, что установлено непосредственно на уровне паравентрикулярного ядра гипоталамуса, а также косвенно,

через действие на рецепторы, КТРГ в гиппокампе [McEwen B. S., 1991]. Глюкокортикоиды проявляют стимулирующую роль на нейроны КТРГ в миндалевидном теле и, возможно, в системе голубоватое место - норадреналин [Meagher LC, Cousin JM, Seckl JR, Haslett C., 1996]. Последний эффект может иметь фундаментальное значение в пролонгировании эффектов тяжелого стресса, создавая петлю положительной обратной связи между системами норадреналином и КТРГ (рис. 7).

При нормальном состоянии, имеется баланс между пептидами КТРГ и плотностью рецепторов КТРГ. Стресс или адреналэктомия приводят к гиперсекреции КТРГ и последовательного уменьшения рецепторов в аденогипофизе. Аналогично, хроническое введение кортикостерона вызывает дозозависимое уменьшение числа рецепторов КТРГ в аденогипофизе. Напротив, повреждение паравентрикулярного ядра, приводит к сильному сокращению гипоталамной секреции КТРГ и увеличивает плотность рецепторов КТРГ в гипофизе [18]. Эффекты КТРГ и продуктов гипофиз-надпочечной активации рецепторов мозга, ответственных за поведенческие и вегетативные аспекты, могут быть различны [42].

При тяжелых травмах, когда уровень глюкозы в крови замет но повышается в результате развития резистентности к инсулину клеток-мишеней и с избыточным выделением катехоламинов. Когда восстанавливается анаболизм, резистентность к инсулину снижается и обмен глюкозы нормализуется. Метаболизм белков в организме при повреждении проявляется первоначально в снижении мышечной массы. Обмен веществ осуществляется между скелетными мышцами, печенью и раной. Исследования последних лет показали важную роль кишечника в этом обмене (рис. 7). Скелеты аминокислот поступают по шунтам в печень для синтеза глюкозы и острофазовых белков. Когда скелеты аминокислот расщепляются для других нужд, кроме синтеза белков, в качестве побочного продукта выделяется азот. Поэтому повышение экскреции азота с мочой является отражением процессов катаболизма в скелетных мышцах. Потеря азота с мочой после травмы коррелирует с обширностью травмы. Если в норме за сутки с мочой выделяется около 13 г азота, то после травмы, этот показатель может возрасти до 50 г. Это

приблизительно соответствует потере 300 г мышечной массы в сутки. Глутамин используется преимущественно при катаболических состояниях. Неспособность организма обеспечить в крови высокую концентрацию глутамина в этих условиях играет роль в патогенезе бактериальной транслокации и синдрома полиорганной недостаточности. Баланс между поступлением азота в организм и его потерей в норме, в отсутствие стресса, слабopоложителен. Экзогенное поступление с пищей энергетических субстратов и белков ускоряет репарацию повреждения. Для заживления раны, кроме того, требуются витамины А и С в сочетании с цинком, тиаминoм и рибофлавином.

Потеря жидкости и электролитов в конечном итоге восполняется за счет почечных механизмов. Первоначальное снижение почечного кровотока ведет к усиленному всасыванию NaCl и воды. Изменения секреции альдостерона и ренина вызывают резорбцию воды и NaCl в состоянии изотонии. Развитие в послеоперационном периоде гипонатриемии обычно связано с введением гипотонических растворов.

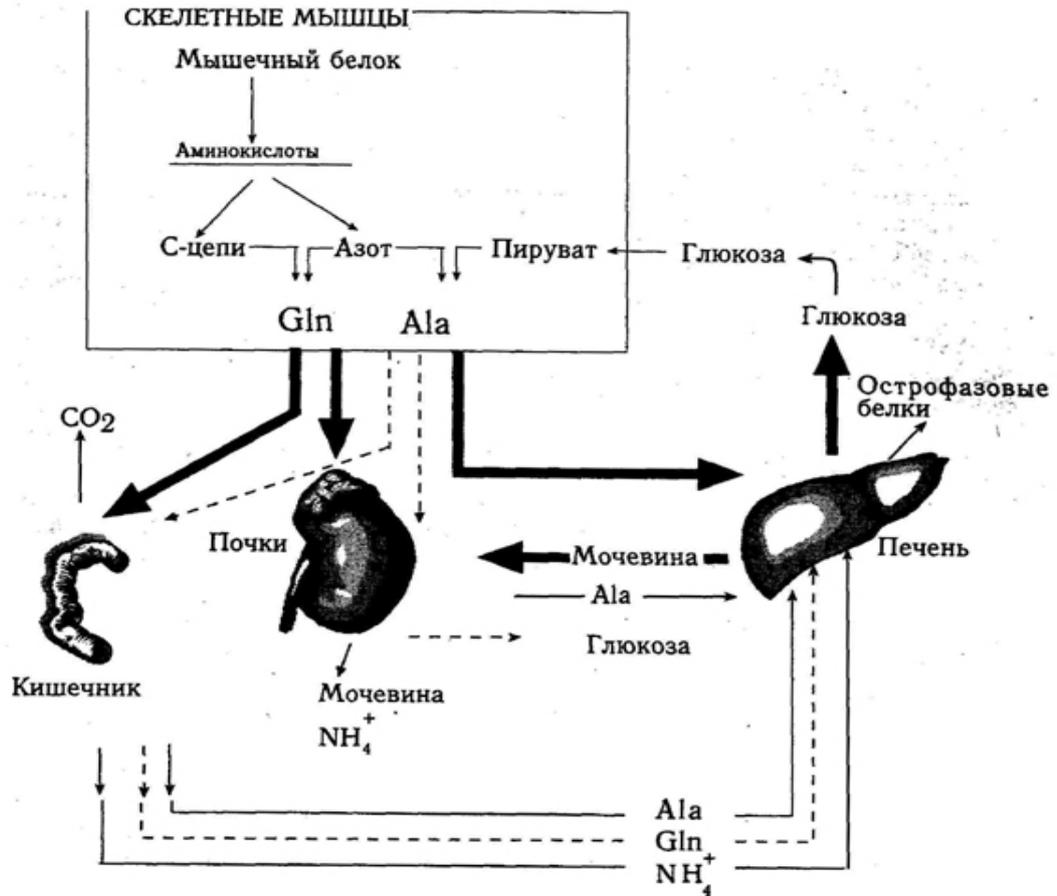


Рис. 7. При катаболическом состоянии изменения обмена веществ заключаются в увеличении протеолиза в скелетных мышцах, приводя к увеличению в основном продукции аланина (*Ala*) и глутамина (*Gln*). Потребление этих двух аминокислот внутренними органами сопровождается выработкой мочевины, аммиака и потерей азота [Souba W. W., Smith R. }, Штате D. W. I., 1985]

1.2.1.2. Система голубоватое место – норадреналин.

Голубоватое место и другие норадренергические группы клеток известны как система голубоватое место - норадреналин. Эта система, как полагают, вносит большую часть норадреналина в мозг, поскольку плазменный норадреналин не может пересечь гематоэнцефалический барьер. Мозговой норадреналин служит глобальной, чрезвычайной сигнальной системой, которая ведет к уменьшению нейровегетативных функций - еды и сна [Belova T.I., Kvetnasky R., 1984; Sudakov K.V. et al., 1980]. Норадреналин также вносит вклад в усиление в нейроэндокринного ответа на стресс, включая активацию гипоталамо-гипофизарной оси, также он активизирует миндалевидное тело, мозговой локус,

связанный с поведением при опасности. Кроме того, производство норадреналина в течение стресса ингибирует medial prefrontal cortex и, таким образом, может влиять на две его ключевые функции (изменение настроения от одного состояния до другого, основанное на внутренних и внешних стимулах и генерация нового сложного поведения) [19, 34]. Норадреналин, обеспечивая отдаленное хранение эмоциональных воспоминаний в участках типа гиппокампа и полосатого тела, может вносить вклад в последующую уязвимость к стрессу у некоторых субъектов, облегчая вызов воспоминаний о травмирующих ситуациях [13, 35, 36, 52].

Взаимные невральные связи существуют между паравентрикулярным ядром и КТРГ и норадренергическими нейронами ствола мозга центральной системы ответа на стресс с КТРГ и норадреналином, стимулирующими друг друга, прежде всего через α_1 -норадренергические рецепторы. Саморегулирующиеся ультракороткие петли отрицательной обратной связи, также присутствующие в паравентрикулярное ядро КТРГ и норадренергических нейронах ствола мозга, вместе с коллатеральными волокнами ингибируют секрецию КТРГ и катехоламинов соответственно, посредством пресинаптических рецепторов КТРГ и α_2 -норадренергических рецепторов КТРГ и катехоламинергические нейроны стимулируются серотонинергической и холинергической системами и ингибируется γ -аминомасляной кислотой/ бензодиазепином и опиоидными пептидами нейронной системы мозга [14,18].

1.2.1.3. Система аргинин-вазопрессин.

Аргинин-вазопрессин парвоцеллюлярные нейроны паравентрикулярного ядра гипоталамуса играют важную роль в ответе на большинство видов стресса. Кроме дополнительной роли сохранения жидкости в организме и управления осмоляльностью плазмы, паравентрикулярное ядро, вазопрессин служат альтернативным гипоталамным средством усиления секреции АКТГ. Вазопрессин и КТРГ имеют синергическое действие в течение стресса, чтобы стимулировать секрецию избыточного количества АКТГ [60]. Аргинин-вазопрессин производится аксонами срединного возвышения и через порталную систему достигает клеток аденогипофиза. В течение гиповолемического стресса, вазопрессин становится основным средством, усиливающим секрецию АКТГ (рис. 8). Кроме того, в течение хронического или длительного стресса, могут наблюдаться

изменения управления секрецией АКТГ от вазопрессина и КТРГ, ангиотензин-II, аргинин-вазопрессин, пептид, вызывавший дельта-сон, вещество П, β -эндорфин и другие олигопептиды при введении кроликам в боковые желудочки мозга подавляли оборонительные и пищевые мотивации [Судаков К.В., 1988]. Вазопрессин и окситоцин, как показал С.К.Судаков (1987), определяют доминирование оборонительной мотивации. Содержание олигопептидов, таких как вещество П, пептида, вызывавшего дельта-сон, ангиотензина-II и других в гипоталамусе определяет устойчивость животных к эмоциональному стрессу [Судаков К.В., 1998] и к формированию алкогольной мотивации [Судаков К.В., 1994].

В дополнение к эндокринной и метаболической роли, вазопрессин участвует в некоторых поведенческих ответах на стресс. Интрацеребровентрикулярное введение доз вазопрессина в несколько пикограмм, стимулирует длительное облегчение у крыс. Было предположено, что вазопрессин играет определенную роль в управлении мужской агрессией [32].

1.2.1.4. **Нейропептид Y**

Нейропептид Y является важным нейромодулятором, который воздействует на поведение, секрецию гормонов гипофиза, вегетативную нервную систему и другие нейротрансмиттерные системы. Несколько исследований показали изменения производства нейропептида Y при стрессе и ментальной болезни [Zukowska-Grojec Z., 1991]. Предположено, что нейропептида Y играет важную роль в формировании циркадных ритмов через воздействие от таламического вентролатерального к гипоталамному супрахиазматическому ядру. Обнаружено, что у млекопитающих при введении нейропептида Y наблюдается чрезмерное потребление пищи. Вероятно, нейропептид Y модулирует пищевые центры гипоталамуса. Действительно, величина индуцированного нейропептидом Y чрезмерного потребления пищи выше, чем вызванное любым фармакологическим средством [45].

В ранних исследованиях было предположено, что нейропептид Y увеличивает гипоталамный паравентрикулярное ядро и что интра- и паравентрикулярное ядро введение нейропептида Y увеличивает уровни АКТГ и кортикостерона у крыс [41]. Несколько других исследований обнаружили свидетельства, что нейропептид Y играет

роль транквилизатора для мозга [5, 110, 117]. Действия нейропептида Y на аппетит и беспокойство могут быть анатомически и функционально разделены и, кажется, независимы от друг друга. Анксиолитическое действие нейропептида Y наиболее вероятно обусловлены рецепторами типа Y1 в миндалевидном теле [45, 46, 82, 111].

1.2.1.5. Эндокринная ветвь в развитии стресс-реакции.

Гипоталамус секретирует фактор, который стимулирует секрецию АКТГ передней долей гипофиза, который, в свою очередь, стимулирует корковое вещество надпочечников, чтобы секретировать большое количество глюкокортикоидных гормонов [Суворова В.В.. 1975; Vamberger С.М., Schulte Н.М., Chrousos G.P., 1996]. Как и в случае адреналина и норадреналина, секреция кортизола - маркер того, что субъект испытывает стресс. После нескольких лет интенсивных исследований, гипоталамный фактор, который стимулирует секрецию адренотропного гормона, был идентифицирован группой Vale [104] и назван кортитропин-релизинг-гормон [Karalis K., et al., 1991].

После его выпуска гипоталамным паравентрикулярным ядром, КТРГ действует как основной регулятор секреции АКТГ гипофизом [Vamvakopoulos N.C., Chrousos G.P., 1994]. Аргинин-вазопрессин также как и КТРГ является потенциальным синергистическим фактором стимулирования секреции АКТГ. Однако, АКТГ имеет небольшую секретогенную активность. КТРГ и аргинин-вазопрессин могут взаимодействовать на уровне гипоталамуса, причем каждый из нейропептидов может стимулировать секрецию другого [18].

Проопиомеланокортин - предшественник не только АКТГ, но также и опиоидного пептида β-эндорфина 1-31, □-эндорфина (β-эндорфин 1-16), g-эндорфина (β-эндорфин 1-17), □-эндорфина (1-27) [Battistella P.A., et al., 1996], а также меланоцит-стимулирующего гормона [10]. Хотя главный участок экспрессии проопиомеланокортин - гипофиз, это также наблюдается в других мозговых областях (например, дугообразное ядро) и периферийных тканях (например, кишечник). В гипофизе экспрессия проопиомеланокортина выражена в передней и в средней доле. Проопиомеланокортин является предшественником некоторых ткань-специфических конечных продуктов [9]. В кортикотропных клетках из проопиомеланокортина производятся эквимольные количества карбоксигликопептидов, так называемого 16К, АКТГ 1-39 и β-липотропина.

Часть β -липотропина молекул далее преобразуется в 1-31 β -эндорфин. В средней доле все β -липотропиновые молекулы конвертируются в β -эндорфин а АКТГ конвертируется в α -меланоцитстимулирующий гормон и кортикоподобный пептид средней доли гипофиза [14].

В нестрессовых ситуациях, КТРГ и аргинин-вазопрессин секретируются портальной системой в соответствии с циркадным ритмом [Chrousos G.P., 1998]. У людей, амплитуда секреции КТРГ и аргинин-вазопрессин увеличивается в ранние утренние часы, что приводит к "взрывному" увеличению уровней АКТГ и кортизола в кровотоке. Считается, что циркадный ритм производство КТРГ, аргинин-вазопрессин, и кортизола в характерной пульсирующей манере, управляется одним или большим количеством пейсмейкеров, чье местоположение у человека пока не известно. Дневные изменения такого ритма могут быть вызваны изменениями освещения, активности и стрессом [Cooper C., Marshall J., 1980].

В течение острого стресса, амплитуда и синхронизация паравентиккулярного ядра, кортикотропинвысвобождающего гормона и пульсаций аргинин-вазопрессина в гипофизарной портальной системе заметно увеличивается [16 17, 18, 19]. При сильном психическом стрессе, особенно это связано с гипотензией или уменьшением объема крови, имеет место попадание аргинин-вазопрессина magnocellular нейронов, секретируемых гипофизарной портальной системой через коллатеральные нейроаксоны в большой круг кровообращения. В зависимости от типа стресса, другие факторы типа ангиотензина II, различных цитокинов и липидных медиаторов воспаления секретируются и действуют на гипоталамные, гипофизарные или надпочечные компоненты гипоталамо-гипофизарной оси, придавая силу ее деятельности [34].

Кора надпочечников - основной целевой орган индуцированной гипофизом циркуляции АКТГ. Последний является ключевым регулятором секреции глюкокортикоидов и андрогенов в zona fasciculata и zona reticularis соответственно а также участвует в управлении секрецией альдостерона в zona glomerulosa. Другие гормоны и цитокины, производящиеся мозговым веществом надпочечников или прибывающие из большого круга кровообращения с или без нейронной информации от пучков вегетативных нервных волокон коры надпочечников, могут также участвовать в регулировании секреции кортизола [54].

Глюкокортикоиды - конечные продукты гипоталамо-гипофизарной оси. Это плеiotропные гормоны и проявляют свои эффекты через адекватно распределенные внутриклеточные рецепторы. Неактивизированный рецептор к глюкокортикоидам находится в цитосомах в форме гетеро-олигомера с белками температурного шока и иммунофилином [Mastorakos G., Bouzas E.A., et al., 1995; Webster E.L., et al., 1996]. При взаимодействии с лигандом, рецепторы к глюкокортикоидам отделяются от остальной части гетероолигомера и перемещаются в ядро, где они взаимодействуют как гомодимеры со специфическими глюкокортикоид-чувствительными элементами в пределах ДНК, чтобы активизировать соответствующие гормон-чувствительные гены. Активизированные рецепторы также ингибируют посредством протеин-протеин взаимодействий, некоторые транскрипционные регуляторы - c-fos, c-jun и ядерный фактор NF-kb, которые являются положительными регуляторами транскрипции некоторых генов, вовлеченных в функцию и рост неиммунных и иммунных клеток [Wang W., et al., 1999; Ward C., et al., 1999]. Они также изменяют стабильность мРНК и, следовательно, трансляцию некоторых глюкокортикоид-отзывчивых белков. Кроме того, глюкокортикоиды влияют на секрецию специфических белков и изменяют электрический потенциал нейронных клеток через механизмы, которые пока остаются необъясненными [Ward C., et al., 1999].

Глюкокортикоиды имеют ключевую регулируемую роль в управлении деятельностью гипоталамо-гипофизарной оси и в завершении ответа на стресс, действуя на экстрагипоталамические регулирующие центры, типа гиппокампа, гипоталамуса и гипофиза [Chrousos G.P., 1995; Chrousos G.P., 1998]. Ингибирующая обратная связь глюкокортикоидов на АКТГ секреторный ответ действует так, чтобы ограничить продолжительность полного воздействия глюкокортикоидов на ткани, минимизируя катаболические, антирепродуктивные, иммуносупрессивные и другие эффекты этих гормонов [Rabin D.S., et al., 1990].

Для глюкокортикоидов в центральной нервной системе, существует двойная система рецепторов включая рецепторы к глюкокортикоидам (тип I - минералокортикоидные рецепторы), который отвечают положительно на низкие уровни глюкокортикоидов и классические рецепторы к глюкокортикоидам (тип II), которые отвечают на базальные и стрессовые уровни [Bamberger C.M., Schulte H.M., Chrousos G.P., 1996]. Рецепторы типа II участвуют в отрицательной обратной связи гипоталамо-гипофизарной оси через активацию афферентной ГАМК оси к паравентрикулярному ядру [Peiffer A., Lapointe B., Barden N., 1991].

1.2.2.6. Репродуктивная ось

Репродуктивная ось ингибируется на всех уровнях различными компонентами гипоталамо-гипофизарной оси. Непосредственно или через дугообразные проопиомеланокортиновые нейроны, кортикотропинвысвобождающий гормон и аргинин-вазопрессин подавляет гонадотропные нейроны дугообразного и преоптического ядра. Глюкокортикоиды проявляют ингибирующие эффекты на уровнях гонадотропиновых нейронов, гонадотропина, влияя прежде всего на секрецию лютеинизирующего гормона и непосредственно на гонады [Kerdelhui B., et al., 1995].

В экспериментах *in vitro* и *in vivo* установлено, что при воздействии гипоксии, цитокинов воспаления, некоторых простагландинов и глюкокортикоидов секреция КТРГ усиливается. Это означает, что длительная гипоксия, характерная для преэклампсии и эклампсии, повышение уровня циркулирующих в крови цитокинов при инфекциях или воспалительных процессах, повышение концентрации глюкокортикоидов при физическом или психоэмоциональном стрессе могут привести к преждевременным родам, стимулируя секрецию КТРГ (рис. 8). В настоящее время разработаны высокоактивные антагонисты рецепторов КТРГ, первые результаты применения этих новых лекарственных препаратов для предотвращения преждевременной родовой деятельности оказались многообещающими [Webster E.L., et al., 1996].



Рис. 8. Кортикотропин-рилизинг-гормон (КТРГ) как медиатор преждевременной родовой деятельности.

Характерная для преэклампсии и эклампсии гипоксия, повышение уровня цитокинов при внутриматочных инфекционных или других воспалительных процессах, увеличение концентрации кортизола при физическом и психоэмоциональном стрессе способствуют усилению секреции КТРГ в плаценте и плодных оболочках и могут стать причиной преждевременных родов.

КТРГ и аргинин-вазопрессин также является мощным регулятором действия лютеинизирующего гормона на клетки Лейдига. Лютеинизирующий гормон непосредственно стимулирует секрецию серотонина, который действует на серотониновые рецепторы (типа 2), чтобы стимулировать секрецию КТРГ и аргинин-вазопрессина. Эта обратная связь служит, чтобы уменьшить производство андрогенов гонадотропином [*Kerdelhui B., et al., 1995*].

В течение стресса воспалительные цитокины подавляют репродуктивную функцию на нескольких уровнях. Эти эффекты проявляются прямо и косвенно, активизируя гипоталамный невральный цикл, в котором секретируется КТРГ и аргинин-вазопрессин и проопиомеланокортиновые пептиды и периферийные уровни глюкокортикоидов увеличены [].

Подавление гонадной функции, вызванное хронической активацией гипоталамо-гипофизарной оси, было обнаружено у тренированных бегунов обоих полов, балерин и у индивидуумов с нервной анорексией и при голодании. У этих субъектов увеличен вечерний кортизол в плазме и уровни АКТГ, увеличена экскреция свободного кортизола в моче и уменьшен АКТГ ответ на экзогенный КТРГ. Мужчины имеют низкие уровни лютеинизирующего гормона и тестостерона, женщины имеют гипогонадотропный гипогонадизм и аменорею. Характерным для атлетов являются признаки абстиненции и ожирения, если по любой причине они прекращают установившуюся практику тренировок. Этот синдром возможно является результатом прекращения ежедневной индуцированной тренировками секреции проопиомеланокортиновых пептидов и дофамина [].

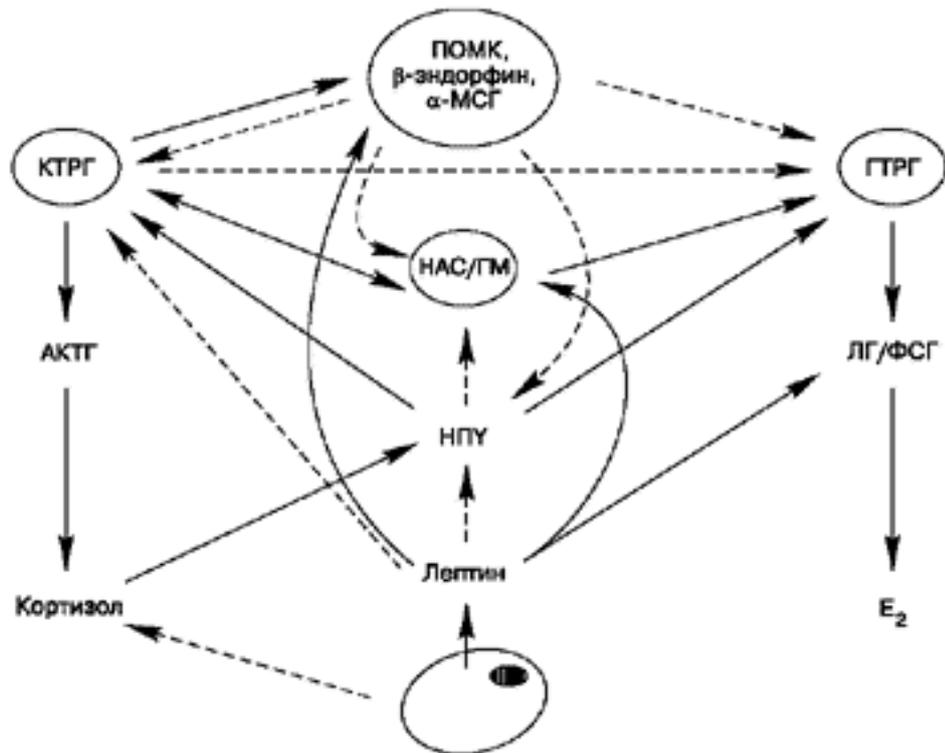


Рис. 9. Взаимодействие лептина с системой, обеспечивающей реакцию организма на стресс.

Лептин — гормон, вырабатываемый жировой тканью, подавляет активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) и стимулирует репродуктивную систему. Влияние лептина на ГГНС проявляется как на уровне гипоталамуса, так и на уровне надпочечников. Лептин подавляет также секрецию нейротензина Y (НПУ); этот механизм участвует в угнетении ГГНС и активации НАС/ГМ. Нейроны, секретирующие проопиомеланокортин (ПОМК), подавляют экспрессию нейротензина Y через α -меланоцитстимулирующий гормон (α -МСГ) и меланокортиновые рецепторы 4-го типа.

1.2.1.7. Ось роста

Ось роста также ингибируется на многих уровнях в течение стресса. Длительная активация гипоталамо-гипофизарной оси ведет к подавлению секреции соматотропина и ингибированию действия соматомедина С и других факторов роста на их ткани - мишени. Последнее возможно через ингибирование c-jun/c-fos гетеродимеров лиганд-связанными рецепторами к глюкокортикоидам [Estes S., et al., 1994; Ozaki I., et al., 1999]. Резкое увеличение концентрации соматотропина в плазме могут происходить в начале ответа на стресс или после введения глюкокортикоидов, возможно, через возбуждение производства

соматотропина глюкокортикоидами через глюкокортикоид-отзывчивые элементы. Кроме прямых эффектов, глюкокортикоиды, которые играют основную роль в подавлении роста, наблюдаемого при длительном стрессе, усиливают секрецию соматостатина и ингибируют секрецию гормона роста, что является потенциальным механизмом индуцированного стрессом подавления секреции соматотропина [].

В некоторых стресс-индуцированных расстройствах с гиперактивацией гипофизарно-гипоталамусовой оси, типа беспокойства или меланхолической депрессии, соматотропин и уровни инсулинового фактора роста-1 значительно уменьшены. По сравнению со здоровыми субъектами, пациенты с паническим расстройством имеют ослабленный ответ оси соматотропина на внутривенно введенный клонидин, а у детей с беспокойством ответ не достигает максимальных уровней. При меланхолической депрессии, секреция соматотропина уменьшена и индуцированное дексаметазоном увеличение уровней соматотропина ослаблено [Distelhorst C.W., 1997].

1.2.1.8. Метаболизм и лептин

Глюкокортикоиды имеют глубокие ингибирующие эффекты на соматотропин и гонадное производство стероидов и противодействуют действиям этих гормонов при катаболизме жировой ткани (липолиз) и анаболизме костей и мышц. Хроническая активация системы ответа на стресс увеличивает висцеральную тучность, уменьшает массу костей и мышц и подавляет активность остеобластов. Интересно, что фенотип центрального туловищного ожирения и уменьшения массы мышц и костей, общий для пациентов с синдромом Кушинга и некоторых пациентов с диагнозом меланхолической депрессии, беспокойства и метаболического синдрома X (висцеральное ожирение, резистентность к инсулину, дислипидимия, гипертония) или "псевдо Кушинг".

Поскольку увеличенный глюконеогенез - характерная особенность ответа на стресс и потому что глюкокортикоиды стимулируют резистентность к инсулину, активация гипофизарно-гипоталамусовой оси может вносить вклад в ухудшение контроля за диабетом в течение периодов эмоционального стресса или при воспалительных и других болезнях. Действительно, умеренная хроническая активация гипофизарно-гипоталамусовой оси недавно была обнаружена у пациентов с диабетом при умеренном или плохом гликемическом контроле. Индуцированная глюкокортикоидами,

прогрессивно увеличивающаяся висцеральная тучность непосредственно приводит к дальнейшей резистентности к инсулину и ухудшению гликемического контроля пациентов с сахарным диабетом. Хроническая активация системы ответа на стресс у таких пациентов участвует в порочном цикле увеличивающейся гипергликемии, гиперхолестеринемии и потребностей в инсулине [16].

1.2.1.9. Гастроинтестинальный тракт

Гастроинтестинальный тракт - один из наиболее уязвимых участков при ответе на психологический стресс [29]. Тошнота является обычной для людей в психологически сложной ситуации. Также такие ситуации часто сопровождается понос. Осложнение после серьезной травмы или угрожающего жизни стресса может вызывать повреждение слизистой желудка и кровотечение.

В исследовании на грызунах, стресс был связан с ингибированием желудочной секреции и активности кортикотропинвысвобождающего гормона, ингибированием или низкой подвижностью кишечника и повышением транзита в толстой кишке. Также наблюдается уменьшение секреции муцина, уменьшение кровотока в слизистой, дегрануляция тучных клеток, окислительные повреждения и увеличение восприимчивости к воспалению и образованию язв [Smirnov K., 1991]. Введение кортикотропинвысвобождающего гормона репродуцирует многие из вышеупомянутых эффектов, а его антагонисты подавляют образование язв при стрессе, уменьшение секреции муцина и транзит в толстой кишке. Эти результаты указывают на то, что эндогенная активность рецепторов кортикотропинвысвобождающего гормона ответственна за большинство гастроинтестинальных эффектов при стрессе.

Гипотеза авторов состоит в том, что стресс селективно активизирует поднабор вагальных эфферентов, которые стимулируют производство некоторых химических транмиттеров специфических нейронов нервной системы тонкого кишечника, которые участвуют в ответе на стресс. Эти нейроны влияют на физиологический ответ гладких мышц. Электрический сигнал распространяется к другим долям гастроинтестинального тракта, изменяя их сократимость. Трансммиттеры, производимые этими стресс-отзывчивыми нейронами тонкого кишечника, производят различные медиаторы

иммунных клеток (например, серотонина, тромбина, реактивные разновидности кислорода, амины) которые причиняют повреждения тканей.

В конечном счете, ускорение реакции гастроинтестинального тракта на стресс происходит двумя путями. Сначала, воздействие обычно изолированных нервных окончаний на воспалительные медиаторы приводит к уменьшению их порога и увеличения их афферентного воздействия на мозг и другие периферийные синапсы, приводя к ложной активацию некоторых рефлексов (например, гастроколического рефлекса, который увеличивает транзит толстой кишки в ответ на растяжение желудка). Во вторых, изменение мембранной проницательности происходит с последующим внутриклеточным ацидозом, отеком и нарушением работы протонного насоса. Эти изменения приводят к уменьшению барьерной функции и диффузии через стенку кишечника, причиняя дальнейшее раздражение, активацию иммунных клеток и повреждение тканей. Некоторые свидетельства говорят о том, что кортикотропинвысвобождающий гормон может быть транмиттером, стимулирующим стресс-отзывчивые вагальные эфференты мозга и, возможно, производится стресс-отзывчивыми нейронами тонкого кишечника [41E].

1.2.1.10. Другие системы

Мезокортикальные и мезолимбические компоненты дофаминергической системы, иннервированны и активизированны системой голубоватое место-норадреналин, системой паравентрикулярное ядро, кортикотропинвысвобождающий гормон и глюкокортикоидами в течение ответа на стресс. Мезокортикальная система, которая включает дофаминергические нейроны вентральной покрышки среднего мозга, которые посылают сигналы prefrontal cortex, участвует в феномене упреждения, несет когнитивные функции и проявляет супрессивный эффект на систему ответа на стресс. Мезолимбическая система, которая состоит из дофаминергических нейронов, вентральной покрышки среднего мозга которые иннервируют nucleus accumbens, играют основную роль в мотивационном поведении [18]. Состояния эйфории или дисфории возможно определяются мезолимбической системой, которая является целевой для воздействия некоторых веществ, например кокаина [34].

Миндалевидное тело активизировано в течение ответа на стресс прежде всего катехоламинергическими нейронами ствола мозга или внутренними эмоциональными стрессорами, возможно произведенными в ассоциированных областях коры [16]. Активация миндалевидного тела важна для эмоционального анализа и коррекции информации о данном стрессоре [52]. В ответ на эмоциональные стрессоры, миндалевидное тело может непосредственно стимулировать центральные компоненты системы ответа на стресс и влиять на активность мезокортикальной дофаминергической системы. Кортикотропинвысвобождающий гормон нейроны в центральном ядре миндалевидного тела отвечают на глюкокортикоиды и их активация ведет к беспокойству, страху и возбуждению системы ответа на стресс. Гиппокамп имеет важное, главным образом супрессивное влияние на активность миндалевидного тела, паравентрикулярное ядро, кортикотропинвысвобождающий гормон и системы голубоватое место-норадреналин [8, 66, 76, 89, 107].

Паравентрикулярное ядро, кортикотропин гормон/аргинин-вазопрессин высвобождающие нейроны и система голубоватое место-норадреналин взаимно иннервированы проопиомеланокортиновые нейронами дугообразного ядра гипоталамуса [19]. Активации системы ответа на стресс стимулирует гипоталамную секрецию проопиомеланокортиновых пептидов, которая ингибирует активность центральных компонентов системы ответа на стресс и через ромбовидный и спинной мозг производит анальгезию. Проопиомеланокортиновые пептиды также стимулируют мезокортиколимбическую систему и могут производить эйфорию [80].

Вещество Р ингибирует кортикотропин гормон/аргинин-вазопрессин высвобождающие нейроны и одновременно активизирует систему голубоватое место-норадреналин [18]. Возможно, уровни вещества Р увеличиваются при периферийной активации соматических афферентных волокон и поэтому могут вносить вклад в изменения деятельности системы ответа на стресс при хронических воспалительных состояниях [48].

Активация паравентрикулярное ядро, кортикотропин гормон/аргинин-вазопрессин высвобождающие нейроны и системы голубоватое место-норадреналин увеличивает внутреннюю температуру [18]. Когда норадреналин и кортикотропин вводятся интрацеребровентрикулярно, они могут причинять увеличение внутренней температуры, возможно посредством воздействия на септальные и гипоталамные центры, регулирующие температуру. Было показано, что кортикотропин является медиатором

некоторых пирогенных эффектов некоторых воспалительных цитокинов - фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), интерлейкина-1 (Ил-1) и интерлейкина-6 (Ил-6). Все они могут стимулироваться липосахаридами, которые являются бактериальными пирогенами [27].

Длительный физический или психологический стресс может уменьшать внутреннюю температуру, по крайней мере, у грызунов. Считается, что это следствие быстрой потери энергии, которая превышает способность организма поддерживать температуру с помощью катаболических процессов. Уменьшение внутренней температуры тела может обеспечивать определенный защитный механизм, чтобы ограничить ответ на стресс, заметно замедляя метаболические функции различных систем. Однако, такая индуцированная стрессом гипотермия может закончиться активацией других транзиттерных систем, например, тиротропин высвобождающего гормона, который, как известно, стимулирует образование язвы желудка - обычное последствие серьезного и длительного стресса различных видов.

Обычно, в течение ответа на стресс происходит существенное подавление потребления пищи. Это, вероятно, результат воздействия на центры аппетита / насыщения в мозге. Кортикотропинвысвобождающий гормон может быть эндогенным посредником индуцированного стрессом ингибирования потребления пищи [103]. Введение кортикотропинвысвобождающего гормона вызывает глубокую анорексию у макак [33]. Вероятно, в этот эффект может быть вовлечено подавление секреции нейропептида Y [56, 82].

Заключение. Таким образом, кортикотропинвысвобождающий гормон и норадреналин, вместе с периферийной секрецией больших количеств глюкокортикоидов и катехоламинов, затрагивают фактически каждую клетку в организме. Активное использование запасов энергии происходит в нескольких органах, который требует дополнительного кислорода. Частота сердечных сокращений увеличена. Частота дыхания увеличена, бронхи расширены для лучшей оксигенации. Происходят существенные изменения в кровотоке для перераспределения питательных веществ и кислорода. Активация гипоталамогипофизарной оси производит глубокий подавляющий эффект на воспалительный иммунный ответ, так как фактически все компоненты иммунного ответа ингибируются кортизолом. Вследствие глобальных противовоспалительных и иммуносупрессивных эффектов глюкокортикоидов на клеточном уровне, происходит изменения функций и движения лейкоцитов, уменьшается производство цитокинов и

медиаторов воспаления, ингибируется воздействие последних на ткани-мишени. Эти эффекты также проявляются в состоянии воспалительного стресса, когда концентрации глюкокортикоидов увеличены. Стресс также связан с нарушением висцеральных функций.

Кортикотропинвысвобождающий гормон локализован в периферийных тканях, в мозговом веществе надпочечников и, как сообщалось, увеличивал возбуждение висцеральных нервов и геморрагическое напряжение. Кортикотропинвысвобождающий гормон-подобная иммунореактивность и мРНК кортикотропинвысвобождающего гормона были обнаружены в лимфоцитах, где они могут играть определенную роль в регулировании иммунной функции. Другие ткани, в которых кортикотропинвысвобождающий гормон был локализован, включают тестикулы (клетки Лейдига), поджелудочную железу, желудок и тонкий кишечник, правда кортикотропинвысвобождающий гормон не обнаружен в кровотоке при нормальных обстоятельствах, его высокие уровни, вероятно происходящие из плаценты, были найдены в плазме беременных женщин.

1.3. Дисфункция системы ответа на стресс.

1.3.1. Нормальный ответ на стресс. Центральная организация механизмов устойчивости к эмоциональному стрессу.

Эффективный ответ на стресс своевременно вызывается, достигает амплитуды, соразмерной с его интенсивностью и прекращается после того, как воздействие закончено. Эффекты влияния стресса на организм обычно толерантны и имеют характер переходного процесса. Из-за глобального влияния ответа на стресс на весь организм, дисфункция может затрагивать фактически любой орган или организм в целом [Селье Г., 1972]. Уязвимость определенных систем организма изменяется от одного индивидуума к другому. Аналогично, серьезный или длительный стресс может причинять беспокойство или депрессию у некоторых индивидуумов, сексуальные нарушения у других, синдром раздражения кишечника или язвенную болезнь в третьей группе [Селье Г., 1972; West M.,

1998]. Уязвимость к любому из этих синдромов определяется генетической и конституционной предрасположенностью индивидуума и может быть улучшена или ухудшена факторами окружающей среды, особенно в критические периоды развития.

Лимитированная по времени природа ответа на стресс делает его временные антирепродуктивные, катаболические, иммуносупрессивные и другие эффекты, скорее выгодными чем повреждающими. Напротив, состояние хронической активации системы ответа на стресс может вести к патологии. Поскольку кортикотропин синтезирующий гормон координирует поведенческую, нейроэндокринную и вегетативную адаптацию в течение стрессовых ситуаций, длительно увеличенное содержание кортикотропного гормона, вероятно, вносят вклад в патогенез и проявления этих синдромов [16].

Хроническая гиперактивация системы ответа на стресс проявляется при меланхолической депрессии [38]. Этот синдром представляет пример дисрегуляторной активации обобщенного ответа на стресс, что ведет к гиперактивизированной, хронической активации гипоталамо-гипофизарной оси, системы голубоватое место-норадреналин и относительной иммуносупрессии [36]. Действительно, экскреция кортизола увеличена и ответ на экзогенный кортикотропин синтезирующий гормон уменьшен. Эти результаты говорят о том, что при депрессии, происходит гиперсекреция кортикотропин синтезирующего гормона, которая может участвовать в иницировании и поддержании порочного цикла. В двух современных исследованиях, у пациентов с депрессией была обнаружена атрофия гиппокампа, а также уменьшение размера и метаболической активности subgenual medial prefrontal cortex. Является ли любое из этих изменений генетически определенным, индуцированным внешними факторами или и тем и другим, неясно. Каждое из этих изменений может приводить к гиперактивации системы ответа на стресс и к меланхолической депрессии [34].

Вследствие хронического или рекуррентного гиперактивного стресса, пациенты с меланхолической депрессией могут выдержать серьезные последствия остеопороза, различные уровни и паттерны метаболического синдрома X и врожденной и индуцированной Th-1 иммуносупрессии. Исследование минеральной плотности кости у молодых женщин с постоянной депрессией показало наличие клинически существенного уменьшения плотности костей [79]. Концентрация остеокальцина в плазме и пиридинолина в моче были уменьшены, указывая на "низкоуровневый" остеопороз, подобный наблюдаемому у пациентов при синдроме Кушинга [77].

Дефект синтеза лептина, замеченный у Zucker крыс, связан с гиперсекрецией нейропептида Y и глюкокортикоидов а также гипофункцией системы голубоватое телонорадреналин, что приводит к серьезному ожирению.

заключение

Продвижение по пути раскрытия механизма ответа на стресс, тонких механизмов дисрегуляции нормальной физиологической реакции в ответ на стрессорные воздействия, все с большей силой подымает вопрос о необходимости разработки эффективных медикаментозных и немедикаментозных средств профилактики и купирования сдвигов в системе ответа на стресс. Чем более безопасна окружающая среда, тем менее вероятно индивидуум испытает связанную со стрессом болезнь. Другой способ состоит в обучении склонных к стрессу пациентов улучшать их навыки преодоления стресса, минимизируя их реактивность к будущему стрессу. Глубокое понимание нейроэндокринологии стресса обеспечило новые инструменты для управления гиперфункцией системы реакции на стресс.

Сотни оригинальных статей и многочисленные исследования неоднократно указывали на кортикотропинвысвобождающий гормон, как на причину увеличения чувствительности организма к вредным стимулам и мобилизацию всех каскадов ответа на стресс. На основании обширных взаимодействий с эндокринной и вегетативной нервной системой, можно предположить, что кортикотропинвысвобождающий гормон фактически влияет на каждую клетку в организме. Гиперфункция кортикотропинвысвобождающий гормон - серьезное состояние, которое, вероятно, будет лежать в основе патофизиологии меланхолической депрессии, беспокойства, психосексуальных нарушений, сахарного диабета и функциональных гастроинтестинальных нарушений.

Эндокринный и метаболический ответы на повреждение тесно сопряжены друг с другом. Сегодня представление Катбертсона о фазах отлива и прилива должны быть дополнены "включением ранней и поздней фаз ответа со стороны нервной, эндокринной, иммунной систем, эндотелиоцитов и внутриклеточной среды на стресс. При этом гомеостаз и выздоровление с полным восстановлением функций обеспечивается сложной регуляцией и поддержанием взаимосвязей реакций центральной и периферической

нервной систем, эндокринной системы, иммунных «осей», секреции, осуществляемой эндотелиоцитами, и циркулирующих в крови факторов.

1.4. Общие патогенетические механизмы внутриклеточного действия стрессоров, ксенобиотиков и других факторов окружающей среды на организм подростков.

В основе токсического действия веществ лежит повреждение клеток, сопровождающееся их функциональными, либо структурно-функциональными изменениями. Разнообразие формирующихся при этом эффектов со стороны целостного организма обусловлено сложностью организации клеток, многообразием клеточных форм, составляющих организм. Сформировавшиеся в процессе эволюции особенности структуры и функции отдельных клеточных типов, формирующих различные органы и ткани, настолько существенны, что чувствительность различных клеток к токсикантам может отличаться в тысячи раз. Тем не менее, живое объединено общностью фундаментальных процессов, общими патогенетическими механизмами, лежащими в основе цитотоксического действия ксенобиотиков.

Ключевыми субклеточными системами, на которое прежде всего направлено действие различных стрессорных агентов являются:

- система энергетического обмена и стабильности клеточных мембран;
- система гомеостаза внутриклеточных микро- и макроэлементов;
- система активации свободно-радикальных процессов в клетке и система антиоксидантной защиты
- система пластического обмена;

Необходимо отметить, что все эти системы тесно связаны друг с другом. Порой одна из них является пусковой, но в дальнейшем особую значимость для судьбы поврежденной клетки приобретают другие. Очень часто две или несколько из упомянутых систем связаны между собой по типу "порочного круга".

1.4.1. Нарушение процессов биоэнергетики

Жизнь клеток и макроорганизмов есть постоянный процесс синтеза сложных молекул (нуклеиновых кислот, белков, полисахаридов, липидов и т.д.), то есть структур с достаточно высокой энтальпией и низкой энтропией. Синтетические процессы в организме невозможны без одновременного протекания экзэргических реакций, обеспечивающих высвобождение энергии, поступающей из окружающей среды и запасенной в форме химических соединений. Основным видом таких реакций в организме является гидролитическое расщепление богатых энергией веществ, содержащих пирофосфатные связи (макроэрги). К их числу относятся: аденозинтрифосфорная кислота (АТФ), аденозиндифосфорная кислота (АДФ), гуанозинтрифосфорная кислота (ГТФ), цитозинтрифосфорная кислота (ЦТФ), уридинтрифосфорная кислота (УТФ), ацилфосфаты и др. В конечном итоге энергетические возможности клетки определяются запасами макроэргов и, в первую очередь, АТФ.

АТФ постоянно синтезируется в ходе двух клеточных процессов: гликолиза и биологического окисления субстратов (клеточное дыхание). Оба находятся в тесном взаимодействии. Гликолиз проходит в цитоплазме клеток. Дыхание, основной путь образования макроэргов, осуществляется в митохондриях. В процессе дыхания, благодаря совместному действию большого числа ферментов, соответствующие субстраты, образующиеся при метаболизме белков, жиров, углеводов, поступающих с пищей, окисляются кислородом, также поступающим из окружающей среды, с образованием CO_2 , H_2O и энергии, выделяющейся в форме тепла и запасаемой в молекулах АТФ. Процессы, обеспечивающие поддержания определенного уровня АТФ в клетках организма, составляют основу и сущность их энергетического обмена. Наиболее уязвимыми для действия токсикантов элементами биологической системы, обеспечивающей образование макроэргов в организме, являются: механизмы биологического окисления (ферменты цикла трикарбоновых кислот, ферменты дыхательной цепи), механизмы сопряжения биологического окисления и фосфорилирования (образования АТФ из АДФ и фосфата), механизмы доставки кислорода к клеткам кровью (рис. 10).

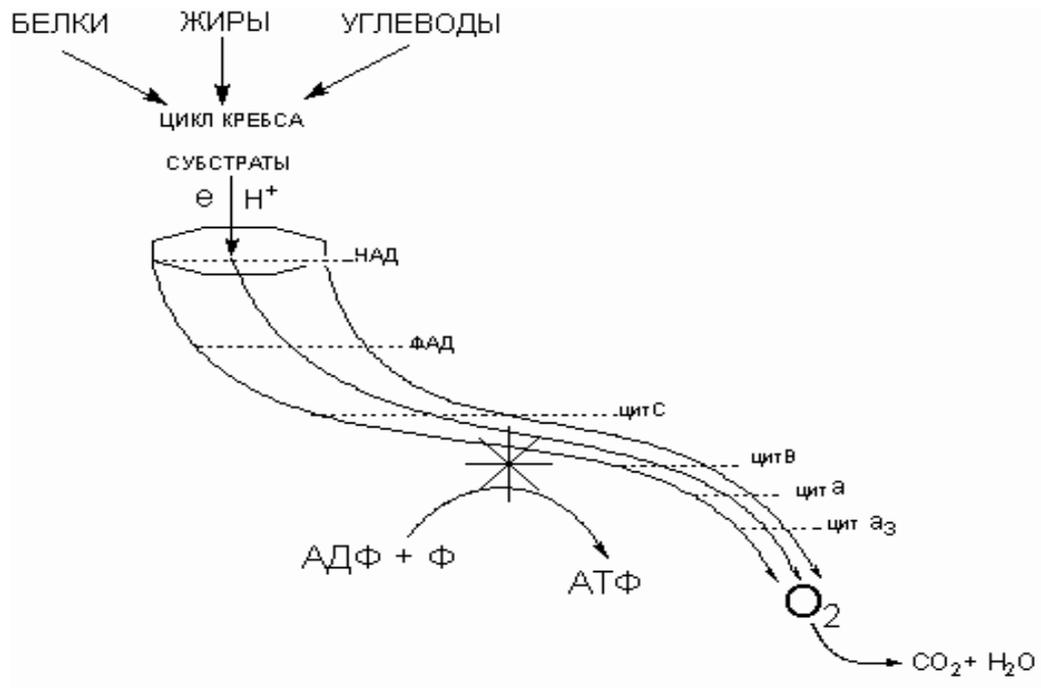


Рис. 10. Схема процесса клеточного дыхания. Энергия движения электронов и протонов по цепи дыхательных ферментов обеспечивает работу механизма сопряжения процесса фосфорилирования (кумуляция энергии).

1.4.2. Механизмы токсического повреждения систем энергообеспечения клетки

Нарушение процессов биоэнергетики приводит к повреждению биологических систем, вплоть до их гибели. И именно система энергетического обеспечения прежде всего является мишенью действия различных стрессорных воздействий на клеточном уровне, на нее направлено действие лекарств, токсикантов (рис. 11).

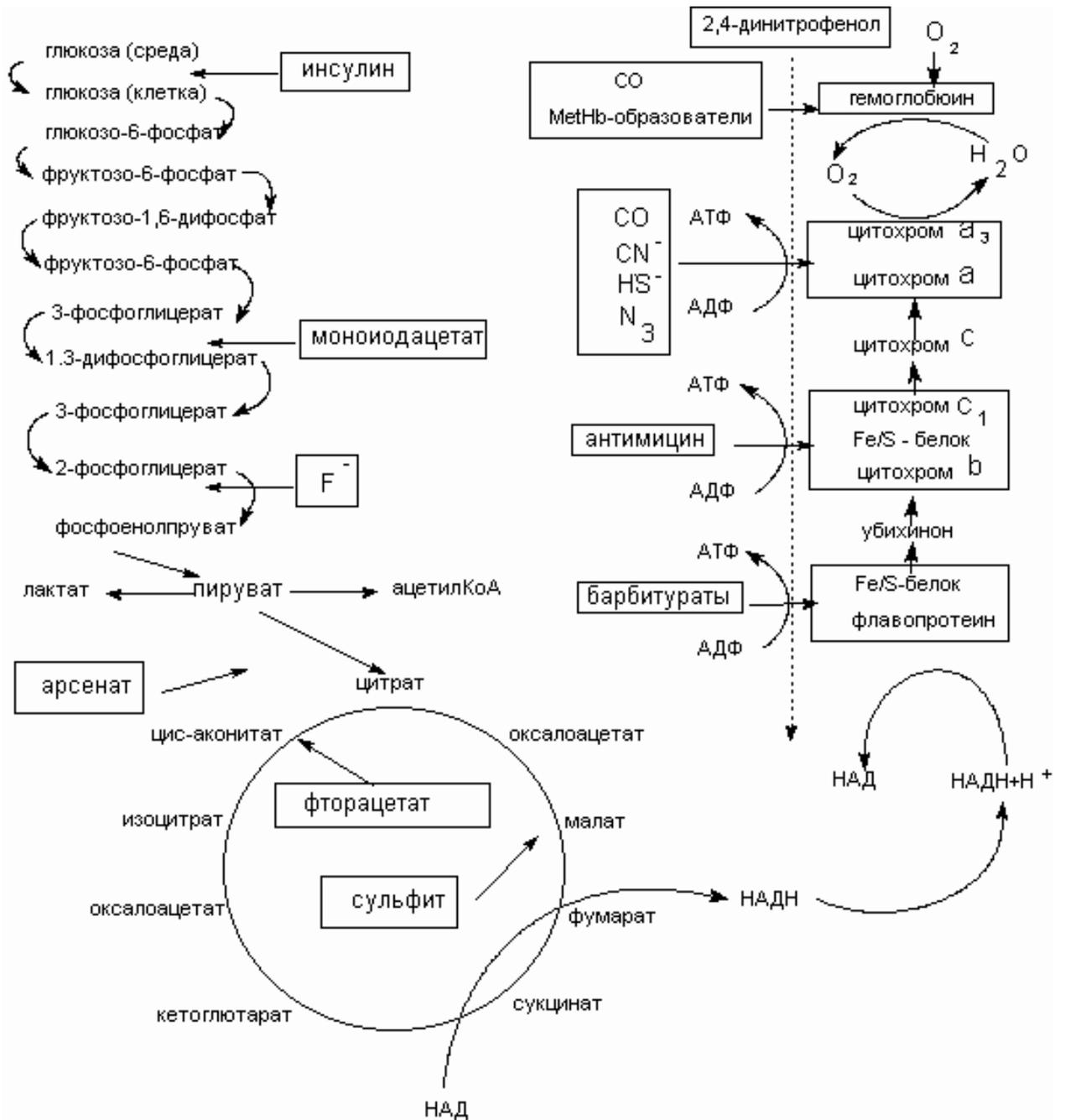


Рис. 11. Механизмы действия стрессоров на биоэнергетические процессы

Мышьяк, ртуть, их органические и неорганические соединения, другие тяжелые металлы, иодацетат и другие, могут взаимодействовать с сульфгидрильными группами целого ряда ферментов гликолиза и цикла трикарбоновых кислот и подавлять их активность (сульфгидрильные яды). Достаточно избирательно действуют вещества-аналоги природных субстратов (фторацетат, оксид углерода и т.д.). Они взаимодействуют с

активными центрами соответствующих энзимов, угнетая отдельные этапы процесса энергообеспечения клеток.

Ингибирование энзимов цикла трикарбоновых кислот (ТК) является пагубным для клетки. Так, некоторые фторированные спирты и фторкарбоновые кислоты (ингибиторы ферментов цикла ТК), являются чрезвычайно токсичными соединениями, вызывающими смертельное отравление в дозах нескольких миллиграмм на килограмм массы.

Большое токсикологическое значение имеют вещества, действующие на дыхательную цепь митохондрий. Вещества, блокирующие элементы цепи дыхательных ферментов (цианиды, сульфиды), могут в течение нескольких минут привести организм к гибели. Первая ступень цепи дыхательных ферментов чувствительна к седативным средствам (барбитураты).

Некоторые вещества способны разобщать процессы биологического окисления и фосфорилирования. Такими свойствами обладают, как правило, липофильные соединения, содержащие фенольную группировку в молекуле и являющиеся слабыми органическими кислотами: 2,4-динитрофенол (ДНФ), динитро-о-крезол, хлорфенолы, дикумарол, а также салицилаты, арсенаты, тироксин и др. Самым активным разобщителем является 3,5-дитретбутил-4-гидроксибензилиден-малонитрил (SKF6847). Это вещество примерно в 1800 раз активнее 2,4-ДНФ и уже в концентрации 0,2 моль на 1 моль цитохрома вызывает максимальное разобщение.

In vitro "разобщители" цепи окислительного фосфорилирования стимулируют скорость потребления кислорода митохондриями и индуцируют активность АТФазы. *In vivo* в результате их действия значительно активируются процесс клеточного дыхания, однако содержание АТФ в клетках при этом снижается. Образующаяся в ходе окисления субстратов энергия рассеивается в форме тепла, температура тела отравленного резко повышается, учащается дыхание, появляются тошнота, обильное выделение пота, развивается острая сердечная недостаточность, кома. Интоксикация развивается бурно и заканчивается быстрой гибелью пострадавшего. Механизм действия разобщителей до конца не выяснен. Полагают, что они облегчают переход протонов непосредственно через мембрану из митохондрий в цитоплазму. Двигателем же процесса образования АТФ из АДФ и неорганического фосфата как раз и является градиент протонов по обе стороны мембраны митохондрий, не проницаемой для H^+ , поддерживаемый реакциями биологического окисления.

Наконец, еще одним механизмом нарушения энергообеспечения клетки является угнетение митохондриальной транслоказы, обеспечивающей транспорт синтезированной АТФ из митохондрий в цитоплазму. Таким образом, действует, в частности атрактилозид, вещество выделяемое из растения *Distel Atractylis gummifera*, произрастающего в Средиземноморье.

Непрямым механизмом цитотоксического действия является понижение токсикантами парциального давления кислорода в тканях. Нехватку кислорода человек и другие млекопитающие могут переносить только несколько минут. Особенно чувствительными к аноксии являются клетки органов с интенсивным энергообменом.

Высоко чувствителен к нарушению процессов клеточного дыхания головной мозг. Если периферические ткани способны переживать (хотя и с нарушениями функций) частичную нехватку кислорода в течение нескольких часов, то необратимые изменения в ЦНС наступают спустя 4 - 5 минут после полного прекращения снабжения нейронов кислородом. Поэтому факторы, нарушающие кислородтранспортные функции крови также весьма токсичны (оксид углерода, нитро-, аминсоединения и пр.). Оксид углерода связывается с двухвалентным железом гема с образованием карбоксигемоглобина, метгемоглобинообразователи переводят железо гема из двухвалентной в трехвалентную форму. В обоих случаях гемоглобин утрачивает способность связывать кислород в легких и транспортировать его в ткани.

1.4.3. Нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция

Роль кальция, как регулятора физиологических процессов, протекающих в клетке, хорошо известна. Нарушение внутриклеточного гомеостаза этого иона, сопровождающееся существенным повышением его концентрации в цитоплазме клетки, лежит, как полагают, в основе механизма клеточной гибели при целом ряде патологических состояний таких как ишемия, аутоиммунные процессы и т.д. Цитотоксическое действие самых разных токсикантов (цианидов, четыреххлористого углерода, свинца, метилртути, хлордекона, оловоорганических соединений, алкилирующих агентов, диоксина и т.д.) также полагают, хотя бы отчасти, связано с повышением уровня кальция внутри клеток. В норме низкая концентрация кальция в

цитоплазме поддерживается механизмами его активного транспорта через биомембраны и системой его компарментализации (накопление в клеточных органеллах) – рис. 12.

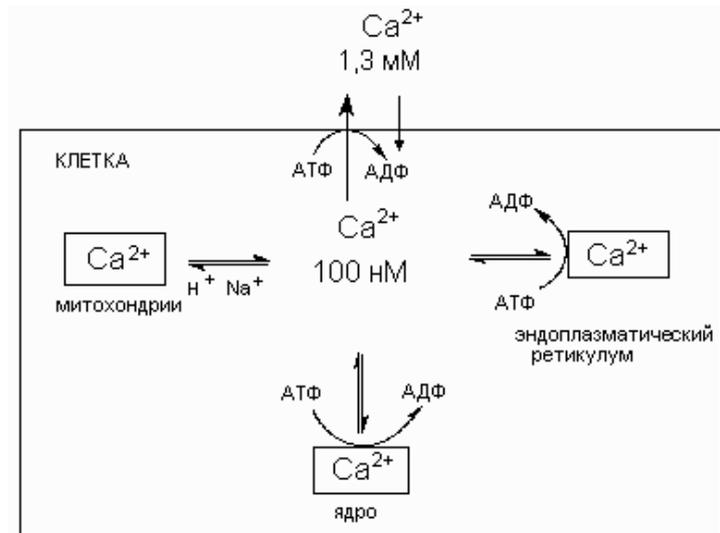


Рис. 12. Схема регуляции содержания ионов кальция в цитоплазме.

Обычно поступление Ca^{2+} в клетку по градиенту концентрации уравнивается его активным выведением, осуществляемым при участии Ca^{2+} -транспортной АТФазы в печени и эритроцитах и Na^+/Ca^{2+} обменом в возбудимых тканях. Кроме того, уровень кальция регулируется его секвенированием в клеточных органеллах (ядре, митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме), а также связыванием внутриклеточными белками.

Нарушение механизмов поддержания гомеостаза внутриклеточного кальция, как это видно из представленной схемы обмена иона, может стать следствием, а затем поддерживать нарушение следующих процессов:

- повреждения биологических мембран и усиления их проницаемости для ионов;
- нарушения биоэнергетики клетки, приводящие к истощению запасов макроэрогов;

- изменения функционального состояния белковых комплексов (в том числе путем действия на соответствующие рецепторы), образующих каналы для Ca^{2+} .

Все эти механизмы могут приводить к усилению входа кальция из внеклеточной жидкости и его высвобождению из депо в цитоплазму клетки. Примеры веществ, повреждающих механизмы поддержания гомеостаза кальция внутри клеток. Цитотоксический эффект в результате стойкого повышения содержания кальция в цитоплазме в настоящее время связывают с развивающимся при этом повреждением целостности цитоскелета и неконтролируемой активацией катаболических энзимов (фосфолипаз, протеаз, эндонуклеаз).

1.4.4. Повреждение цитоскелета

Цитоплазма клетки помимо цитозоля и клеточных органелл, как правило, содержит еще и нитевидные белковые структуры, которые в массе формируют клеточный скелет. Это образование выполняет не только стабилизирующую и структурирующую, но и другие функции, среди которых обеспечение клеточного деления, внутриклеточный транспорт, секреция, обмен рецепторных белков, регуляция клеточной подвижности и формы. Белки цитоскелета эпителиальных клеток формируют филаменты кератина, в мышечных клетках - десмин или волокна актина и миозина, в соединительнотканых клетках - виментин, в эритроцитах - спектрин, в нервных и глиальных клетках - нейро- и глиофиламенты. Важную роль в физиологии клеток играют микротрубочки, образованные молекулами тубулина, организованные в характерные нитевидные структуры. Они принимают участие в формировании митотического веретена делящихся клеток.

Велика роль структур, формирующих цитоскелет в нервных клетках. Здесь микрофиламенты и микротрубочки принимают участие в монтаже системы anterogradного и retrogradного аксонального транспорта биологически активных веществ. Как известно белки синтезируются в перикарионе нейрона, а затем транспортируются с помощью этой системы на периферию клетки (в область синаптических контактов). Транспорт по аксону необходим и для обеспечения функций аксональных мембран: оборот глобулярных протеинов в мембране аксонов, выполняющих функции ионных каналов (см. выше). Состояние Швановских клеток также

контролируется трофическими веществами, переносимыми с аксональным током. С аксональным током перемещается весь набор ферментов, нейромедиаторов и их предшественников, необходимых для обеспечения синаптической передачи нервных импульсов.

При действии разнообразных веществ на изолированные клетки (культура ткани) выявляется отчетливое изменение формы их поверхности: появляются выпячивания цитоплазмы, называемые пузырьками (blebs). Такое "пузырение" (или вскипание - blebbing) клеточной мембраны - один из ранних и надежных признаков разрушения сети цитоскелета. Вещества, нарушающие гомеостаз внутриклеточного кальция, инициируют "вскипание" мембраны. Механизм феномена объясняют следующим образом. Кальций вовлечен в процесс поддержания структуры цитоскелета как непосредственно, так и через ряд Ca^{2+} -связывающих протеинов и Ca^{2+} -зависимых ферментов. Особенно значим уровень Ca^{2+} в цитоплазме для образования ассоциации белков цитоскелета с белками плазматической мембраны и взаимодействия различных элементов цитоскелета. Стойкое увеличение концентрации кальция в цитозоле по-видимому вызывает отщепление актина микрофиламентов от α -актинина, белка, служащего промежуточным звеном, связывающим микрофиламенты цитоскелета с белками плазматической мембраны. Вещества, связывающие внутриклеточный кальций, и ингибиторы Ca^{2+} -зависимых протеаз препятствуют "вскипанию" плазматической мембраны клеток, обработанных токсикантами (рис. 13). Другой механизм изменения конфигурации плазматической мембраны под влиянием избыточной концентрации кальция, может состоять в истощении внутриклеточных запасов макроэргов.

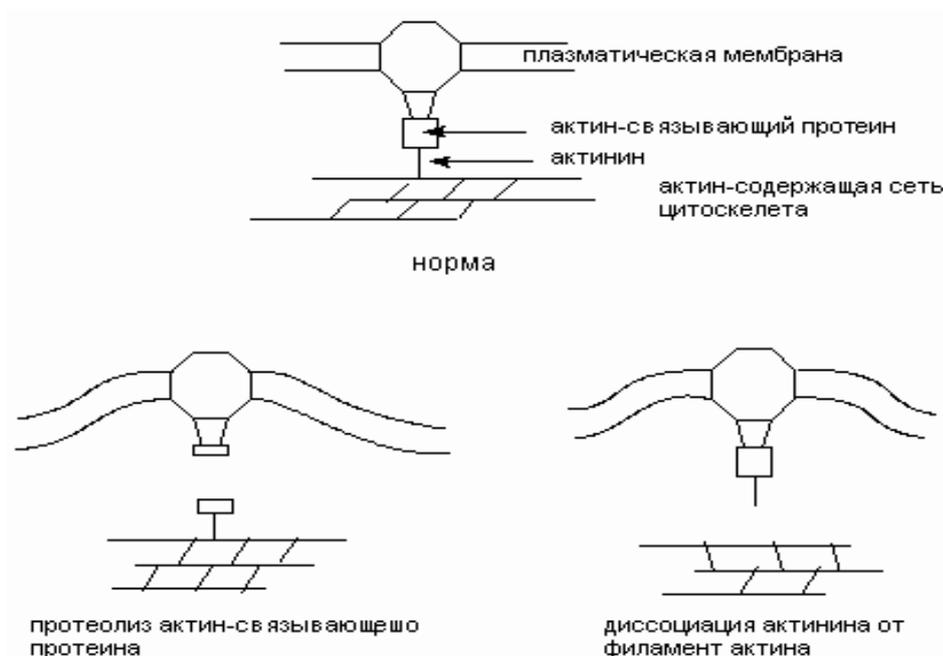


Рис. 13. Ca^{2+} -зависимые механизмы повреждения цитоскелета клеток, обработанных хинонами

1.4.5. Активация фосфолипаз

Фосфолипазы катализируют гидролиз фосфолипидов, входящих в состав клеточных мембран. Эти ферменты широко представлены в различных клетках. Особое внимание исследователи уделяют фосфолипазам A_2 - группе липаз, основная функция которых состоит в удалении из мембраны поврежденных фосфолипидов, путем высвобождения жирных кислот, подвергшихся пероксидации. Фосфолипазы A_2 являются Ca^{2+} - и кальмодулин-зависимыми ферментами, и, следовательно, чувствительными к повышению кальция в цитоплазме. Стимуляция фосфолипазы кальцием приводит к усилению разрушения фосфолипидов мембран и повреждению клеток. Повышение содержания кальция в цитоплазме, активацию фосфолипазы, ускорение оборота фосфолипидов с последующей гибелью гепатоцитов регистрировали при токсическом поражении печени четыреххлористым углеродом. Аналогичные изменения наблюдали в миокардиоцитах и гепатоцитах, инкубируемых в условиях аноксии. Хлорпромазин, угнетающий активность фосфолипаз, защищает клетки от повреждающего действия цитотоксикантов, нарушающих внутриклеточный гомеостаз кальция. Эти и другие данные подтверждают значение рассматриваемого механизма в развитии токсического повреждения клеток.

1.4.6. Активация протеаз

К числу протеаз, с оптимумом активности в области нейтральных значений pH, относятся: АТФ-зависимые, убиквитин-зависимые, Ca^{2+} -зависимые (кальпаины) протеазы. Кальпаины присутствуют практически во всех клетках млекопитающих. Они локализируются вне лизосом, в мембранных структурах в форме неактивного комплекса с ингибиторными протеинами (кальпастатины). Основные функции кальпаинов - репарация цитоскелета и клеточных мембран, разрушение рецепторных протеинов и их обновление, активация некоторых энзимов, участие в процессах митоза.

1.4.7. Активация эндонуклеаз

При завершении клеткой жизненного цикла активируется процесс "программированной" физиологической клеточной гибели - апоптоз. На ранних этапах в апаптотической клетке проявляются морфологические изменения: "вскипание" клеточной и ядерной мембран, конденсация хроматина. Самым надежным маркером развивающегося процесса является активация эндонуклеаз, энзимов, расщепляющих хроматин на фрагменты - олигонуклеосомы. Активация эндонуклеаз отмечается при гибели тимоцитов и лимфоцитов в облученном организме.

Установлено, что кальций участвует в активации эндонуклеаз. Вызванная глюкокортикоидами фрагментация ДНК тимоцитов и гибель этих клеток связаны со стойким повышением содержания Ca^{2+} в цитоплазме. Одним из постоянных проявлений отравления экспериментальных животных диоксином является атрофия тимуса. Установлено, что при этом в тимоцитах значительно активируется процесс фрагментации ДНК, причем периоду разрушения хроматина предшествует период повышения концентрации кальция в цитоплазме. Активация эндонуклеаз может быть причиной гибели клеток печени, миокарда, почек при отравлениях многими химическими веществами.

1.4.8. Активация свободно-радикальных процессов в клетке

Многие ксенобиотики, попав во внутренние среды организма, подвергаются метаболическим превращениям. Одним из возможных результатов метаболизма является образование реактивных промежуточных продуктов. Взаимодействие этих реактивных метаболитов, либо вторичных продуктов их превращения, с молекулами-мишенями приводит к нарушению клеточных функций. Изменения в клетках могут быть следствием как избирательного повреждения какой либо одной биохимической структуры, так и сочетанного повреждения нескольких структурно-функциональных элементов. Достаточно часто в ходе исследований удается идентифицировать реактивный метаболит, изучить особенности его взаимодействия с молекулами-мишенями, оценить факторы облегчающие и модулирующие эти взаимодействия. Становится все более очевидным, что многие реактивные промежуточные продукты метаболизма ксенобиотиков появляются в форме свободных радикалов, т.е. на внешней орбитали молекулы метаболита находится неспаренный электрон. Центром образования такого радикала в молекуле могут быть атомы углерода, азота, кислорода, серы (рис. 14):

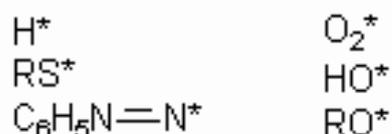


Рис. 14. Примеры простых свободных радикалов

Ксенобиотики могут трансформироваться в радикалы как энзиматическим, так и неэнзиматическим путем. Например известны токсиканты, специфично повреждающие тела дофаминэргических и серотонинэргических нейронов ЦНС (6-гидроксидофамин и 5,7-дигидрокситриптин), β -клетки поджелудочной железы (аллоксан) и др., легко подвергающиеся аутоокислению с образованием активных радикалов. Параллельно с

самоокислением молекулы подобных ксенобиотиков осуществляется продукция АФК. Хорошо доказана возможность образования радикалов при метаболизме ацетаминофена, адриамицина (и других цитостатиков антрациклиновой группы), нитрофурантиона, параквата, фенилгидразина, четыреххлористого углерода, бензапирена и т.д.

Появление неспаренного электрона на внешней орбитали делает метаболит чрезвычайно реакционноспособным. Активные радикалы вступают внутри клетки в многочисленные реакции, в том числе, связываются с ненасыщенными жирными кислотами, отщепляют водород от других молекул, взаимодействуют друг с другом с образованием димеров и т.д.

Свободные радикалы, такие как анионы семихинонов, азоанионы, анионы нитроароматических соединений, биспиридиниевые катионы, могут активировать молекулярный кислород путем одновалентного восстановления последнего до супероксид-аниона (O_2^-). Супероксид при взаимодействии с водой с большой скоростью дисмутирует с образованием перекиси водорода (H_2O_2) и чрезвычайно активного оксиданта - гидроксильного радикала ($\cdot OH$). Некоторые ионы металлов с переменной валентностью (медь, железо) облегчают процесс аутоокисления, а восстановители, например аскорбиновая кислота, обеспечивают регенерацию исходной формы ксенобиотика. Таким образом, формируется неэнзиматический окислительно-восстановительный цикл токсиканта. SH-соединения, никотиновая кислота в опытах *in vitro* останавливают процесс. Ультрафиолетовые лучи активируют превращение (фотоактивация) накапливающихся в коже сульфаниламидных препаратов, 4-аминобензойной кислоты и др. в свободно-радикальную форму, которая, как полагают, ответственна за развитие фототоксических и фотоаллергических процессов у лиц, принимающих эти лекарства. Эти, так называемые, вторичные радикалы представляют высокую опасность для клетки. Обладая достаточной стабильностью, они взаимодействуют с самыми разными биомолекулами, и не только повреждают их, но и провоцируют цепные реакции дальнейшего образования активных радикалов из липидов, аминокислот, нуклеиновых кислот и т.д. Интегральный эффект такого каскада радикал-иницирующих реакций приводит к значительному нарушению физиологии клетки, её повреждению. На макроскопическом уровне это проявляется некрозом ткани, развитием фиброза в пораженных органах.

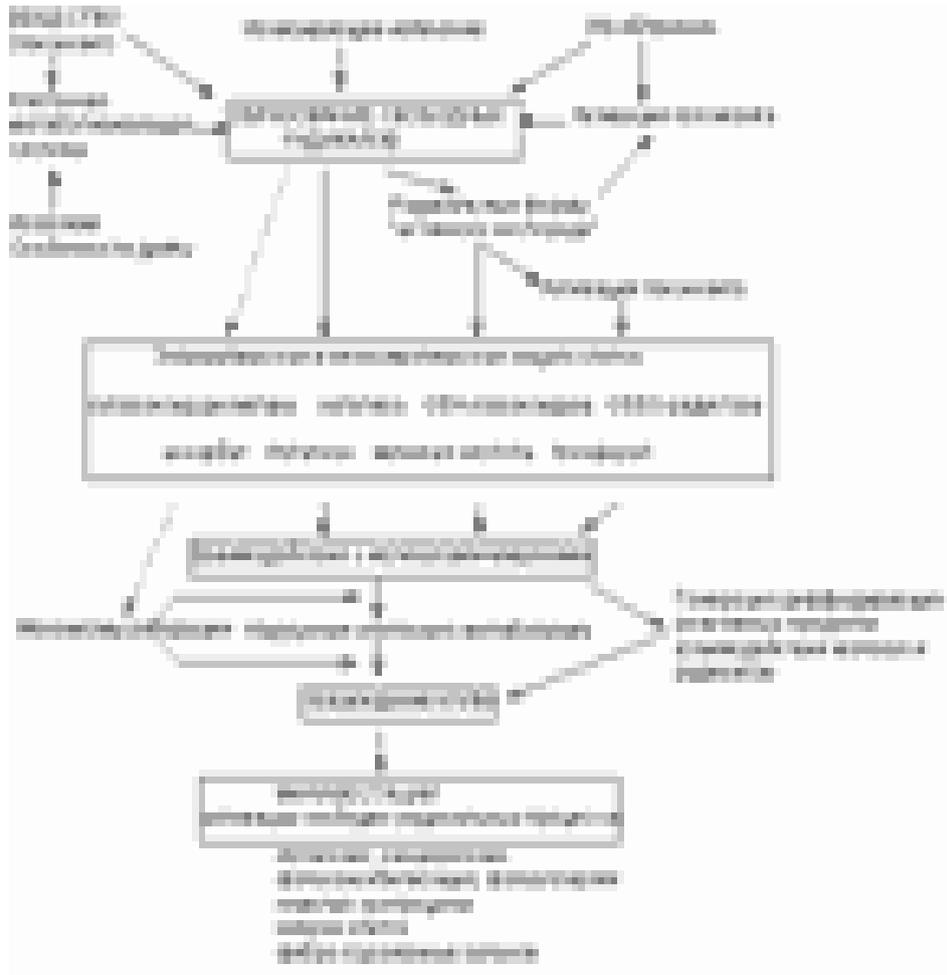
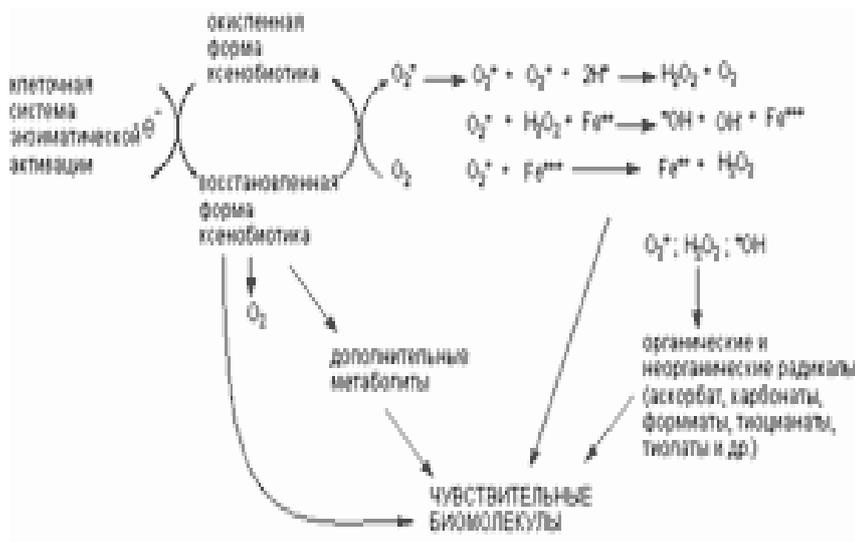


Рис. 15. Активация свободно-радикальных процессов в клетках и их последствия

Таким образом, можно выделить несколько ключевых моментов, имеющих особое значение для реализации повреждающего действия ксенобиотиков на клетку, путем активации свободно-радикальных процессов:

1. Образовавшись, радикал - промежуточный продукт может иметь несколько способов дальнейшего превращения, соотношение между которыми зависит от степени оксигенации клеток (тканей);
2. Усиленное образование свободных радикалов может начаться в нескольких независимых локусах клетки (эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях, ядре, цитоплазме);
3. Активация ксенобиотиков до активных радикалов может стать следствием последовательного действия на токсикант нескольких ферментов;

4. Возможно неэнзиматическое образование свободных радикалов. Превращение одного из ксенобиотиков может активировать превращение другого. Так, блеомицин повреждает ДНК в присутствии митомицина С и т.д.



4x270 GIF)

Рис. 16. Окислительно-восстановительный цикл трансформации ксенобиотиков, сопровождающийся активацией свободно-радикальных процессов в клетке. O_2^- - супероксидный анион; $*OH$ - гидроксильный радикал.

Однако основной путь образования свободных радикалов в клетке - энзиматический метаболизм ксенобиотиков (рис. 16?). Способность веществ метаболизировать с образованием радикалов обычно связывают с величиной их одноэлектронного восстановительного потенциала. Соединения с высоким средством к электронам предрасположены к их акцепции и легко восстанавливаются биологическими системами, в то время как вещества с низким средством к электрону восстанавливаются биосистемами плохо. Вещества, не вступающие в окислительно-восстановительный цикл не являются источниками образования свободных радикалов в клетках. Например, хлороформ ($CHCl_3$) является слабым источником прооксидантных процессов из-за низкой способности к одоноэлектронному восстановлению. Напротив, четыреххлористый

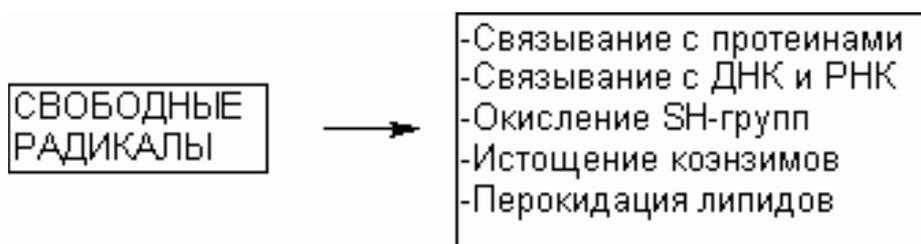
углерод (CCl_4) легко метаболизирует в трихлорметильный радикал ($^*\text{CCl}_3$), способный отнимать водородные атомы от ненасыщенных жирных кислот, и является инициатором перекисного окисления липидов. Кроме того $^*\text{CCl}_3$ связывается с липидами микросомальных мембран, активирует кислород, который в свою очередь взаимодействует с макромолекулами (белками, нуклеиновыми кислотами). Восстановление CCl_4 до трихлорметилового радикала катализируется комплексом оксидаз смешанной функции, состоящим из флавопротеинов, НАДФН-зависимой Р-450 релуктазы, НАДН-цитохром b_5 редуктазы и оксидазы цитохрома Р-450. Химический окислительно-восстановительный цикл превращения ксенобиотика будет продолжаться в течение достаточно длительного времени, механизмы клеточной защиты могут истощиться и произойдет повреждение клетки. Такая возможность вполне вероятна, поскольку известно, что супероксид-анион инактивирует супероксиддисмутазу (СОД), превращает аскорбиновую кислоту и токоферол, а гидроксильный радикал - угнетает глутатионпероксидазу.

Помимо гладкого эндоплазматического ретикулума оксидазы смешанной функции обнаружены в мембране ядра клетки. Поскольку эта мембрана окружает хроматин, активация здесь ксенобиотиков и образование свободных радикалов представляет угрозу ДНК, либо вследствие прямого взаимодействия метаболитов с нуклеиновыми кислотами, либо опосредованно, путем образования реактивных метаболитов кислорода или продуктов перекисного окисления липидов - компонентов ядерной мембраны.

В образовании активных радикалов могут принимать участие также и ксантиноксидаза (участвует в метаболизме адриамицина, нитрофурантиола, параквата до продуктов их одноэлектронного восстановления), тирозиназа (в большом количестве содержащаяся в клетках меланом) участвует в образовании многих реактивных метаболитов. Цитоплазматическая диафораза и простогландинсинтетаза облегчают формирование окислительно-восстановительного цикла трансформации параквата, ацетаминофена, бензапирена и т.д.

1.4.8.1. Биологические последствия активации свободно-радикального процесса в клетке

В результате образования свободных агрессивных радикалов повреждаются самые разные структуры-мишени: липидные мембраны, свободные аминокислоты, полисахариды, нуклеиновые кислоты, рецепторные молекулярные комплексы, транспортные протеины. Итогом такого действия является изменение функционального состояния и гибель клетки, мутация её генетического кода, что, как уже указывалось, на уровне макроорганизма приводит к явлению массивной клеточной гибели (некроз), разрастанию соединительной ткани в органе (фиброз), мутагенезу, развитию новообразований в отдаленные периоды после действия токсиканта.



Характер повреждающего действия активных радикалов во многом определяется их стабильностью и расстоянием, на которое они могут мигрировать от места своего образования. В соответствии с этими признаками реактивные метаболиты могут быть разделены на несколько групп. Наивысшей реакционной способностью обладают промежуточные продукты, образующиеся в ходе так называемого "суицидного метаболизма". Эти продукты разрушают образующие их ферменты. К числу "суицидных" ингибиторов Р-450 относятся, в частности, винилгалогены, некоторые олифены, дигидропиридины, циклопропильные соединения.

Следующими по реакционной способности являются вещества, покидающие область локализации фермент-субстратного комплекса, но активно взаимодействующие с другими протеинами. Примерами веществ, действующих подобным образом, являются: ацилгалидный метаболит хлорамфеникола, электрофильный радикал серы, отщепляющийся в ходе метаболизма паратиона и т.д.

Менее реакционноспособными являются продукты, мигрирующие в другие локусы клеток и даже за их пределы. Эта группа метаболитов включает большинство промежуточных продуктов. Подобные радикалы способны проникать через биологические мембраны. Это свойство присуще метаболитам бензапирена, бромбензола, диметилнитрозамина, винилхлорида, трихлорэтилена и т.д.

Еще меньшей реакционной способностью обладают метаболиты, способные выходить за пределы органов, в которых они образуются, и повреждают другие органы и ткани. Примерами этой группы метаболитов являются: метаболит гексана - 2,5-гександион, вызывающий периферическую нейропатию, пирролизидиновых алкалоидов - пирролы, мигрирующие из печени в легкие, где действуют на эндотелий сосудов, эпоксиды 4-винилциклогексана, вызывающие поражение яичников.

Токсическое действие многих веществ сопряжено с их влиянием на состояние мембранных структур. Оно может быть прямым и опосредованным. Наиболее вероятными механизмами **опосредованного** повреждения биологических мембран при интоксикациях являются:

- активация перекисного окисления липидов;
- активация фосфолипазной активности.

Ксенобиотики, как и другие стрессорные воздействия могут **непосредственно** влиять на липидный бислой или белковые компоненты биомембран. Развивающиеся вследствие этого эффекты могут быть как неспецифичными (отсутствие строгой зависимости между структурой токсиканта и развивающимся эффектом), так и строго специфичными. Действуя в малых дозах на возбудимые мембраны нервных клеток ЦНС, органические растворители, спирты вызывают седативно-гипнотический. В действии этих соединений, помимо неспецифических, прослеживаются и отчетливые специфические механизмы. Так, вещества со свойствами "неэлектролитов" накапливаясь в мембранах, одновременно изменяют их проницаемость для ионов Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- (рис. 17).

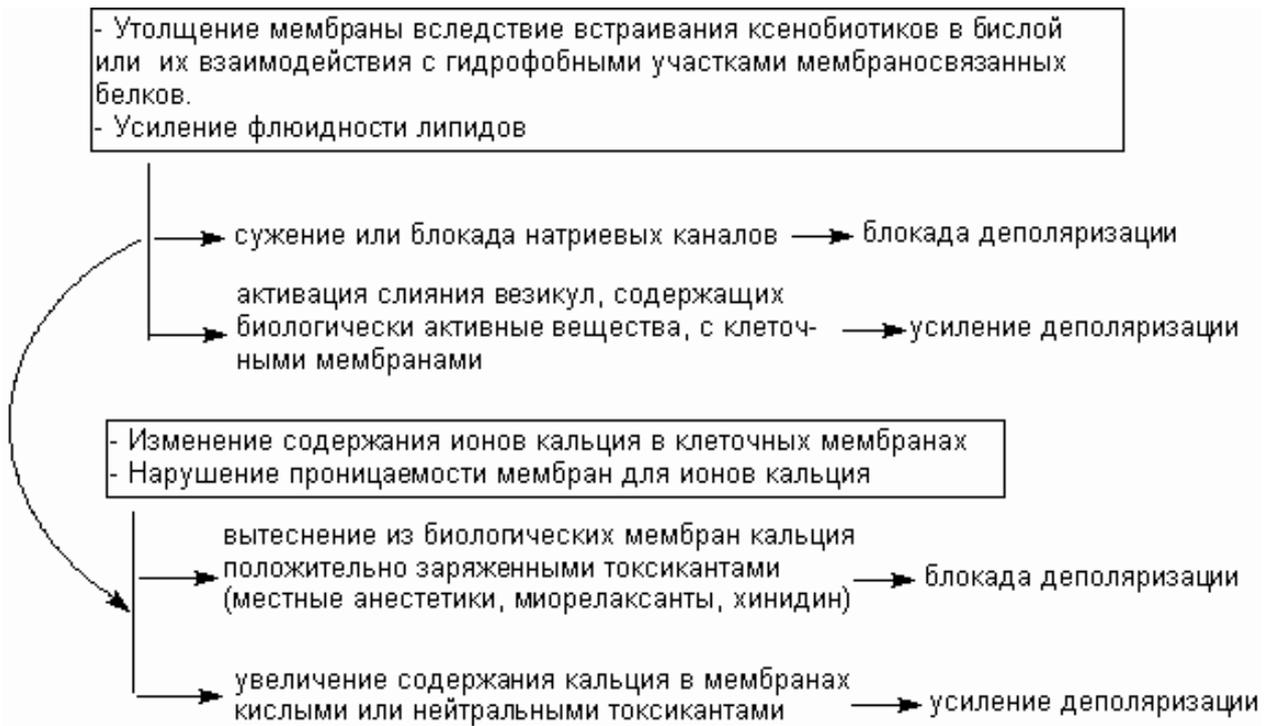


Рис. 17. Механизмы токсического действия ксенобиотиков на клеточные мембраны.

Многие токсиканты избирательно действуют на мембраносвязанные ферменты, транспортные системы, рецепторные комплексы к биологически активным веществам. К числу таких в частности относятся гликозиды, агонисты и антагонисты нейромедиаторов и гормонов, блокаторы ионных каналов и многие другие.

1.5. Бронхиальная астма и механизмы защиты органов дыхания от неблагоприятных воздействий

Генеральная задача экологической пульмонологии заключается в изыскании средств, способствующих преодолению неблагоприятных воздействий химических и физических факторов природного, техногенного и бытового происхождения [Величковский Б.Т., 1995]. Заболевания органов дыхания являются одной из наиболее важных проблем в педиатрии, поскольку до настоящего времени, несмотря на достигнутые успехи, они занимают одно из первых мест в структуре детской заболеваемости - по данным

официальной статистики, 50-73% [Domachowske J.B., Rosenberg H.F., 1999; Rodriguez W.J., 1999; Ottolini M.G., Hemming V.G., 1997]. Высокий уровень распространенности острых респираторных инфекций среди детей - важная социальная проблема, решение которой является одной из основных задач здравоохранения в педиатрии.

Известно, что дети, часто болеющие острыми респираторными инфекционными заболеваниями, составляют группы риска по развитию острых бронхитов, бронхиолитов, формированию рецидивирующих бронхитов, включая обструктивные формы, и хронической бронхолегочной патологии. Самой распространенной формой, особенно среди детей в возрасте 1-3 лет, являются бронхиты [Таточенко В.К., 1990; Артамонов Р.Г., Самсыгина Г.А., Зайцева О.В., Корнюшин М.А., 2000; Каганов С.Ю., 1999; Гавалов С.М., 1999]. Заболеваемость бронхитами, по данным ряда авторов, колеблется от 15 % до 50 %. Этот процент существенно повышается (до 50-90%) у детей, часто болеющих острыми респираторными заболеваниями, особенно в экологически неблагоприятных регионах [Почивалов А.В., 1998]. При этом у преобладающего большинства детей наблюдается обструктивный синдром.

Чувствительность рецепторов бронхов усиливается при вирусной инфекции, сопровождающейся повреждением эпителия слизистой оболочки дыхательных путей. Повышенная чувствительность бронхиального дерева к вирусной инфекции может быть связана с аллергической предрасположенностью и гиперреактивностью бронхов [Таточенко В.К., 2000]. Повторные острые респираторные заболевания могут способствовать сенсibilизации организма и создавать предпосылки для развития генерализованных реакций повышенной чувствительности, с последующим формированием рецидивирующих обструктивных бронхитов, БА и других бронхолегочных заболеваний. Выявлена взаимосвязь респираторных заболеваний с обострением БА и приоритетная роль гриппа и респираторно-синтициальной вирусной инфекции в развитии обострения БА [Таточенко В.К., 2000, Мизерницкий Ю.Л., 1992; Геппе Н.А., Каганов С.Ю., 1998].

Суммарная распространенность всех обструктивных заболеваний в отдельных регионах России составляет 12,2 на 1000 детей [Почивалов А.В., 1998]. Синдром бронхиальной обструкции наблюдается у 5-40 % детей, госпитализированных с ОРВИ [Артамонов Р.Г., 1987; Каганов С.Ю., 1998].

Эпидемиологические исследования последних лет с использованием современных критериев диагностики позволяют считать, что рецидивирующие бронхиты, особенно обструктивные формы, являются манифестацией бронхиальной астмы [Артамонов Р.Г., 1992; Геппе Н.А., Каганов С.Ю., 1998].

Независимо от способа проникновения чужеродных веществ в клетки, путем ли фагоцитоза или пиноцитоза и диффузии, одним из наиболее биологически значимых продуктов их метаболизма являются свободные радикалы [Pavia D., Bateman J.R.M., Clarke S.W., 1980]. Защита органов дыхания от неблагоприятных воздействий осуществляется несколькими взаимосвязанными системами и механизмами. К важнейшим из них относятся:

- система конденционирования вдыхаемого воздуха (нагревание, охлаждение, увлажнение);
- система самоочищения респираторного тракта (механическая очистка воздуха на поверхности верхних дыхательных путей и бронхов и удаление бронхиального секрета, содержащего экзогенные включения);
- система самоочищения дыхательной поверхности альвеол и неспецифической бактерицидной защиты легких: система метаболизма и обезвреживания токсических веществ и липофильных эндогенных макромолекул;
- система специфической иммунной защиты от инфекционных возбудителей, чужеродных макромолекул и аутоантигенов [Baosly R., et al., 1993].

Все системы поддержания гомеостаза в органах дыхания характеризуются высокой эффективностью. Так, механизмы самоочищения легких от пылевых частиц удаляют 97–98% осевшей в них пыли. Микроорганизмы и пылевые частицы, при дыхании осевшие на слизистой трахеобронхиального дерева, быстро и эффективно выводятся наружу. Пыль, отложившаяся в альвеолах, может оказаться на мукоцилиарном эскалаторе дыхательных путей только при помощи фагоцитоза [Bames P.J., 1994]. Фагоцит, таким образом, объединяет функции выведения и бактерицидной защиты, а явление фагоцитоза, открытое И.И.Мечниковым в 1883 году, представляет собой одно из важнейших звеньев невосприимчивости к инфекционным болезням. Молекулярные основы бактерицидности фагоцитоза уточняются вплоть до наших дней. Важнейшую роль в этом процессе играет кислородзависимая бактерицидная система фагоцитов, генерирующая АФК. Первоначально пыль переносится альвеолярными макрофагами в лимфоидные скопления устьев терминальных бронхиол, то есть не столько выводится, сколько концентрируется в

тех местах, где не мешает осуществлению газообмена. Лишь затем разворачивается следующая стадия процесса, приводящая к удалению пыли из легких [Baosly R., et al., 1993]. Тем самым не нарушается аэродинамика воздушных потоков в альвеолярной области и снижается опасность развития “болезней малых дыхательных путей” - бронхолитов и др. [Чучалин А.Г., 1998].

При контакте возбудителя инфекции, иммунного комплекса или пылевой частицы с мембраной фагоцита так интенсивно повышается уровень потребления кислорода клеткой, что это явление получило название “дыхательного взрыва”.



Рис. 18. Взаимосвязь этиопатических факторов и механизмов в формировании и подкреплении хронического воспаления в бронхах (“порочный круг”)

Например, при активации макрофагов пылевыми частицами кварца потребление кислорода увеличивается в 4 раза, частицами диоксида титана — в 1,5 раза. Еще больше возрастает потребление кислорода при активации макрофагов иммунными комплексами. И практически весь дополнительно поглощенный кислород не используется ни на энергетические, ни на пластические потребности клетки. Основная же часть поглощенного кислорода и энергетических ресурсов клетки расходуется на два параллельно идущих процесса: генерацию бактерицидных радикалов и работу ионных насосов, восстанавливающих ионное и осмотическое равновесие. По указанной причине происходит значительное и быстрое снижение уровня энергетической “валюты” клетки — АТФ.

Поэтому хотя общее потребление кислорода гипертрофированной клеткой увеличивается, на единицу массы оно уменьшается. В результате со временем поступление кислорода к митохондриям становится недостаточным, в клетке развивается энергодефицитное состояние. Внутриклеточная гипоксия нарушает режим работы клеток, в митохондриях начинается усиленное образование супероксидного анион-радикала, вторично нарушающее структуру и работу митохондрий и ведущее к быстрой гибели макрофага. Изменение электронной структуры молекулы кислорода, превращая его в главное оружие бактерицидной защиты клетки — АФК осуществляет особая ферментная система фагоцитов, встроенная во внешнюю клеточную мембрану, НАДФН-оксидаза.

Таким образом, первичный ответ организма на действие как микробного, так и пылевого аэрозоля стереотипен и заключается в мобилизации кислородзависимой бактерицидной системы фагоцитов [Уонер А., 1994].

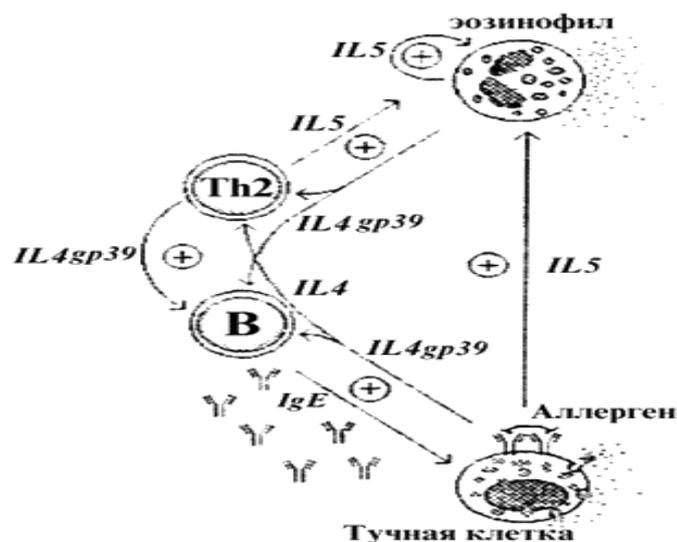


Рис. 19. Т-хелперы 2 типа (Th2), тучные клетки и эозинофилы с помощью схожего профиля цитокинов (IL4, IL5, IL13) и мембраносвязанных молекул (gp39) и секретируемых В лимфоцитами IgE антител создают сеть взаимонаправленных позитивных сигналов, поддерживающих аллергическое воспаление.

На поглощенный корпускулярный объект в фаголизосомах воздействуют высоко химически АФК и молекулы друг их бактерицидных соединений. Затем нежизнеспособный микроорганизм “переваривается” концентрированной смесью лизосомальных ферментов и осуществляется представление (процессинг) выделенного антигена на наружную поверхность мембраны макрофага. Однако если поглощенный объект — пылевая частица или микроорганизм — к этим влияниям нечувствителен, то длительно и в избыточном количестве образующиеся в процессе фагоцитоза АФК могут стать причиной развития ряда патологических изменений [Pryor W.A., Stone K., 1993].

Так, при взаимодействии с белками АФК вызывают окислительную модификацию их антигенных свойств. Этот механизм возникновения аутоантигенов отличается от хорошо известного способа образования путем присоединения гаптена и приводит к развитию аутоиммунного процесса [Spector N.H., 1996]. Последний в своей основе является иммунофизиологическим механизмом и лишь при высокой интенсивности и продолжительности появления аутоантигенов либо наследственной предрасположенности организма становится причиной развития аутоиммунных патологических изменений. Более того, АФК, частично инактивируя и изменяя соотношение протеаз и ингибиторов протеаз в легочной ткани, создают относительную недостаточность α -1-антитрипсина, чреватую опасностью развития эмфиземы и обструктивного синдрома.

При контакте с ДНК радикальные продукты нарушают ее структуру и становятся виновниками появления мутагенных эффектов и развития злокачественных новообразований. При этом гиперобразование АФК является одной из основных причин развития асептического воспаления в органах дыхания.

Обезвреживание чужеродных химических веществ, проникающих в клетки не с помощью фагоцитоза, а путем диффузии и пиноцитоза (жидкие токсические вещества, а также растворимые пары и газы) в органах дыхания осуществляется на обонятельном, бронхиальном и альвеолярном уровнях. Высокой ферментативной активностью в

процессах обезвреживания обладает апикальная часть обонятельного эпителия и клетки узелков Боумана. В респираторном тракте биотрансформация осуществляется эпителиальными клетками Кларка, количество которых возрастает в терминальных бронхиолах. В альвеолах в процессах обезвреживания задействованы альвеолярные макрофаги, лейкоциты и пневмоциты второго типа. В самом общем виде систему обезвреживания химических веществ в организме можно представить как состоящую условно из трех звеньев: биотрансформации, конъюгации и антиоксидантной защиты.

Задача первой фазы обезвреживания — биотрансформации — заключается в повышении растворимости поглощенных молекул, что облегчает их выведение из организма. Главная роль в реакциях первой фазы принадлежит ферментам монооксигеназам, основным компонентом которых является цитохром Р-450. При этом происходит образование не только нетоксичных, но и токсичных метаболитов, в том числе АФК.

Во второй фазе детоксикации как нетоксичные, так и токсичные метаболиты в результате ферментативной реакции конъюгации присоединяют глюкуроновую кислоту или другие акцепторы. Образующиеся растворимые соединения выводятся из организма. Однако токсичные метаболиты успевают частично взаимодействовать и с другими эндогенными макромолекулами — с ДНК, оказывая на них канцерогенное влияние, с белками, выступая в роли гаптенных и придавая им свойства химических аллергенов техногенной природы.

Третье звено системы обезвреживания ксенобиотиков включает в себя ферментативные и неферментативные средства защиты от токсического действия АФК, возникающих как на первых этапах обезвреживания, так и образующихся под влиянием веществ, обладающих прооксидантными свойствами — озона, оксидов азота и других. Выход высокотоксичных АФК при этом может быть столь значительным, что именно ими определяются пагубные последствия и клинические проявления воздействия исходного ксенобиотика [Тиунов Л.А., 1987].

В основе возникновения гиперреактивности бронхов при бронхиальной астме лежит такой же механизм инактивации фермента АФК, что и при развитии обструктивного синдрома. Не случайно у больных бронхиальной астмой в выдыхаемом воздухе повышено содержание пероксида водорода и оксида азота. Избыток их в легких способен частично инактивировать ферменты, оказывающие влияние на тонус гладкой мускулатуры бронхов.

Весь вопрос в том, что это за фермент? Наиболее подходящим на подобную роль представляется Na, К-АТФаза гладкомышечных клеток бронхов. Частичная инактивация данного фермента приведет к повышению содержания ионов натрия в цитозоле миоцитов и появлению обусловленной этой причиной гиперчувствительности к констрикторным и, напротив, резистентности к дилататорным влияниям [Чучалин А.Г., 1998].

Воспалительный процесс при БА затрагивает все структуры стенки бронха: эпителиальный покров, базальную мембрану, бронх-ассоциированные лимфоидные узелки, сосуды, гладкие мышцы, причем каждая из указанных структур реагирует по-своему. На аутопсийном материале показана большая степень десквамации эпителиальных клеток, которые вместе с эозинофилами и бронхиальным секретом выполняют просвет дыхательных путей [Wilder R.L., 1995]. Считают, что десквамация эпителиальных клеток происходит под действием протеинов, синтезирующихся гранулами эозинофилов и их высвобождение наступает при дегрануляции последних [Величковский Б.Т., 1995]. Базальная мембрана сильно изменена: отечна, утолщена на всем протяжении, основное вещество дезорганизовано. Серозные и бокаловидные клетки гипертрофированы, соотношение эпителиальных и бокаловидных клеток изменено в пользу последних. Сосудистая проницаемость венул и капилляров стенки бронхов заметно изменена. Описываемая морфологическая картина в значительной степени специфична для бронхиальной астмы и свидетельствует о том, что в основе болезни лежит воспаление, персистирующий характер которого подчеркнут и в определении болезни [Мануйлов Б.М., 1994].

Основным иммунологическим маркером сенсibilизации при БА является повышение общего уровня IgE в сыворотке крови больного и наличие специфических IgE антител к экзоаллергенам. В норме концентрация IgE очень низкая и составляет у здоровых людей примерно 0,00005 г/л, что приблизительно в 100000-200000 раз ниже нормального уровня IgG. IgE фиксируется своим Fc-фрагментом к специфическим рецепторам. На поверхности тучных клеток и базофилов экспрессирован высокоаффинный рецептор к Fc фрагменту молекулы IgE, так называемый Fc-эпсилон рецептор 1 типа или Fc-эпсилон-RI [Abdelilah

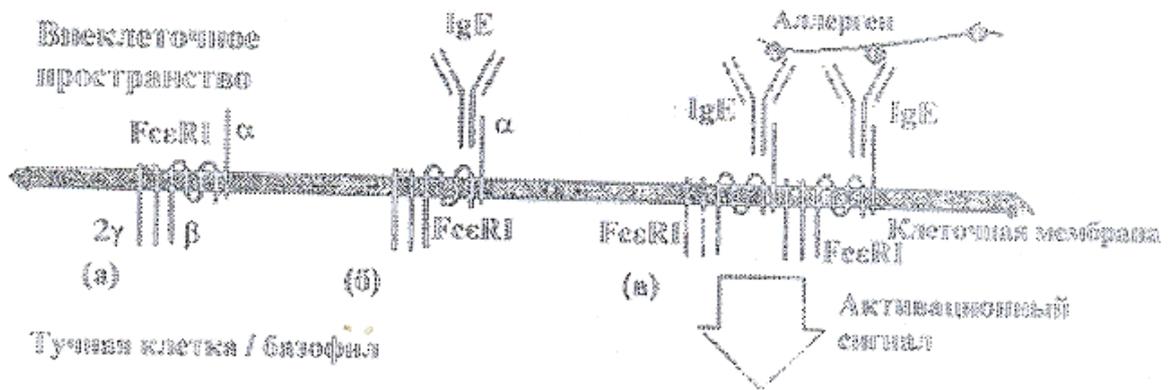


Рис. 20. Структура и функция высокоаффинного IgE рецептора.

Существенная часть общего IgE фиксирована на тучных клетках и базофилах. В отличие от других рецепторов, которые соединяются с Fc-эпсилон регионом антител только тогда, когда они сцеплены с антигеном, Fc-эпсилон-R1 прикрепляет мономерную молекулу свободного IgE. Однако это не приводит к его активации. Для активации рецептора и передачи сигнала несущей его клетке необходима агрегация Fc-эпсилон-R1. Она достигается при распознавании фиксированными к рецептору молекулами IgE поливалентного антигена (аллергена). Кроме Fc-эпсилон-R1 существует второй тип рецептора, сродство которого к IgE примерно в 100 раз ниже, чем у рецептора 1 типа. Это так называемый низкоаффинный рецептор IgE: Fc-эпсилон-R11. Существует две формы этого рецептора, альфа и бета IgE: Fc-эпсилон-R11b экспрессируется главным образом зрелыми В-клетками и моноцитами под воздействием интерлейкина (IL)-4. Fc-эпсилон-R11 существует в растворимой форме, являющейся лигандом CD21, увеличивающим синтез В-лимфоцитами IgE.

- (а) F-эпсилон-R1 состоит из цепей α , β и γ ; (б) альфа цепь связывает мономерный IgE; (в) активация тучной клетки происходит при агрегации с F-эпсилон-R1 за счет агрегации IgE при распознавании поливалентного аллергена.

Сигнальный каскад очень быстро, в течение одной минуты приводит к активации тучной клетки (базофила) и секреции преформированных и вновь образующихся биологически активных веществ — медиаторов аллергии [Giembycz M.A., Lindsay M.A., 1999]. Этот феномен благодаря морфологической перестройке клетки получил название дегрануляции тучной клетки или базофила [Desreumaux P., Caron M., 1996]. В результате активации тучной клетки происходит высвобождение серии уже имеющихся липидных соединений (гистамина), а также образующихся вновь медиаторов, к которым относятся простагландины E₂ и F₂- α , тромбоксан A₂, а также фактор активации тромбоцитов и лейкотриены (LT) — LTB₄, LTD₄, LTC₄, LTE₄ (табл. 3) [Fishman S., Hobbs K., Borish I., 1996; Giembycz M.A., Lindsay M.A., 1999].

Таблица 3. Основные медиаторы воспаления при бронхиальной астме

Основные медиаторы тучных клеток и базофилов	
Медиаторы <i>Преформированные:</i>	Фармакологические эффекты
Гистамин	Повышает сосудистую проницаемость, сокращает гладкую мускулатуру бронхов. усиливает продукцию слизи
Нейтральные протеазы (триптаза, Химотриптаза, карбоксипротеаза)	Роль при аллергии не ясна: различные популяции клеток продуцируют разные ферменты
<i>Синтезируемы de novo:</i>	
<i>Липидные:</i>	
LTC ₄ , LTD ₄ , LTE ₄	Повышает сосудистую проницаемость, сокращает гладкую мускулатуру бронхов. усиливает продукцию слизи
LTB ₄	Хемотаксис нейтрофилов
ПГЕ ₂ /ПГФ _{2α}	Сокращает гладкую мускулатуру бронхов
TXA ₂	Вызывает вазоконстрикцию, сокращает гладкую мускулатуру бронхов, агрегацию тромбоцитов
PAF	Повышает сосудистую проницаемость, сокращает гладкую мускулатуру бронхов, вызывает хемотаксис и активацию эозинофилов и нейтрофилов, агрегацию тромбоцитов
<i>Цитокины:</i>	
Ил-4	Стимуляция гуморального (Th2) и ингибция клеточного (Th1) иммунного ответа. переключение В-клеток на синтез IgE, стимуляция экспрессии VCAM-1 эндотелиальными клетками, активация фибробластов
Ил-5	Активация эозинофилов
α-TNF	Стимуляция экспрессии ICAM-1 эндотелиальными клетками
Сокращения: ПГЕ ₂ /ПГФ ₂ (— пристатдндины E2 и F2), лейкотриены : LTB ₄ . 1-TC ₄ , LTD ₄ . LTE ₄ — лейкотриены B ₄ . LTC ₄ . LTD ₄ и LTE ₄ : TXA ₂ - тремооксан A ₂ , PAF — фактор активации тромбоцитов, Ил — интерлейкин: Th1. Th2 — Т хелперы 1 и 2 типов; ICAM –I молекулы адгезии: TNF-альфа фактор некроза опухоли альфа	

С действием этих медиаторов связывают немедленный ответ — острый бронхоспазм, отек слизистой бронхов, гиперсекрецию бронхиальной слизи при астме. Эти же медиаторы (главным образом фактор активации тромбоцитов [Kagoshima M, et al., 1997] и LTB₄ [Kajita T., et al, 1985]) ответственны, в свою очередь, за продолжительную активацию эозинофилов, нейтрофилов, тромбоцитов и Т-лимфоцитов, формирование воспаления в тканях и развитие отсроченной реакции [Giembycz M.A., Lindsay M.A., 1999]. У больных БА повышенный уровень лейкотриенов обнаружен в плазме, бронхиальном секрете, бронхоальвеолярной лаважной жидкости. Показана выраженная корреляция уровней LTC₄ и LTD₄, высвобождаемых из стимулированных лейкоцитов *in vitro* и тяжестью заболевания при БА у детей и подростков [Kajita T., et al, 1985; Hirata K, Maghni K., Borgeat P., Sirois P. , 1990].

Наименее ясным является вопрос, что именно при аллергии и БА создает "сигнальный фон" приводящий к начальному коммутированию Th0 клеток в Th2 направлении. Тучные

клетки могут играть активную регулируемую роль в формировании Th2/IgE опосредованного иммунного ответа при бронхиальной астме [Martin R.J., 1995].

Три основных класса Т хелперов

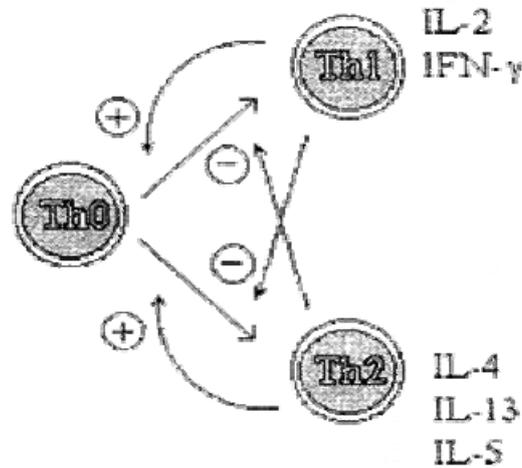


Рис. 21. Три основных класса Т-хелперов (CD4⁺). Цитокины Th1 клеток способствуют дифференцировке Th0 в Th1 и подавляют развитие Th2, цитокины Th2, напротив способствуют дифференцировке Th2 и подавляют Th1.

Однако, учитывая необходимость первичной сенсibilизации тучных клеток, можно предположить, что их регулирующая активность сводится к усилению Th2 зависимого иммунного ответа и привлечению клеток - посредников воспаления (эозинофилов) [Desreumaux P., Carpon M., 1996].

Регуляция активности эозинофилов в бронхах, по-видимому, зависит в первую очередь от Т-лимфоцитов (Th2) и таких их цитокинов, как Ил-5, GM-CSF, Ил-3 [Hessel E.M., et al, 1998]. Источником этих цитокинов, кроме Th2 клеток, могут быть тучные клетки и сами эозинофилы (аутокринная регуляция) [Dutton P.W., Swain S.L., 1999; DeSanctis G.T., et al., 1997]. Биологически активные продукты эозинофилов кроме повреждающего могут оказывать регулирующее действие. В дополнение к уже разобранным эффектам следует отметить возможность секреции Ил-8; он специфически вызывает хемотаксис нейтрофилов. Кроме того, эозинофилы могут активировать тучные клетки и, возможно, фибробласты. CD4⁺ лимфоцит может спонтанно приобретать Th2 фенотип. В работах последних двух лет показана возможность секреции Th0 клеткой в нейтральных условиях Ил-4, приводящего к спонтанной дифференцировке в лимфоцит, продуцирующий Th2 профиль цитокинов. Таким образом, сам Т-лимфоцит может выступать в роли клетки, инициирующей формирование Th2/IgE варианта иммунного ответа [Giembycz M.A., Lindsay M.A., 1999]. Экстрацеллюлярные антигены, по-видимому,

привлекают другие типы клеток, которые могут быть источником Ил-4. Ил-4, как уже упоминалось, дифференцирует пролиферирующие CD4+ Т-лимфоциты в направлении Th2 клеток, подавляет их дифференцировку в Th1 клетки и, по-видимому, является ключевым цитокином в организации синтеза IgE (в эксперименте мыши с разрушенным геном, кодирующим Ил-4 оказались неспособными продуцировать IgE). Среди CD8+ лимфоцитов есть клетки, вырабатывающие Th1 и Th2 подобный профиль цитокинов [Daser A., Meissner N., Herz U., 1995]. Последние гипотетически могут играть роль как в регуляции дифференцировки Th0 в Th2. так и в привлечении эозинофилов к месту аллергического воспаления [Giembycz M.A., Lindsay M.A., 1999].

При БА эозинофилы часто обнаруживаются в большом количестве в жидкости бронхоальвеолярного лаважа, а также в биопсийном и аутопсийном материале. Они определяются не только во время обострения, но и в ремиссии заболевания. При обострении заболевания выявляются признаки активации эозинофилов и повышенной секреции ими медиаторов (рис. 20, 21), среди которых следует выделить высокотоксичные основные белки, такие как главный основной протеин (major basic protein - МБР) и эозинофильный катионный протеин (eosinophil cationic protein - ЕСР) [Giembycz M.A., Lindsay M.A., 1999]. Уровень эозинофильного катионного белка в биологических средах организма является в настоящее время одним из самых информативных маркеров аллергического воспаления.

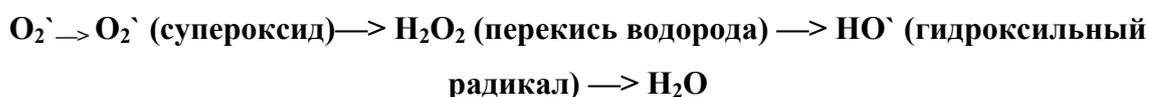
Острая аллергическая реакция наступает в течение нескольких минут после контакта с причинным аллергеном и длится 30-40 минут. В изолированном виде она встречается у некоторого количества больных БА. В большинстве случаев отмечается более сложная и комплексная реакция на провокацию: после нескольких (3-12) часов благополучного периода наступает постепенное ухудшение бронхиальной проходимости, получившее название *реакции поздней фазы* или *отсроченной реакции*.

Реакция поздней фазы отмечается в ответ на ингаляционную провокацию причинным аллергеном у 60-70% больных БА, развивших немедленную реакцию. С одной стороны, наличие реакция поздней фазы жестко ассоциировано с характерным признаком бронхиальной астмы — феноменом бронхиальной гиперреактивности. С другой стороны, реакция поздней фазы характеризуется появлением уже описанных выше признаков воспалительных изменений со стороны слизистой оболочки дыхательных путей, с инфильтрацией воспалительными клетками. Отмечается второй пик повышения концентрации гистамина не сопровождающийся, однако, повышением концентрации

простагландинов и триптазы, что указывает на его базофильное происхождение. Отмечается повышение уровня продуктов эозинофилов — МБР, ЕСР, цитокин Ил-5. Специфическая иммунотерапия и противовоспалительная терапия кортикостероидами эффективны главным образом в отношении выраженности реакции поздней фазы и не оказывают существенного влияния на немедленную реакцию [Kaiser J., Bickel С.А., Bochner В.С., Schleimer R.P., 1993].

Таким образом, выявляется связь между четырьмя характеристиками болезни: клиникой БА, бронхиальной гиперреактивностью, наличием воспалительных изменений в дыхательных путях и реакцией поздней фазы. Комплексное влияние некоторых биологически активных соединений во время реакции поздней фазы хорошо согласуется с находками в воспалительном очаге. Например, Ил-4 может вызывать адгезию эозинофилов, но не нейтрофилов, а Ил-5 в сочетании с Ил-3 и GM-CSF (гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор) активирует эозинофилы, поступившие в ткань [Kameyoshi Y. et al., 1992]. Кроме того, некоторые представители новой группы соединений, хемокинов, такие как MIP-1 альфа и RANTES (макрофагального и эпителиального происхождения) [Kakazu T., Chihara J., Saito A., Nakajima S., 1995], судя по экспериментальным данным также могут рекрутировать и аккумулировать эозинофилы в дыхательных путях [Чучалин, 1998]. Точное представление об участии молекул адгезии в аллергическом воспалении позволяет рассматривать их как потенциальную терапевтическую мишень при лечении аллергии и астмы [Abdelaziz M.M., et al, 1997].

Вторичная недостаточность антиоксидантных ферментов, выявляющаяся при бронхиальной астме, может приводить к *увеличению уровня свободных радикалов* (рис. 22), образующихся в процессе НАДФН оксидазного пути метаболизма кислорода:



Кроме прямого повреждающего действия на клетки тканей дыхательных путей, АФК, по-видимому, способны индуцировать секрецию хемокинов, что приводит к усилению инфильтративного компонента воспаления.

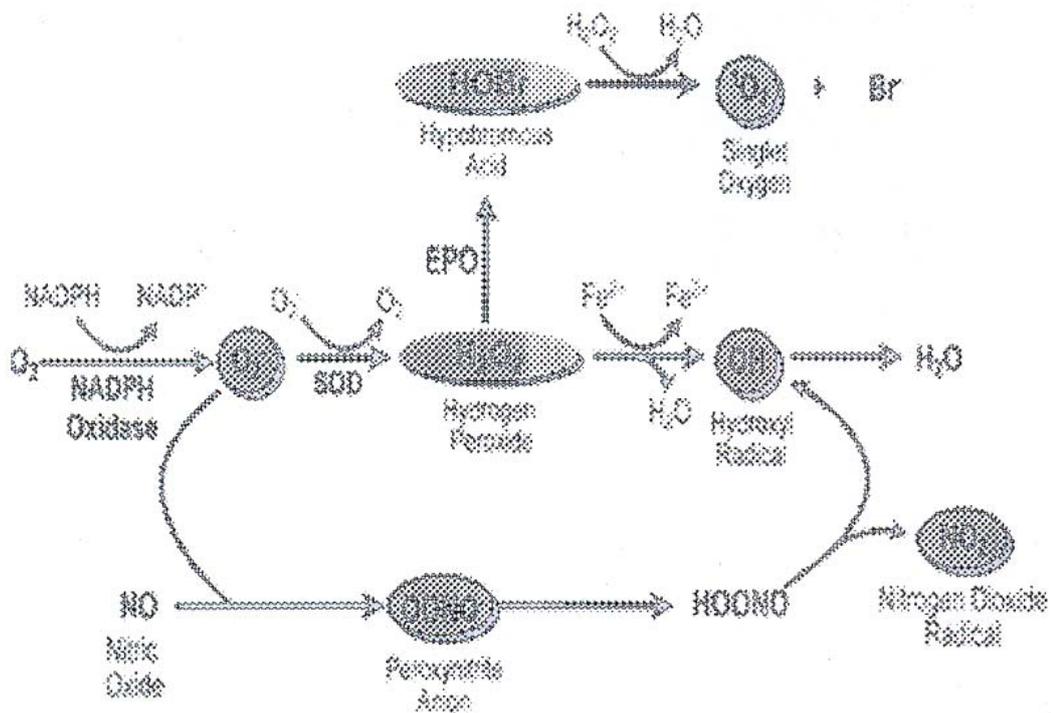


Рис. 22. Механизмы образования свободных радикалов в эозинофилах и других фагоцитах в результате активации НАДФН-оксидазы с генерацией супероксидного аниона [Giembycz M.A., Lindsay M.A., 1999].

1.5.1. Роль ионов кальция в реализации аллергических реакций при бронхиальной астме

Анализ хода высвобождения медиаторов из тучных клеток показал, что перекрестное стягивание антигеном двух молекул IgE на поверхности клеток приводит к активации мембранных ферментов, которые ускоряют процесс метилирования мембранных фосфолипидов (рис. 11). В процессе реакции происходит перераспределение жирных кислот фосфолипидов в клеточной мембране и, вследствие этого, локальное изменение ее структуры, что, в свою очередь, способствует формированию "кальциевых ворот" и поступлению ионов кальция в клетку через так называемые кальциевые каналы [Blaustein M. P., Lederer W.J., 1999]. Повышение внутриклеточной концентрации кальция

происходит за счет входа по этим каналам катиона в клетку. Важное значение имеет мобилизация кальция из внутриклеточных депо. Кальций приводит к активации Са-зависимых регуляторных белков, одним из которых является кальмодулин [Anderson S. E., et al., 1991]. Комплекс Са-кальмодулин индуцирует переход мембранной проэстеразы в химотрипсин-зависимую эстеразу. активирует аденилатциклазу, Ca^{2+} и Mg^{2+} -АТФ-азу, которая, в свою очередь, гидролизует мембранные фосфолипиды до лизофосфатидов и жирных кислот. В результате этих процессов происходит образование каналов между клеточными и перигранулярными мембранами и выброс содержимого гранул во внеклеточное пространство [Balasubramanyam M., et al., 1994].

Возможно, активирующим сигналом для антиген-зависимого высвобождения медиаторов является первичное увеличение ионов кальция в цитоплазме. Для высвобождения медиаторов необходим не только вход Ca^{2+} , но и его мобилизация из внутриклеточных депо — митохондрий, эндоплазматического ретикулума. Существует строгая зависимость образования лейкотриенов от присутствия ионов кальция [Simchowit L., Foy M.A., Cragoe E.J., 1988; Soldati L., Persechini P.M., 1988; Ueda T., 1983]. Снижение Ca^{2+} в межклеточной среде обнаружено подавление синтеза лейкотриенов. В то же время 5-липоксигеназа — инициальный фермент на пути синтеза лейкотриенов заметно стимулируется под действием Ca^{2+} [Dale W. E., Sihowitz L., 1991; Donnadieu E., Trautmann A., 1993].

Таким образом, Ca^{2+} действует не только как важный триггер при высвобождении медиаторов из тучных клеток, активированных под влиянием иммунологических и неиммунологических стимулов, но и участвует в синтезе этих медиаторов [Blaustein M. P., Lederer W.J., 1999].

При БА у детей и подростков имеет место нарушение процессов перемещения кальция в иммунокомпетентных клетках, образование и выхода из клеток медиаторов аллергии и возникновение в этой связи клинических проявлений заболевания. Показано существенное усиление перемещения мембраносвязанного кальция в лимфоцитах периферической крови *in vitro* под воздействием неспецифической (конканавалин А) стимуляции клеток у детей, больных atopической астмой [Dale W. E., Sihowitz L., 1991; Donnadieu E., Trautmann A., 1993; Johansen T., Knudsen T., Bertelsen H., 1990]. Этот феномен наблюдался при различной тяжести и в различные периоды заболевания. У больных БА отмечено увеличение числа лимфоцитов, связывающих комплекс Ca^{2+} -хлортетрациклин (хлортетрациклин — индикатор Ca^{2+}), что объяснялось повышенным содержанием катиона в мембране иммунокомпетентных клеток.

1.5.2. Биологические маркеры бронхиальной астмы

Учение о биомаркерах — новое направление в медицинской теории последних лет. По определению Национальным Институтом Сердца и Легких США (1996) “Биологические маркеры — это количественно определяемые биологические параметры, которые как индикаторы определяют здоровье, риск заболевания, эффекты окружающей среды, диагностику заболевания, метаболические процессы, эпидемиологию и т.д.” Применительно к бронхиальной астме таким показателем являются морфологические и функциональные изменения эозинофила [Giembycz M.A., Lindsay M.A., 1999].

Известные биологические маркеры бронхиальной астмы

- Обратимая обструкция дыхательных путей. Эозинофильная инфильтрация
- Повышение уровня эозинофильной пероксидазы, катионного протеина, протеина гранул
- Высокий уровень IgE в сыворотке крови
- Повышенная концентрация оксида азота (NO) в выдыхаемом воздухе

Большое значение в качестве биомаркера в последнее время придается уровню оксида азота (NO) в выдыхаемом воздухе. NO играет важную роль в регуляции функций легких и в патофизиологии заболеваний системы дыхания [Belvisi M.G., et al., 1995]. В полости носа и респираторном тракте NO[•] обуславливает рефлекторное расширение сосудов слизистой при вдыхании холодного воздуха с целью его обогрева и увлажнения. В легких NO производится под влиянием eNOS в эндотелиальных клетках легочной артерии и вены, в ингибиторных неадренергических-нехолинергических нейронах. NO[•] - газ, обладающий свойствами свободного радикала, благодаря непарному электрону на внешней орбитали. В организме он синтезируется ферментом NO[•]-синтазой, локализованной главным образом в эндотелии сосудов и нервных окончаниях, а также в клетках соединительной ткани — макрофагах, нейтрофилах и фибробластах. В эндотелии сосудов фермент активируется нервным импульсом, очень быстро синтезирует NO[•], вызывающего расслабление миоцитов сосудистой стенки. Таким образом, NO[•] участвует в передаче нервного сигнала и регуляции тонуса сосуда.

У здоровых детей и взрослых в образовании эндогенного NO^- преимущественно участвуют верхние дыхательные пути. При этом в полости носа образуется более 90% NO и 50-70% образовавшегося NO^- аутоингалируется и попадает в легкие. Нижние дыхательные пути также участвуют в образовании NO , но в воздухе из нижних дыхательных путей количество газа значительно меньше, чем в воздухе, находящемся в полости носа и рта [Невзорова В.А., Зуга М.В., Гельцер Б.И., 1997]. Полагают, что вырабатываемый конститутивно верхними отделами дыхательных путей NO^- необходим для поддержания воздухопроводимости этого отдела легких. Более поздние исследования показали, что в дыхательных путях cNOS характеризуется высокой гомологичностью к индуцибельной нитратсинтазы (iNOS) и присутствует в эпителиальных клетках [Невзорова В.А., Зуга М.В., Гельцер Б.И., 1997]. NOS представлена в эпителии воздухоносных путей. Эпителий трахеи, бронхов и бронхоальвеол человека НАДФ-Н-диафораза-реактивен, что является идентичным cNOS [Busse R., Mulsch A., 1990].

Продуцируемый в результате активации NO iNOS прежде всего предназначен для защиты организма хозяина, он способствует снижению активности пограничных воспалительных клеток, гибели микроорганизмов и внутриклеточных паразитов, тормозя агрегацию тромбоцитов и улучшая местное кровообращение. Оксид азота, возникающий при активации фагоцитов, также изменяет тонус сосудов, расширяя их в очаге воспаления. В то же время, в очаге воспаления накапливается продукт частичного восстановления кислорода - супероксид, количество которого при патологических ситуациях достигает 0,01-0,1 мМ. NO^- и супероксид-анион подвергаются быстрому радикал-радикальному взаимодействию с образованием медиатора окислительного клеточного повреждения – пероксинитрита (рис. 13), ONOO^- , обладающего одновременно выраженным бактерицидным действием [Ballinger S.W., et al., 2000]. Причем NO^- реагирует с супероксидным анион-радикалом в три раза быстрее, чем нейтрализующий его фермент СОД. Это позволяет NO^- успешно конкурировать за образование бактерицидных продуктов. По-видимому, пероксинитрит, как и пероксид водорода, участвует в образовании высокотоксичного гидроксильного радикала. NO^- легко проходит через внешнюю и внутреннюю мембраны клеток и, оказавшись внутри клетки, он повреждает структуру ДНК клетки-мишени путем ее дезаминирования, а также ингибиции рибонуклеотидредуктазы [Lepoivre M., et al., 1991;], которая регулирует скорость репликации ДНК, вызывая мутагенные эффекты и развитие новообразований [Johnson T.M., et al., 1996]. Кроме того, NO^- инактивирует глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу, блокируя этим гликолитический синтез АТФ, и ингибирует электронный транспорт в

митохондриях [Lowenstein C.J., Dinerman J.L., Snyder S.H., 1994]. Это и объясняет ее цитотоксическое действие на клетку - мишень.

Следовательно, NO, избыточно накапливаясь в клетке, может вызывать повреждение ДНК и давать провоспалительный эффект при эндотоксемии, септическом шоке, воспалительных заболеваниях легких, остром легочном повреждении при респираторном дистресс-синдроме [Невзорова В.А., Зуга М.В., Гельцер Б.И., 1997]. В свою очередь, пероксинитрит под влиянием двухвалентного иона железа окисляется с образованием ОН[•] и диоксида азота.

Таким образом, одним из источников оксида азота являются вовлеченные в воспалительный процесс эпителиальные клетки. Вместе с тем установлено, что NO может выступать в роли нейротрансмиттера, опосредуя эффекты так называемых неадренергических-нехолинергических нейронов (NANC-нейроны), которые, наряду с холин- и норадренергическими проводниками автономной нервной системы, могут представлять третий тип нервной системы [Garthwaite J., Boulton C.L., 1995]. Этот тип нейронов называют еще нитринергическими, и они описаны в сердце, пищеварительной системе и в дыхательных путях, где они иннервируют как сосудистую, так и внесосудистую гладкую мускулатуру. Стимуляция NANC-нейронов приводит к биосинтезу и выделению ими NO, который посредством цГМФ вызывает, например, бронходилатацию [Невзорова В.А., Зуга М.В., Гельцер Б.И., 1997], глубокую релаксацию артериальных сосудов, адаптивную релаксацию желудка, гладких мышц нижней части пищевода и гладких мышц двенадцатиперстной кишки, а также циркулярной мышцы тонкой кишки, что обеспечивает перистальтику и передвижение пищевых масс вдоль кишечника [Grinder J.R., 1995].

В патофизиологии бронхиальной астмы нарушение продукции и/или разрушение NO имеет большое значение в возникновении гиперреактивности дыхательных путей. Огромный интерес к NO связан также с возможностью использования его в качестве терапевтического агента. Во многих случаях ингаляции NO устраняют легочную вазоконстрикцию, связанную с гипоксией, первичной легочной гипертензией, сердечными пороками, персистирующей гипертензией новорожденных и респираторным дистресс-синдромом. В отличие от других известных вазодилататоров, которые могут вызывать системную гипотонию, ингаляции NO не дают системного эффекта и улучшают артериальную оксигенацию. Ингаляции экзогенного NO могут рассматриваться в качестве альтернативной терапии бронхоспазма [Невзорова В.А., Зуга М.В., Гельцер Б.И., 1997].

Показана корреляционная зависимость концентрации NO в воздухе, выдыхаемом больными БА, не принимающими кортикостероидных препаратов, и интенсивностью воспаления в дыхательных путях [Weinberger B., Heck D.E., Laskin D.L., Laskin J.D., 1999; 2001]. Этот показатель достаточно чувствителен для контроля за эффективностью базисной терапии. Характер воспалительных изменений, биомаркеры этого процесса в совокупности с патофизиологическими изменениями и клинической картиной позволяют отнести БА к самостоятельной нозологической форме патологии человека.

1.5.3. Нейрогенная регуляция дыхательных путей.

Причиной изменения бронхиального тонуса считается нарушение равновесия между возбуждающими (холинергическая, нехолинергическая и альфа-адренергическая система) и ингибирующими (бета-адренергическая и неадренергическая ингибирующие системы) [Bames, 1992]. Среди транмиттеров в системе нервного контроля за тономусом бронхиального дерева важное место занимают нейропептиды: субстанция P и вазоактивный интестинальный пептид. Субстанция P - нейротрансмиттер нехолинергических возбуждающих нервов рассматривается в настоящее время как основной медиатор нейрогенного воспаления, способный вызывать такие патофизиологические реакции, как отек, гиперсекрецию слизи, бронхоспазм. Необходимо подчеркнуть, что нейрогенное воспаление с участием нейропептидов может сопровождать и усугублять уже имеющееся аллергическое воспаление, инициатором которого является реакин-зависимая реакция. Имеются факты взаимной связи аллергического и нейрогенного воспаления. Чувствительные нервные окончания, в особенности окончания немиелинизированных C-волокон, несущие субстанцию P, нейрокинин A и другие, связанные с ними нейропептиды, могут активироваться под влиянием медиаторов воспаления (брадикинина, гистамина, ФАТ, лейкотриенов), включая в патогенез астмы механизм аксон-рефлекса и создавая таким образом порочный круг, усиливая и распространяя первоначальное воспаление. Многие неспецифические стимулы (например, дым, двуокись серы) провоцируют рефлекторный бронхоспазм с участием сенсорных окончаний, высвобождающих вещество P. Показано, что при длительно сохраняющемся воспалительном процессе происходит пролиферация нервных волокон, несущих субстанцию P с увеличением высвобождения нейропептида. Эффекты нейрогенного воспаления, проявляющиеся в процессе заболевания, влияют на его тяжесть и течение.

Основным нейротрансмиттером неадренергической — нехолинергической системы является вазоактивный интестинальный пептид. Известно, что вазоинтестинальный пептид является важным регулятором бронхиального тонуса, наиболее мощным эндогенным бронходилататором из известных в настоящее время и способен противодействовать бронхоспазму при астме. Вероятно, что дисфункция в VIP системе может возникнуть вторично в процессе воспаления дыхательных путей при астме. С усиленной деградацией этого нейропептида может быть связано формирование гиперчувствительности дыхательных путей и рефлекторный бронхоспазм у больных бронхиальной астмой. VIP, как и β_2 -агонисты, повышает уровень цАМФ в дыхательном эпителии. Появление данного нейропептида в системе регуляции является наглядным примером функционального единства нейроэндокринной регуляции при БА.

Необходимо также отметить, что в реализации эффектов нейропептидов важное значение имеет активность нейтральной эндопептидазы - энзима, находящегося на поверхности, содержащих рецепторы для нейропептидов, эпителиальных клеток бронхов, гладкомышечных клеток, эндотелиальных клеток. Нейтральная эндопептидаза расщепляет и инактивирует нейропептиды, ограничивая таким образом их концентрацию на рецепторах клеточной поверхности, и модулирует ответ клеток-мишеней. Изменение активности нейтральной эндопептидазы также может иметь значение при обострении БА.

Основные исследования в генезе БА касались β_2 -адренорецепторов в гладкой мускулатуре. Дефект адренорецепции, присущий больным с бронхиальной астмой, является конституциональным признаком, характерным для атопии A.Szentivanyi. Радиографическое их картирование показывает, что они относятся к β_2 -подтипу и присутствуют на всех уровнях респираторного тракта. В эпителиоцитах высок уровень м-РНК β_2 -адренорецепторов, то есть высока интенсивность транскрипции, β_2 -адреноагонисты повышают транспорт ионов через эпителий, частоту биения ресничек и, соответственно, мукоцилиарный клиренс.

Влияют ли агонисты на секрецию медиаторов и цитокинов — не ясно. Этот вопрос весьма значим, ибо ингалируемые агонисты β_2 -адренорецепторов способны достигать дыхательного эпителия в высоких концентрациях. До конца не определена связь β_2 -адренорецепторов с ионными каналами, не выявлена регуляция рецепторных структур [Terran L.M., Davies D.E., 1996]. С другой стороны, стероиды повышают экспрессию β_2 -адренорецепторов за счет усиления генной транскрипции. Терапия малыми дозами

стероидов может предотвратить дисрегуляцию агонисты β_2 -адренорецепторов, наступившую в результате постоянного применения агонистов β_2 -адренорецепторов.

Известно, что α -адренорецепторы по своей природе делятся на два подтипа: α_1 и α_2 . α_1 -адренорецепторы локализируются в постсинаптических мембранах (в сосудах и гладкой мускулатуре дистальных бронхов, вероятно ими и обусловлена слабая α -стимулированная бронхоконстрикция). α_2 -рецепторы расположены внесинаптически в стенке сосудов (в рамках этого обсуждения не рассматриваются пре- и постсинаптические α_2 -рецепторы в ЦНС). Противоотечное действие α -стимуляторов реализуется, во-первых, непосредственным α_1 -постсинаптическим действием в микрососудах слизистой бронхов, во-вторых, непосредственным α_2 -внесинаптическим действием в сосудах, а также α_2 -стимуляцией, приводящей к высвобождению норадреналина, оказывающего преимущественно α_1 -стимулирующее действие. В случае с бронхиальным деревом α -адреностимуляция приводит преимущественно к противоотечному эффекту в результате сужения сосудов слизистой оболочки бронхов.

Поскольку основным механизмом противоотечного действия адреналина является сужение сосудов микроциркуляторного русла и уменьшение их проницаемости, то можно уверенно утверждать, что выраженная бронхоконстрикторная реакция после ингаляции адреналина развивается вследствие стимуляции α -адренорецепторов сосудов слизистой и уменьшения ее отека с последующим перемещением слизистых пробок из периферических бронхов, а не стимуляцией α -рецепторов гладкой мускулатуры. Если бы возникновение α -стимулированной бронхоконстрикции было вызвано стимуляцией α -рецепторов бронхиальной мускулатуры, то назначение отхаркивающей терапии по различным схемам (пероральной или ингаляционной) не оказывало бы существенного влияния на эту реакцию. Данное объяснение механизма развития α -стимулированной бронхоконстрикции хорошо согласуется, во-первых, с предположением о постоянстве противоотечного эффекта адреналина, во-вторых, с давно существующим мнением о том, что в обструкции периферических бронхов преобладающим механизмом является не спазм, а отек слизистой с obturацией их слизистыми пробками, и, в-третьих, с имеющимися в клинической практике случаями ухудшения состояния пациентов после введения им адреналина [Парсонс Г.Х., 1984]. Что касается слабой α -стимулированной бронхоконстрикции, то, поскольку она обратима холинолитиками, ее следует считать рефлекторной. Эта реакция в силу рефлекторного механизма возникновения может быть обусловлена не только механическим (движение

слизистых пробок), но и физическим (осмотическим) или химическим (изменение pH) воздействием ингалируемых α -стимуляторов на слизистую бронхов, что подтверждается и данными литературы [Snashall P.D., Boothe F.A., Sterling G.M., 1978], хотя они в достаточной мере противоречивы.

Детальный анализ степени выраженности и времени появления альфа-стимулированной бронхоконстрикции в зависимости от индивидуальных особенностей больного, также выявляет любопытные закономерности.

Зависимость величины α -стимулированной бронхоконстрикции от пола субъектов проявляется тем, что у женщин она достоверно выше, несмотря на то, что средняя длительность заболевания у них меньше. При этом соотношение женщин и мужчин с бронхоконстрикцией на адреналин составляет 3:1, что превышает этот показатель во всей обследованной популяции — 2,35:1. Вероятно, это объясняется противоположным влиянием женских и мужских половых гормонов на эволюцию астмы: эстрогены оказывают отрицательное, а андрогены — положительное действие. Это подтверждается и наличием прямой корреляционной зависимости между степенью бронхоконстрикции и возрастом мужчин, поскольку в процессе старения, как известно, активность андрогенов снижается. По-видимому, нередкие случаи ухудшения течения астмы на фоне дисгормональных изменений у женщин, в частности при беременности [Хэнсон Ф.В., 1984], связаны с увеличением частоты бронхоконстрикторных реакций. Наиболее вероятно, что именно различная специфика действия мужских и женских половых гормонов обуславливает более высокую заболеваемость женщин в возрастной период от 10 до 60 лет [Файф Д., Спейзер Ф.Е., 1984]. Стероиды, снимают отек и воспаление, замедляют прогрессирование БА и являются базисными препаратами в лечении БА [Heide D., 1984].

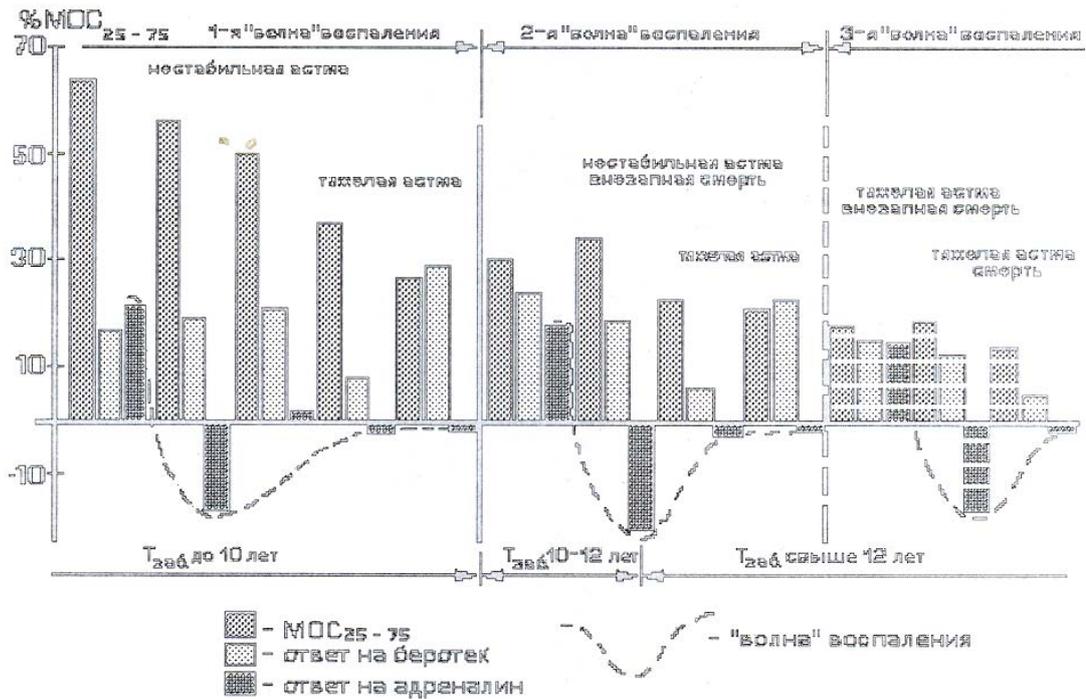


Рис. 23. Эволюция бронхиальной обструкции у больных астмой

Тот факт, что эволюция бронхиальной обструкции (рис. 23) при астме связана в первую очередь с изменением ответа на адреналин, имеет важное биологическое значение. Именно эндогенные катехоламины (адреналин или норадреналин), являясь естественными адренергическими регуляторами функции легких, в начальный период заболевания оказывают бронхорасширяющее и противоотечное действие. Эндогенные катехоламины, циркулируя в крови, оказывают постоянное воздействие на патофизиологические механизмы астмы. И от того, насколько высока и постоянна их продукция, во многом зависит дальнейшее течение и прогноз заболевания. Что касается экзогенно поступающих в организм селективных симпатомиметиков, в частности, беротека, вентолина и пр., то именно их высокая селективность и эпизодический характер применения не позволяют воздействовать на все патофизиологические механизмы астмы и тем самым препятствовать прогрессированию бронхиальной обструкции. Фармакологическое тестирование, проводимое только с селективными β_2 -симпатомиметиками не позволяет в популяции одинаковых на первый взгляд пациентов выявлять все особенности формирования и эволюции бронхиальной обструкции.

1.5.4. Эндокринная регуляция при бронхиальной астме

Регулирующее влияние эндокринной системы при БА осуществляется через реализацию антистрессового эффекта, адекватной защитной реакции организма против антигена. Оба эффекта осуществляются через системы:

гипоталамус - гипофиз - надпочечники (кортико - либерин- АКТГ - кортикостероиды - лимфоцит) -(ГГНС):

гипоталамус - гипофиз - тимус (соматолиберин -СТГ - тимус - лимфоцит) - (ГГСТ);

гипоталамус - гипофиз - щитовидная железа (тиро-либерин - ТТГ - тиреоидные гормоны)

Выявлено регулирующее влияние гормонов центральной и периферической нервной системы на иммуногенез [Sanders V.M., 1998]. Система ГГНС оказывает регулирующий эффект прежде всего на систему гуморального иммунитета, ГГСТ — на клеточное звено [Blalock J.E., 1984].

Общее эмбриональное происхождение щитовидной железы и тимуса подтвердило участие гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы в регуляции иммуногенеза. В частности, один из тиреоидных гормонов — тироксин относится к группе активных иммуномодуляторов. Именно благодаря нейропептидам нервная и иммунная системы взаимодействуют друг с другом через общие сигнальные молекулы и рецепторы [Судаков К.В., 1998]. Помимо прямого действия опиоидов на иммунокомпетентные клетки (увеличение количества активных Т-клеток, повышение цитолитической активности естественных киллеров и т.д.), возможно и опосредованное влияние через систему стероидных гормонов и периферические нейротрансмиттеры. Опиоидные пептиды оказывают выраженное влияние на функциональное состояние системы гипоталамус-гипофиз-корковое вещество надпочечников, причем точкой приложения действия нейропептидов может быть любое звено этой системы. Одним из возможных путей влияния опиоидов может быть их действие на высвобождение либеринов в гипоталамусе, а также взаимодействие пептидов с нейрональными системами, содержащими катехоламины, ацетилхолин, серотонин, ГАМК. Экспериментальные результаты показывают, что лейкоцитарные эндорфины идентифицируются с гипофизарными по антигенным свойствам, размеру, биологической активности, взаимодействию с АКТГ. Как

лимфоцитарный, так и гипофизарный эндорфин индуцируется кортикотропин-рилизинг-фактором, его синтез и высвобождение ингибируются кортикостероидами.

Особенностью детской и подростковой БА является наличие диссоциативных *нарушений* внутри *нейро-иммуно-эндокринного комплекса* [Barnes P.J., 1992; Sanders V.M., 1998]. Наиболее распространенным примером является возникновение БА у детей и подростков, перенесших перинатальное повреждение центральной нервной системы. Частота интра- и перинатальной патологии у детей с БА намного превышает среднестатистический порог и достигает 80% [Жаков Я.И., 1988]. У 60% детей, больных БА, имеются изменения ЭЭГ, свидетельствующие о вовлечении в патологический процесс стволовых и гипоталамических структур головного мозга, нарушения корково-подкорковых взаимоотношений. Исходом большинства случаев перинатальной патологии ЦНС являются микроструктурные изменения гипоталамо-гипофизарной области, клинически проявляющиеся в нарушении деятельности вегетативных центров, изменении гормональной регуляции на уровне рилизинготропных гормонов, отклонениях в интеллектуально-мнестической деятельности. У этих детей и подростков отмечена более ранняя манифестация, более тяжелое течение БА, выраженная поливалентная сенсibilизация.

Тканевая гипоксия, возникающая при патологическом течении беременности и родов, приводит к нарушению синтеза ферментов, макроэргических соединений, нарушению энергетического обмена [Резник И.Б. и др., 1997]. Приступный период характеризуется выраженным вегетативным компонентом (нарушения эмоциональной сферы, абдоминальный синдром, нарушения сна).

Манифестация, запуск патологического процесса, его клиническая окраска, тяжесть могут зависеть от функционального состояния межсистемного комплекса, условно выделяемого в нейрофизиологии как нейро-иммунно-эндокринный блок. Дисбаланс функционального состояния симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы играет большую роль в патогенезе БА. Для многих больных характерно преобладание тонуса парасимпатического отдела вегетативной нервной системы и извращенные реакции на адреналин. Одной из причин может быть влияние на функциональное состояние эффекторных клеток бронхов и легких аутоантител против адренергических рецепторов.

1.5.5. Свободные радикалы в физиологии и патологии легких

В представлениях о природе свободнорадикальных процессов при легочной патологии пока существуют немалые разночтения. Свободными радикалами называются молекулы или их части, имеющие на внешней орбитали неспаренный электрон. Присоединение одного электрона к молекуле кислорода с помощью фермента НАДФН-оксидазы приводит к образованию супероксидного анион. Присоединение второго электрона к молекуле кислорода ведет к образованию пероксида водорода — H_2O_2 [Gardner A.M., et al., 1997]. Синтез пероксида осуществляется главным образом ферментом СОД. Пероксид водорода не является радикалом. Это соединение достаточно стабильно, не имеет заряда и может путем диффузии мигрировать в клетки и ткани. Поэтому пероксид водорода осуществляет роль “дальнобойного оружия”, вызывающего окислительную модификацию отдаленно расположенных ферментов и макромолекул.

В нейтрофилах под влиянием фермента миелопероксидазы пероксид водорода присоединяет ион хлора и превращается в гипохлорит - OCl^- , который является сильным окислителем, выполняющим активную бактерицидную функцию. В связи с высоким окислительным потенциалом гипохлорит накапливается в нейтрофилах в специальных гранулах, мембрана которых предохраняет цитоплазму клетки от повреждения. Пероксид водорода образуется не только ферментом СОД, но и некоторыми другими ферментами [Ide T, et al., 2000]. Таким свойством обладает, например, фермент циклоксигеназа, который избытком образующегося пероксида водорода вызывает собственную деструкцию, “выключая” тем самым синтез простагландинов, когда влияние этих физиологически активных соединений организму больше не требуется. Таким образом, инактивация ряда ферментов пероксидом водорода представляет собой физиологический механизм регуляции их активности. В органах дыхания под влиянием факторов окружающей среды образование H_2O_2 может оказаться чрезмерным. В таком случае инактивация фермента и/или его ингибитора становится звеном патогенеза того или другого хронического неспецифического заболевания легких.

Продукт третьей стадии восстановления молекулы кислорода представляет собой гидроксильный радикал — $OH\cdot$. Он отличается наиболее высоким окислительным потенциалом и вступает в химические реакции с биосубстратом практически на месте и в момент своего образования. Чрезвычайная химическая активность гидроксильного радикала делает невозможной ферментативную регулировку его образования. В связи с

этим предотвращение его “несанкционированного” возникновения осуществляется на предыдущем этапе. В организме сразу три фермента — каталаза, пероксидаза и глутатионпероксидаза — восстанавливают пероксид водорода до воды и молекулярного кислорода без образования свободных радикалов. Именно с гидроксильным радикалом связана, прежде всего, опасность токсического воздействия кислорода на организм.

Превращение пероксида водорода в гидроксильный радикал происходит под влиянием ионов металлов переменной валентности, чаще всего иона железа Fe^{2+} (реакция Фентона). Гипохлорит под влиянием двухвалентного иона железа также превращается в $OH\cdot$ (реакция А.Н.Осипова). Встреча пероксида водорода или гипохлорита с ионом двухвалентного железа происходит обычно в очаге воспаления. Выход гидроксильных радикалов в расчете на 1 моль Fe^{2+} в реакции А.Н.Осипова в 20 раз выше, чем в реакции Фентона.

Именно поэтому роль нейтрофилов и макрофагов в организме различна. Нейтрофил является “камикадзе” острого воспаления. Макрофаг, в котором практически нет фермента миелопероксидазы и гипохлорит не образуется, служит ключевой клеткой хронического воспаления.

В очаге воспаления молекулы гипохлорита могут реагировать с молекулами пероксида водорода с образованием синглетного кислорода 1O_2 , который также обладает большой химической активностью и бактерицидным действием.

Потенциальная способность фагоцитов генерировать АФК может повышаться после предварительной стимуляции. В эксперименте повышение бактерицидной способности достигается при инкубации клеток с кальциевым ионофором. Такие предварительно стимулированные фагоциты отвечают на стандартный сигнал 2–3-кратным увеличением продукции АФК. Это явление получило название “предстимуляция” (прайминг). Предстимуляцию вызывают некоторые продукты ПОЛ, изменяющие проницаемость клеточных мембран [Horton A.A., Fairhurst S., 1987]. Главным механизмом физиологической предстимуляции лейкоцитов в организме является их прохождение через сосудистое русло легких. Как показал Б.М.Мануйлов (1994), такая предстимуляция обусловлена нарастанием напряжения кислорода и снижением парциального давления углекислого газа в крови легочных капилляров. Усиленная диффузия кислорода в цитоплазму фагоцитов повышает активность клеточных ферментов НАДФН-оксидазы и миелопероксидазы и соответственно увеличивает продукцию АФК [Дубинина Е.Е., 2001].

Гипервентиляция легких вызывает повышение, а гиповентиляция, напротив, снижение генерации АФК лейкоцитами. При прохождении крови через сосудистое русло других органов — селезенки, почек, печени — в отличие от легких, происходит не повышение, а снижение способности лейкоцитов образовывать АФК. Предстимуляция лейкоцитов в легких не ограничивается только усилением синтеза АФК. Повышается также фагоцитарная активность лейкоцитов, синтез белков и др. Подобное улучшение функциональной способности клеток обусловлено возросшей “производительностью” митохондрий и увеличением продукции АТФ. Предстимуляция лейкоцитов в легких имеет важное физиологическое значение, повышая их бактерицидную защиту в условиях постоянного контакта с внешней средой [Чучалин А.Г., 1998]. В бактерицидной защите органов дыхания, наряду с АФК, принимает участие NO^- (см. раздел 1.5.2.). Если ОН⁻ взаимодействует не с ДНК и белками, а с липидами клеточной мембраны, то запускается цепная реакция ПОЛ [Suematsu N., et al., 2003]. Химическая активность липидных радикалов ниже, чем гидроксильного, поэтому запуск процесса ПОЛ в определенной мере выступает в роли защитного механизма от воздействия ОН⁻.

В основе ПОЛ лежит саморазвивающаяся цепная реакция, а не ферментативный процесс, как, например, при активации бактерицидной системы фагоцитов. Это различие указывает на то, что генерация АФК необходима организму периодически, при определенных условиях. Процесс ПОЛ, напротив, должен протекать в организме постоянно. Если бы в основе ПОЛ лежала ферментативная реакция, её пришлось бы активировать непрерывно. В ходе эволюции для ПОЛ стал использоваться гораздо более экономный химический процесс - цепная реакция. Как показал академик РАМН Ю.А.Владимиров (1999), для коррекции ПОЛ в организме требуется не купирование, а регуляция скорости процесса. Регуляция интенсивности ПОЛ осуществляется не только, возможно, даже не столько с помощью антиоксидантов, сколько путем изменения состава жирных кислот, входящих в липидный бислой клеточных мембран. Это происходит потому, что под влиянием АФК стимулируется как ПОЛ, так и фосфолипоз. Например, при развитии силикотического фиброза в составе фосфолипидов легочной ткани резко уменьшается содержание наиболее метаболически активной фракции — фосфатидилсерина и постепенно снижаются доли фосфотидилхолина и фосфотидилэтаноламина. Одновременно нарастает содержание метаболически инертного сфингомиелина, что может повышать устойчивость легочной ткани в условиях профессиональной пылевой патологии. Избыточная жировая нагрузка в виде умеренного количества подсолнечного масла, содержащего, как известно, метаболически активные

ненасыщенные жирные кислоты, ускоряет гибель кониофагов и развитие фиброза легочной ткани. Сливочное масло подобным негативным действием не обладает. Данный пример указывает на то, что представление о безоговорочной полезности растительных жиров в пищевом рационе нуждается в пересмотре.

Сказанное вовсе не означает, что нарушение процессов ПОЛ не грозит возникновением патологических изменений в организме. Несомненна роль ПОЛ в развитии атеросклероза и поражении центральной нервной системы. По-видимому, продукты ПОЛ являются мутагенами. Но вместе с тем в патологии органов дыхания процессы ПОЛ имеют меньшее значение, чем генерация АФК. К тому же изменения ПОЛ наступают всегда позднее и обычно представляют собой итоговую фазу, результирующую влияние многих факторов. В связи с этим указанный параметр в определенной мере подобен СОЭ и в пульмонологической клинике нельзя опираться на него как на единственный или первостепенный показатель.

В заключение этого раздела доклада рассмотрим биохимические механизмы антиоксидантной защиты. Они представляют собой сложную систему, в которой могут быть выделены четыре главных звена:

- антиоксидантные ферменты (СОД, каталаза, пероксидаза, глутатионпероксидаза, глутатионтрансфераза и др. [Baez S., et al, 1997]);
- низкомолекулярные антиоксиданты, синтезируемые в организме (глутатион, мочева кислота, аминокислоты, содержащие сульфгидрильную группу — цистеин и цистин и др. Особого упоминания заслуживают низкомолекулярные белки — металлотионеины, содержащие до 30% цистеина, который в составе этих белков в 770 раз более эффективен в инактивации свободных радикалов, чем цистеин глутатиона);
- естественные антиоксиданты, поступающие в организм с пищей (аскорбиновая кислота — витамин С [Combs G.F., 1992], альфа-токоферол — витамин Е, рутин — витамин Р, и другие флавоноиды, бета-каротин и другие каротиноиды, предшественники группы витаминов А [Schaivh K.M., 1992]. Кроме витаминов и их предшественников, в эту же группу веществ могут быть отнесены химические элементы, входящие в состав активных центров антиоксидантных ферментов — селен, четыре атома которого входят в состав глутатионпероксидазы, цинк, входящий в состав цитоплазматической и марганец - митохондриальной СОД, и др.);

- специфические белки и пептиды, связывающие ионы переходных металлов, катализирующие реакции свободнорадикального окисления (ферритин — в клетках, трансферин — в плазме [Kotamraju S, et al., 2002], церулоплазмин — в плазме, карнозин — в мышцах и др.).

Существующая в организме система антиоксидантной защиты поддерживает концентрацию АФК оксида азота, а также продуктов ПОЛ в легких на стационарном, безопасном уровне. Это и делает возможным существование здорового человека в течение определенного времени в условиях значительно более высокой их продукции: при вдыхании запыленного воздуха, курении, работе в кессоне, гипербарической оксигенации, гипоксической гипоксии, воспалении и др.

1.5.5.1. Механизмы клеточной антирадикальной защиты

Свободные активные радикалы в норме в клетке образуются постоянно. Так, в процессе метаболизма веществ в гладком эндоплазматическом ретикулуле флавопротеины, а в митохондриях окислительные ферменты цепи дыхательных ферментов, постоянно продуцируют некоторое количество супероксид-иона (O_2^-) и перекиси водорода (H_2O_2). Однако содержание в клетке этих и других радикалов жестко контролируется широким спектром биохимических инструментов антирадикальной защиты, включая супероксиддисмутазу, каталазу, глутатионпероксидазу, глутатионредуктазу, α -токоферол, β -каротин, аскорбиновую кислоту, восстановленный глутатион, мочевую кислоту. Отдельные элементы системы защиты действуют комплексно и потенцируют эффект друг друга. Они локализуются либо в гидрофобных, либо гидрофильных компартментах клеток (например, токоферол - липофилен, глутатион - гидрофилен).

Механизмы антирадикальной защиты включают как ферментативные, так и неферментативные процессы. Самым простым примером некаталитического разрушения радикалов является их гидролиз, лежащий в основе нейтрализации многих водорастворимых продуктов, например, ацилгалидов, эпоксидов, карбокатионов, изоцианатов, эписульфониум-иона и т.д.

Наиболее важной неферментативной реакцией "обезвреживания" радикалов является их взаимодействие с биологическими антиоксидантами, такими как витамин Е, глутатион, витамин С. В результате такого взаимодействия образуются неактивные вещества, прерывание каскад "наработки" свободных радикалов.

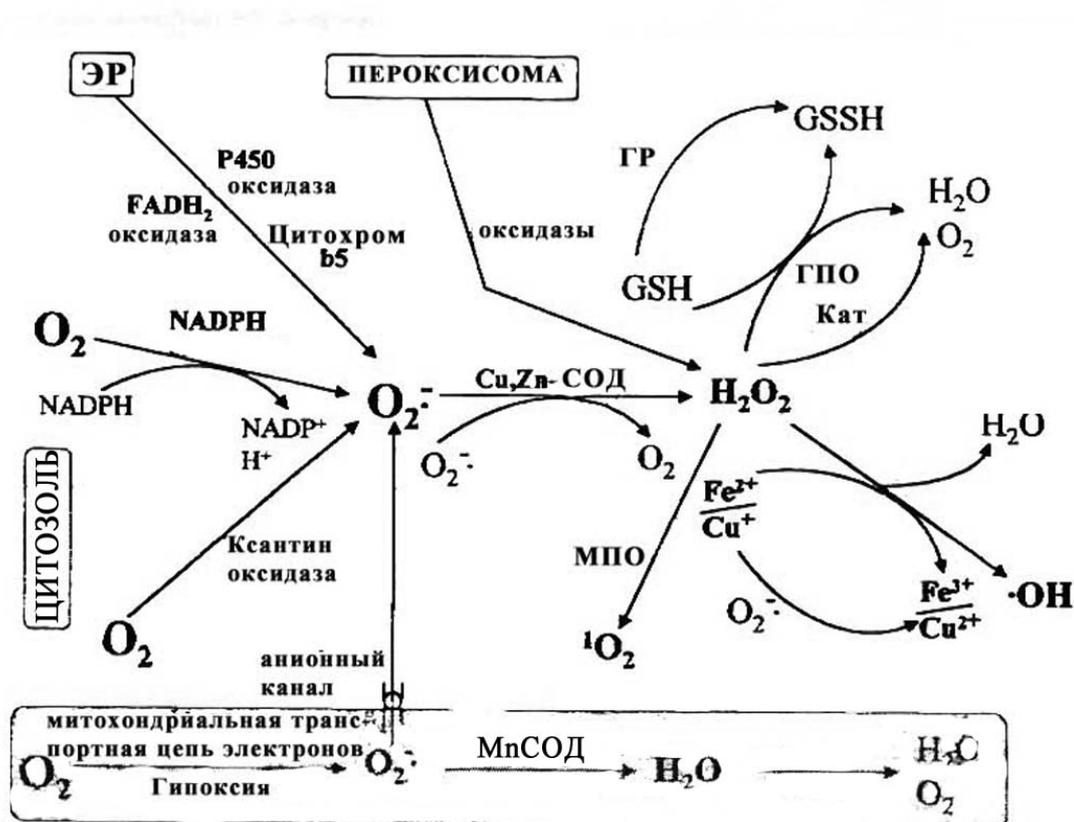
Гомеостаз в клетке поддерживается за счет равенства скоростей образования и связывания радикалов. В случае повреждения механизмов защиты клеток, либо активации процессов образования радикалов, превосходящих по интенсивности возможности защиты, или даже разрушающих эти механизмы, развивается поражение клетки. Так, интоксикация преимущественным пульмонотоксикантом паракватом приводит к некоторому снижению содержания глутатиона в печени. Предварительное связывание глутатиона диэтилмалеатом приводит к тому, что паракват приобретает свойства преимущественного гепатотоксиканта. Таким образом, резерв глутатиона в клетке имеет особое значение для обеспечения её антиоксидантной защиты.

Хотя глутатион может взаимодействовать с многочисленными субстратами и неферментативно, наличие в тканях энзима глутатион-S-трансферазы значительно ускоряет течение процесса, повышает его эффективность. Множественность форм глутатионтрансферазы, их широкая субстратная специфичность, высокий уровень активности в различных тканях делают систему глутатионтрансфераз наиболее универсальной и значимой для связывания активных метаболитов.

Глутатион и селен-зависимые глутатионпероксидазы восстанавливают перекись водорода и другие гидроперекиси до менее токсичных спиртов и воды. Глутатиондисульфид, образующийся в ходе этой реакции, подвергается обратному восстановлению до глутатиона с помощью НАДФН-зависимой глутатионредуктазы [Wang S., et al., 1995]. Активность глутатионредуктазы ингибируют изоцианат-содержащие продукты метаболизма нитрозомочевины.

Два других энзима, имеющих большое значение для детоксикации свободных радикалов, это супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза. Первый из энзимов катализирует преобразование двух супероксидных радикалов в молекулу кислорода и перекись водорода. Обнаруживаемая во всех тканях СОД содержит в структуре активного центра ионы Cu, Zn, Mn. Образующаяся перекись водорода разрушается с помощью каталазы или глутатионпероксидазного цикла.

Рис. 24. Патогенетическая модель сопряженных нарушений в дыхательной цепи



митохондрий, гиперпродукции образования активных форм кислорода и активации ферментативного звена системы оксидантной защиты.

КЛИНИЧЕСКАЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн клинического исследования

В когортное проспективное исследование, проведенное в соответствии с требованиями доказательной медицины (исследование когорты проводилось в течение времени достаточного для проявления болезни или синдрома и не было случаев самопроизвольного исключения вошедших в исследование пациентов) включено 189 подростков в возрасте от 15 до 20 лет, подвергающихся воздействию вредных факторов внешней и внутренней среды, сочетающихся или нет с включением подростка в активный учебный процесс, воздействием эмоционального и информационного стресса.

В качестве контрольной группы в исследование были включены подростки, не подвергающиеся воздействию перечисленных выше факторов.

Во всех случаях подростки были информированы о проводимом исследовании и получено их согласие на участие в нем, а протокол проводимых исследований утвержден локальным этическим комитетом.

2.1.1.1. Дизайн клинического когортного пилотного исследования подростков, подверженных эмоционально-информационному напряжению.

Критериями включения в данную когорту, состоящую из 50 подростков были: возраст от 15 до 20 лет (8 девочек и 17 мальчиков), прохождения общеобразовательного курса в колледже, работа за компьютером в течение не менее 2-х лет по 3-4 часа в день с использованием средств интернета, с большим объемом информации и ограниченным временем ее получения и обработки на компьютере (с процессором Intell Pentium III, 448 МГц, оперативной памятью 128 МБ, с универсальным телевизором с тепловым плоским дисплеем с частотой развертки видеомонитора 60 Гц (уровень электромагнитного излучения не превышал нормативных яркостью свечения 250 кд/м²), оценка состояния здоровья подростка до занятия с компьютером как практически здорового и отсутствие вредных привычек. Критериями исключения были: наличие наследственной, врожденной или приобретенной патологии, характеризующейся развитием повышенной респираторной заболеваемости, курение, прием алкоголя и другие вредные привычки.

16 практически здоровых подростков не занимающихся с персональным компьютером более 1-2 часов в день - контрольную. Клинико-лабораторные обследование проводили дважды: в начале и в конце академического года. Обследование включало: изучение анамнеза подростка, физикальное, объективное исследование, а также изучение

психо-эмоционального статуса по адаптированному опроснику, предложенному Т.А. Немчиновым (1996).

таблица 4. Опросник симптомов нейроциркуляторной дистонии у подростков

Пульс	Учащен	<i>Норма</i>	Замедлен, но отмечается тахикардия при мин. физ. нагрузке
Систолическое артериальное давление	N или повышено	N	низкое
Диастолическое артериальное давление	1 ↑	2 N	3 снижено
Кардиалгия	1 возможно	2 не характерно	3 редко
Потеря сознания	1 редко	2 не характерно	3 характерно
Головокружение, непереносимость транспорта	1 не характерно	2 редко	3 характерно
Частота дыхания	1 N или учащение	2 N	3 глубокое дыхание
Желание глубоко вздохнуть	1 не характерно	2 редко	3 характерно
Температура при инфекции	1 ↑	2 37,5 –38,0	3 N или длительный субфебрилитет
Масса тела	1 астеническое	2 N	3 Предрасположение к полноте
Аппетит	1 ↑	2 N	3 ↓
Жажда	1 ↑	2 N	3 нет
Перистальтика кишечника	1 перистальтика слабая, атонические запоры	2 N	3 Склонность к метеоризму, дискинезия, желчновыводящих путей, вздутие живота
		2	3

Частота мочеиспускания	редко, но в большом количестве 1	N 2	часто, малыми порциями 3
Энурез	нет 1	нет 2	часто 3
Аллергические реакции	редко 1	редко 2	часто 3
Увеличение лимфатических желез	не характерно 1	редко 2	характерно 3
Боли в животе, чувство тошноты	не характерно 1	не характерно 2	характерно 3
Цвет кожи	бледная 1	N 2	склонность к покраснению 3
Сосудистый рисунок	не выражен 1	не характерен 2	мраморность кожи, цианоз конечностей
Дермографизм	розовый, белый	красный, нестойкий	3 красный
Склонность к отекам	1 нет 1	2 нет 2	3 характерна 3
Температура тела	↑ 1	N 2	↓ 3
Озноб	не характерен 1	не характерен 2	Часто 3
Непереносимость закрытых помещений	N	N	Не переносят
Головные боли	1 нет	2 редко	3 характерно часто
Темперамент	1 вспыльчивый 1	2 равновесный	3 склонность к депрессии
Сон	бессоница, сон беспокойный 1	2 прерывистый, спокойный 2	3 глубокий, трудно встает утром 3

Опросник симптомов нервно-психического напряжения у подростков.

1. Физический дискомфорт А 1 2 3
- а) нет
б) есть, мешает в работе
в) из-за физ.дискомфорта не могу работать
2. Чувство боли
- а) нет никакой боли
б) периодически есть, но быстро проходит
в) постоянно присутствующая боль, мешает в работе
3. Изменение температуры тела
- а) не чувствую повышение t
б) чувство повышения t
в) периодический озноб
4. Состояние мышечного тонуса
- а) обычный
б) чувство напряжения
в) сильное напряжение, подергивание отдельных мышц
5. Координация движения
- а) обычные движения
б) точные движения
в) нарушение координации
6. Состояние двигательной активности
- а) обычная
б) активация движений, энергичные движения
в) резкая активация движений, невозможность сидеть на одном месте, частая смена положений тела
7. Состояние сердечно-сосудистой системы
- а) нет неприятных ощущений в сердце
б) тахикардия периодическая
в) тахикардия, боли в сердце
8. Состояние желудочно-кишечного тракта
- а) нет неприятных ощущений и жалоб
б) периодические боли в животе, постоянное чувство голода или чувство быстрого удовлетворения
в) постоянная сильная боль, снижение аппетита, чувство тошноты, жажда
9. Дыхательная система

- а) нет жалоб
- б) изменения глубины дыхания, учащение, которое не мешает в работе
- в) значительное изменение дыхания – одышка, неудовлетворение после глубокого вдоха, шумное дыхание

10. Состояние выделительной системы

- а) нет жалоб
- б) желание помочиться часто, нет признаков недержания мочи
- в) частые мочеиспускания, недержание мочи

11. Потоотделение

- а) обычное
- б) периодическое усиление
- в) выделяется в большом количестве

12. Состояние слизистой оболочки ротовой полости

- а) без изменений
- б) усиление слюноотделения
- в) чувство сухости слизистой оболочки рта

13. Цвет кожных покровов

- а) обычный
- б) периодическое покраснение в области лица, шеи, рук
- в) периодическая бледность

14. Восприятие и реакция на внешние раздражители

- а) обычное
- б) незначительное повышение восприимчивости
- в) резкая реакция, повышенная восприимчивость

15. Уверенность в себе

- а) обычная
- б) уверенность в себе, выражено умеренно
- в) нет уверенности в себе

16. Настроение

- а) обычное
- б) возвышенное
- в) подавленное

17. Особенности сна

- а) нормальный
- б) глубокий, просыпаюсь отдохнувший
- в) беспокойный, часто просыпаюсь

18. Состояние эмоционального статуса

- а) нормальное
- б) живу активной жизнью
- в) паническое настроение с чувством страха

19. Условия работы

- а) нормальные
- б) работаю в любых условиях
- в) не могу работать из-за действия факторов, вызывающих рассеянность внимания

20. Особенности речи

- а) обычная речь
- б) активная, шумная
- в) нарушение речи, длительные паузы, логорея

21. Оценка общего состояния психического статуса

- а) обычное состояние
- б) мобилизованный, желание работать
- в) чувство усталости, апатичное состояние

22. Особенности памяти

- а) обычная память
- б) хорошая память
- в) подавленность настроения

23. Особенности внимания

- а) обычное
- б) заостренность внимания
- в) рассеянность внимания

24. способность к воображению

- а) обычное
- б) быстрое
- в) замедленное

25. Умственная работа

- а) обычная
- б) не наступает быстрая утомляемость, усталось чувствую к концу дня
- в) во время умственной работы быстро наступает утомляемость

26. Психический дискомфорт

- а) нет

- б) полный психический комфорт
- в) полный дискомфорт, быстрая смена настроения, что мешает работать

27. Симптомы напряжения

- а) единичные, слабо выраженные, не обращаю внимания
- б) явно выраженные симптомы напряжения, не мешает в работе
- в) множество неприятных ощущений, мешают работать

28. Частота напряжения

- а) не развивается
- б) развивается в сложных ситуациях
- в) часто развивается без причины

29. Продолжительность напряженного состояния

- а) кратковременная
- б) сопровождает весь период работы
- в) продолжается и после работы

30. Степень напряженности

- а) низкая
- б) выражено умеренно
- в) выражено резко

2.1.1.2. Дизайн клинического когортного пилотного исследования подростков, часто болеющих острой респираторно-вирусной инфекцией.

Критериями включения в данную (основную) когорту, состоящую из 26 подростков были: частое и/или частое и длительное заболевание острой респираторно-вирусной инфекцией (ОРВИ), с учетом оценки частоты и продолжительности интервала между эпизодами ОРВИ, тяжести каждого ОРВИ, наличие осложнений, необходимость применения антибактериальных препаратов при лечении ОРВИ, инфекционный индекс более 0,2, отсутствие хронической бронхолегочной патологии в анамнезе, и частых респираторно-вирусных инфекций в детском возрасте, протекающими преимущественно в виде респираторных аллергозов с сопутствующими аллергическими риносинусопатиями, ринофарингитами, тонзиллитами. В когорту сравнения вошли 24 подростка с ОРВИ, не имеющие признаков характерных для когорты часто и/или длительно болеющих. Критериями исключения были: отношение подростка к группе часто и/или длительно болеющих в детском возрасте, наличие хронической ЛОР-патологии, хронической

бронхолегочной патологии, бронхолегочной патологии у родителей, факт пассивного курения, иной хронической патологии (гастроэнтерологической, нефрологической, неврологической и др.), наличие аллергологического анамнеза, аутоиммунных заболеваний, выявленная герпетическая инфекция, почечная недостаточность и гепатология, сердечно-сосудистые заболевания, а также прием иммуномодулирующих препаратов в течение 6 предыдущих месяцев.

Общее состояние здоровья подростка оценивали по карте динамического наблюдения, включающей данные анамнеза предшествующего года до занятия компьютером (наличие хронической ЛОР-патологии, хронической бронхолегочной патологии, бронхолегочной патологии у родителей, факт пассивного курения, иной хронической патологии (гастроэнтерологической, нефрологической, неврологической и др.), отношение подростка к группе часто и/или длительно болеющих в детском возрасте) и протекающими преимущественно в виде респираторных аллергозов с сопутствующими аллергическими риносинусопатиями, ринофарингитами, тонзилитами. Каждый эпизод ОРВИ клинически проявлялся наличием продолжительной лихорадки и другими проявлениями синдрома интоксикации (недомогание, слабость, сонливость, снижение физической активности, снижение аппетита, адинамии, головной боли, боли в мышцах и глазных яблоках, рвоты), катаральных симптомов. Результаты исследования мазков со слизистых из зева на флору показали выделение монокультуры у 43% обследованных детей, два и более возбудителя – у 49%, сочетанная бактериальная и грибковая флора – у 8%. С уменьшением числа обострений ОРВИ уменьшается частота и спектр высеваемых микроорганизмов. 16 практически здоровых подростков составили группу практически здоровых доноров. Все подростки в начале обследования осмотрены аллергологом–иммунологом, педиатром, а при необходимости и другими специалистами, включая отоларинголога, дерматолога.

2.1.1.3. Дизайн клинического когортного пилотного исследования подростков, с диагнозом бронхиальной астмы атипического генеза

Критерии включения в когорту практически здоровых подростков (контрольную), в которую вошли 37 подростка, составили: возраст от 15 до 18 лет (11 девочек и 18 мальчиков), прохождение подростком курса общеобразовательной программы в колледже, отсутствие наследственной и хронической бронхолегочной патологии в

анамнезе, здоровый образ жизни (не курят, не употребляют алкоголь). В основную когорту включены 36 подростков, критериями включения в которую были: возраст от 15 до 18 лет (11 девочек и 18 мальчиков), прохождение подростком курса общеобразовательной программы в колледже, диагноз бронхиальной астмой (БА) легкой и средней тяжести атопического генеза, здоровый образ жизни (не курят, не употребляют алкоголь). Критерии исключения из обеих когорт: наличие аутоиммунных заболеваний, выявленная герпетическая инфекция, почечная недостаточность и гепатология, сердечно-сосудистые заболевания, а также прием иммуномодулирующих препаратов в течение 3 предыдущих месяцев.

Приступы БА в данной группе возникли в среднем за $2,6 \pm 2,1$ лет до включения в исследование и проявляются не реже чем один раз в месяц (ночные приступы 2-3 раза в неделю). Дыхание подростков с БА учащенное 20 ± 5 ударов/мин, в дыхании принимают участие межреберные мышцы, аскультативно свистящие хрипы на фоне выдоха, характерно принятие вынужденного положения с приподнятой головой. Пиковая скорость вдоха во время приступа $70 \pm 8\%$, P_aCO_2 $40,5 \pm 4,0$ мм рт. ст., P_aO_2 в норме, содержание общего Ig E более 422 ± 24 МЕ/л. Приступы БА купируются вентолином или серетидом, всем подросткам проводится поддерживающая терапия задитеном. Все подростки основной группы разделены на две подгруппы в зависимости от степени их работы с большими объемами образовательной информации, содержащейся в интернете, в процессе обучения в колледжах или школах.

В процессе исследования и контрольная и основная когорты рандомизированы на две подгруппы в зависимости от интенсивности и длительности занятия подростков в продолжение учебного года с информационной сетью интернета в процессе подготовки в высшее учебное заведение, наличия непрерывного по 6-8 часов в день без соблюдения санитарно-гигиенических норм работы с видеодисплейными терминалами.

2.1.1.4. Дизайн экспериментальных исследований.

Работа проведена на 24 белых неполовозрелых крысах, составивших контрольную и основную группы по 12 животных в каждой. В эксперименте отбирали животных с высоким уровнем тревожности, который оценивали методами открытого поля и вынужденного плавания [Буреш Л., Бурешова О., Хьюстон Дж., 1991]. Животных основной группы дополнительно помещали в экспериментальные камеры, размером

40x50x50 см на 7 дней. Исследование поведенческой активности животных, отражающей элементы высшей нервной деятельности, выполнено в “открытом поле”, которое представляет собой огражденный прозрачными стенками квадратный участок горизонтальной поверхности площадью 1 м^2 , разделенный на 16 квадратов размером 25x25 см с отдельно выделенным центральным квадратом 50x50 см. Освещенность по данным люксометрии составила ~ 50 лк.а. Оценивали представленность следующих поведенческих форм: поведенческий сон, в течение 2 мин регистрировали локомоторную активность (по количеству посещенных квадратов), вертикальную активность (стойки на задних лапах), груминг (по числу эпизодов умываний, отдельно регистрировали суммарную длительность груминга), вегетативные проявления стресс-реакции (по количеству дефекаций, фекальных болюсов и уринаций), мелкая двигательная активность (топтанье на месте, вздрагивание, принюхивание, повороты головы, движение хвостом), груминг, релаксированное бодрствование. Оценку горизонтальной и вертикальной локомоции производили по [Meerlo N., 1996], остальные показатели определяли в мин и в % от времени наблюдения

2.1.2.1. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1.2.1. Получение митохондрий и определение токсичности

Суспензии митохондрий, полученных из почек, печени, сердца и легких 11 белых беспородных крыс, содержащихся в виварии в стандартных условиях на полноценном рационе. Митохондрии получали из гомогенатов печени, почки, легких, сердца центрифугированием в среде содержащей 250 мМ сахарозы, 5 мМ ЭДТА, 10 мМ трис-*HCl* буфера, *pH* 7,4 (среда 1) в течение 10 мин при 650 g, осадок удаляли, а из надосадочной жидкости осаждали митохондрии при 5 000 g в течение 15 мин. Полученные митохондрии ресуспензировали в среде 1 и брали 1 мл, содержащей 50 мг белка. В качестве среды измерения при исследовании токсического действия металлов использовали 0,03 мМ фосфатный буфер с $5 \cdot 10^{-4}$ М ЭДТА, *pH* 7,4.

В качестве быстрого высокочувствительного метода определения острой токсичности впервые использовали метод, основанный на метаболических изменениях в препаратах митохондрий и заключающийся в регистрации отношения окисленной и восстановленной формы никотинамидадениндинуклеотида (НАДН/НАД)

спектрофотометрически [Ambrosi I., и соавт., 1990; Argese E., A. и соавт., 1994; Blondin G.A., и соавт., 1989]. Стабильная система митохондриальных мембран различных органов является надежным биологической тест-системой, которая программированно восстанавливает экзогенный НАД в сопряженном обратимом электронном переносе или окисления НАДН в цепи переноса электронов и протона в митохондриях. При длительной экспозиции токсические металлы ингибируют один или оба редокс-потенциала активности в степени пропорциональной токсической концентрации металла. Длительность преинкубации 15 мин.

2.1.2.2. Исследование иммунологических показателей

Клинико-иммунологически-биохимический мониторинг больных все групп проводился каждые 3 мес в течение год. Количество Т-лимфоцитов и их субпопуляций определяли в цитотоксическом тесте с моноклональными антигенами ОКТ-1, ОКТ-3, ОКТ-4, ОКТ-8, ОКТ-11 (фирма "Ortho", США), Leu 6 и Leu 7 (фирма "Bekton", США), ИКО-20 (ГНИИЭМ, Нижний Новгород) по методу К. Richter и соавт. (1978). Содержание иммуноглобулинов А определяли методом радиальной иммунодиффузии в геле с помощью моноспецифических антисывороток (фирма "Sevac", Чехия) к этим иммуноглобулинам, содержание IgE - методом твердофазного иммуноферментного анализа.

2.1.2.3. Исследование скорости дексаметазон-индуцированного апоптоза

Апоптоз индуцировали добавлением дексаметазона 100 мкмМоль и регистрировали по стандартному методу в тесте с МТТ (3-[4,5-dimethylthiasol-2-yl)-2,5-diphenyltetrasolium bromide, Sigma, USA) и измерением оптической плотности при длине волны 570 нм [Gardner A.M., Xu F.H., Fady C., 1997].

2.1.2.4. Определение содержания катехоламинов.

В охлажденную на льду пробирку вносили 1 мл гепаринизированной крови или 1 мл гомогената, добавляли 3 мл охлажденного подкисленного н-бутанола и гомогенизируют 30 с. Полученный гомогенат центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин и при

0°С. 2,5 мл органической фазы переносили в пробирку с 5 мл гептана и 0,5 мл 0,1 Н *HCl*. Встряхивали и центрифугировали 10 мин при 1000 об/мин. По 0,2 мл водной фазы отбирали в четыре пробирки и добавляли в две из них 0,3 мл ацетатного буфера рН 6,9 для определения дофамина, в две другие по 0,3 мл фосфатного буфера рН 5,4, для определения адреналина и норадреналина. Флюоресценцию дофамина измеряли при длине возбуждения 320 нм и испускания 378 нм, флюоресценцию адреналина – при длине возбуждения 380 нм и испускания – 458 нм, а норадреналина – 360 и 458, соответственно [Коган Б.М., Нечаев Н.В., 1976; Сомлинский В.Н. и соавт., 1982].

2.1.2.5. Определение содержания серотонина.

Гепаринизированную кровь центрифугировали при 3000 об/мин. К 1 мл плазмы или взвеси гомогената добавляли 20% ТХУ и центрифугировали. Супернатант переносили в пробирку с притертой пробкой с 2,5 мл н-бутанола. Пробирку встряхивали 5 мин, затем центрифугировали 5 мин при 3000 об/мин. Н-Бутанол отсасывали и переносили в пробирку с 5 мл н-гептана и 0,2 мл 0,1% раствора цистеина в 0,1 Н *HCl*. Пробирку встряхивали 5 мин и центрифугировали 5 мин при 3000 об/мин. Серотонин определяли в водной фазе добавлением 1,8 мл 0,004% раствора о-фталевого альдегида в 10 Н *HCl*. Пробирку помещали в кипящую водяную баню на 15 мин, затем охлаждали в проточной воде. Флюоресценцию измеряли при длине возбуждения 360 нм и испускания – 480 нм [Лобода Е.Б., Макаров Ю.А., 1974].

2.1.2.6. Определение активности каталазы.

В опытную и контрольную пробирки добавляли по 2 мл 0,3% раствора перекиси водорода, в опытную вносили 0,01 мл гемолизата, в контрольную 0,01 мл дистиллированной воды. В каждую пробу добавляли по 1 мл 4% раствора молибдата натрия и сразу же измеряли экстинкцию при длине волны 410 нм. Расчет проводили по формуле:

$$\text{каталаза \%} = E_k - E_o / E_k \times 100,$$

где E_k – экстинкция контрольного образца, E_o - экстинкция опытного образца [Галактионова Л.П. и соавт., 1998].

2.1.2.7. Определение НАД·Н –оксидазы

Метод основан на следующем превращении:



Брали 1 мл ресуспензированных лимфоцитов, содержащий 50 мг/мл белка. В качестве среды измерения при исследовании активности НАДФ·H-оксидазы использовали 0,03 мМ фосфатный буфер с $5 \cdot 10^{-4}$ М ЭДТА, рН 7,4. Реакцию инициировали добавлением НАДФ·H в конечной концентрации 3 мкмоль или цитохрома С – 1,5 мг отдельно или совместно [Алматов К.Т., Рахимов М.М., 1978].

Активность НАДФ·H-оксиредуктазы рассчитывали по скорости окисления субстрата рассчитывали (убыли НАДФ·H или цитохрома С) в нмоль/мг белка мин [Коган А.Х. и соавт., 1999]

2.1.2.8. Определение содержания супероксидного аниона.

Образование супероксидного аниона определяли спектрофотометрически по измерению ингибирования восстановления цитохрома С супероксиддисмутазой. К 1мл плазмы или эритроцитарной массы помещали в пробирку с 1 мл буферно-соляного раствора, содержащего цитохром С в конечной концентрации 80 $\mu\text{моль/л}$, преинкубировали в течении 10 минут в водяной бане при 37°C, затем центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин. Определение оптической плотности супернатанта производили на спектрофотометре при 550 нм [Chen H-C. et al., 2000].

2.1.2.9. Определение активности СОД (КФ 1.15.1.1.)

К 1 мл гемолизата крови (1 мл отмытых эритроцитов и 0,9 мл воды) добавляли 0,5 мл абсолютного спирта, 0,25 мл хлороформа и 300 мг KH_2PO_4 для устранения мешающего определению гемоглобина. Перемешивали и центрифугировали 30 мин при 3000 об/мин. В контрольную и опытную пробы добавляли 1,5 мл инкубационной смеси (37 мг ЭДТА- Na_2 , 330 мг нитросинего тетразолия, 55 мг феназинметасульфата в 300 мл 0,15М фосфатного буфера рН 7,8), 0,05 мл раствора 152 мг% НАДФ·H в трис-ЭДТА буфере рН 8,0 и 0,1 мл супернатанта в опытную и 0,1 дистиллированной воды в контрольную. Измеряют оптическую плотность контрольного и опытного образцов при длине волны 540 нм. Расчет проводят по формуле:

$$\text{СОД, \%} = E_k - E_o / E_k \times 100,$$

где E_k – экстинкция контрольного образца, E_o - экстинкция опытного образца [Галактионова Л.П. и соавт., 1998].

2.1.2.10. Определение содержания глутатиона.

Содержание глутатиона определяют по его продукту реакции с 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойной) кислотой. Цельную кровь гемолизируют добавлением дистиллированной воды. Белки осаждают ледяной метафосфорной кислотой и в супернатанте определяют содержание глутатиона по измерению оптической плотности продукта реакции с 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойной) кислотой [Beutler E., et al., 1963].

2.1.2.11. Определение активностей глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы.

Активность глутатионредуктазы определяется в гомогенатах и гемолизате эритроцитов по уменьшению содержания в образце НАДФ·Н. 0,5 мл эритроцитов отмывали раствором, содержащим 1 мМ ЭДТА. В 0,5 мл полученного гемолизата, после добавления раствора Драбкина спектрофотометрически определяли содержание гемоглобина. К остальному гемолизату добавляли 0,7 мл инкубационной смеси: 1мМ НАДФ·Н, глутатион восстановленный 4,5 мМ, глутатион окисленный 4,5 мМ. Инкубировали в течении 10 минут при 37°. После охлаждения определяли изменение абсорбции при 340 нм [Chen N., et al., 2000].

Через 5 минут для определения активности глутатионредуктазы к исследуемому раствору добавляли 3% раствор перекиси водорода и измеряли абсорбцию при 340 нм.

2.1.2.12. Определение содержания малонового диальдегида.

Перекисное окисление липидов определяли по содержанию конечного продукта - малонового диальдегида. Плазму депротеинизировали 0,6 Н перхлорной кислотой. Супернатант активировали тиобарбитуровой в H_3PO_4 в течение 45 мин при 100°C/ Уровень малонового диальдегида (МДА) определяли спектрофотометрически в плазме и эритроцитах по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [Russo C, et al. 1998].

2.1.2.13. Определение содержания адениловых нуклеотидов

Образцы крови быстро замораживали в жидком азоте. При постоянном добавлении жидкого азота замороженную массу растирали в ступке в порошок. Количественное содержание АТФ, АДФ, АМФ определяли энзиматически с помощью тест-набора “Boehringer Mannheim” (Австрия).

2.1.2.13.а. Определение содержания АТФ в крови.

К 1 мг порошка (1 мл крови или плазмы) приливали 4 мл 0,6 Н перхлорной кислоты, готовили гомогенат и оставляли на 10 мин при 25°C. Затем центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин. К 0,2 мл полученного супернатанта приливали 2 мл раствора, содержащего 0,5 М триэтаноламинового буфера рН 7,6, 4 мМ $MgSO_4$ 0,6 мМ глицерат-3-фосфат. К данному раствору приливали 0,2 2,5 мМ раствор НАДН. Полученный раствор перемешивали и определяли начальную абсорбцию E_1 при 340 нм на спектрофотометре Сагу-118. Затем к данному раствору приливали 0,02 мл суспензии ферментов (глицеральдегид-фосфатдегидрогеназа – 450 ед/мл; глицеролдегидрогеназа – 1000ед/мл). Перемешивали и выдерживали при 25°C и через 10 минут определяли конечную абсорбцию E_2 при 340 нм. Расчет количества АТФ проводили по формуле: $C_{АТФ} = 4\ 556 \times (E_1 - E_2)$, ммоль/л.

2.1.2.13.б. Определение АДФ и АМФ.

2,5 мл крови (5 мг порошка) растворяли в 5 мл 1 Н перхлорной кислоты. К 1 мл супернатанта добавляли 0,5 мл триэтаноламинного буфера. Смесь хорошо перемешивали и оставляли 10 мин на водяной бане, затем нагревали до 25°C. Последовательно к 2 мл приливали 0,2 мл раствора, содержащего 10мМ фосфоенолпируват, 1,3 М KCl , 0,4 М $MgSO_4$, 0,2 мл 2,5 мМ НАДН, 0,02 мл суспензии ЛДГ (~500 ед/мл). Смесь перемешивали и измеряли начальную E_1 абсорбцию при длине волны 340 нм. Затем добавляли 0,02 мл суспензии пируваткиназы (~100ед/мл). После 5 мин измеряли абсорбцию - E_2 . Затем добавляли 0,02 мл суспензии миокиназы (~720ед/мл) и через 15 мин измеряли абсорбцию E_3 .

Расчет количества АДФ и АМФ проводили по формулам: $C_{АДФ} = 429 \times (E_1 - E_2)$, мкмоль/л, $C_{АМФ} = 216 \times (E_2 - E_3)$, мкмоль/л.

2.1.2.14. Определение креатинфосфата.

Определение креатинфосфата (КФ) проводили по методу А.М. Алексеевой (1951). Замороженную в жидком азоте кровь растирали и 0,5 г полученного порошка помещали в стаканчик, содержащий 10 мл 0,7% раствора молибденокислого аммония в 1 Н серной кислоте. Экстракцию проводили в течение 40 минут при 37°C в термостате. При этом КФ расщепляется до креатина. Экстракт отфильтровывали. Количество креатина, образовавшегося из КФ, определяли по цветной реакции с пикриновой кислотой при длине волны 520 нм на спектрофотометре Сагу-118. Параллельно с опытом проводили контрольный опыт: 0,5 г ткани замораживали в жидком азоте, измельчали и помещали его в термостат на 37°C на 10-15 минут для полного расщепления КФ в ферментативных реакциях до креатина. В стаканчик добавляли 10 мл молибденовокислого аммония и проводили те же реакции, что и в случае опытного образца.

Расчет количества КФ проводили по формуле: $C_{\text{КФ}} = 100(E_o/m_o - E_k/m_k) \times 0,1$, где E_o - экстинкция опыта, m_o - масса ткани, взятой для опыта, E_k - экстинкция контроля, m_k - масса ткани, взятой для контроля.

2.1.2.15. Определение неорганического фосфата.

Определение неорганического фосфата производили по методу Я.Х. Туракулова и соавт. (1968). Метод основан на определении абсорбции невосстановленной формы фосформолибденовой кислоты в УФ области света.

Для определения неорганического фосфата к 1 мл крови добавляли 3,5 мл воды. Затем из бюретки приливали 6 мл изобутилового спирта и пипеткой добавляли 0,5 мл 10% молибдата аммония (в 8 Н серной кислоте). Смесь закрывали пробкой и встряхивали в течение 15 сек. После разделения слоев, нижний водный слой удаляли пипеткой, соединенной с водоструйным насосом.

Оптическую плотность изобутанового слоя, содержащего фосформолибденовую кислоту, определяли при 365 нм против изобутанола на спектрофотометре Сагу-118. Расчет содержания неорганического фосфата проводили по формуле: $C_{\text{Фн}} = E / 1,25$ мкмоль/л.

2.1.2.16. Определение содержания лактата.

Для определения содержания лактата в плазме, эритроцитах использовался тест-набор фирмы "Boehringer Mannheim" (Австрия).

К 0,5 мл исследуемого материала добавляли 1 мл охлажденной 0,6 Н перхлорной кислоты, центрифугировали в течение 10 минут при 3000 об/мин. Полученный супернатант переливали в чистую пробирку (супернатант можно хранить в течение 24 часов при температуре 4°C). К 0,2 мл супернатанта добавляли 2 мл гидразинового буфера рН 9,0, 0,2 мл 27 мМ и 0,2 мл ЛДГ (~650 ед/мл). В контрольной пробе к 0,2 мл бидистиллированной воды и 0,2 мл 0,6 Н перхлорной кислоты добавляли те же реактивы, что и в опытную пробу. Опытную и контрольную пробы инкубировали примерно час в водяной бане при температуре 25° С. Экстинкцию опытной пробы измеряли на спектрофотометре Cary-118 (США) при длине волны 340 нм против контрольного образца. Концентрацию лактата определяли по формуле: $C_{\text{лактата}} = E \times 5,47$, ммоль/л.

2.1.2.17. Определение содержания пирувата.

Определение содержания пирувата проводили следующим образом: 0,5 г замороженной в жидком азоте крови растирали и экстрагировали 5мл 5% ТХУ в течение 30 минут, затем экстракт центрифугировали, к 1 мл супернатанта добавляли 0,5 мл 0,1% раствора 2,4-динитрофенолгидразина и через 20 минут - 5 мл 0,4 N NaOH. Раствор спектрофотометрировали при длине волны 536 нм. Расчет проводили по формуле: $C = E \times 0,59$, ммоль/л.

2.1.2.18. Определение содержания НАД и НАДФ.

Для извлечения НАД и НАДФ во взвеси эритроцитов, лимфоцитов и плазмы, исследуемый материал замораживали в жидком азоте и измельчали. После чего НАД и НАДФ экстрагировали по методу Bessho et al, (1989) с добавлением 4-х кратного объема 0,6 М раствора перхлорной кислоты. Затем взвесь центрифугировали при температуре 0° С в течение 10 минут при 3000 об/мин. После центрифугирования безбелковый экстракт смешивали с 0,2 мл 1 М раствора K_2HPO_4 , а затем добавляли раствор KOH до нейтрализации. Все операции проводились на ледяной бане. После выпадения в осадок $KClO_4$ надосадочную жидкость переносили в две чистые пробирки и определяли концентрации НАД и НАДФ ферментативным путем, измеряя экстинкции E образцов на спектрофотометре Cary -118 (США) при длине волны 340 нм. Для определения НАД в супернатант добавляли 0,025 мл раствора 1% алкогольдегидрогеназы и для определения

НАДФ - глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Содержание НАД и НАДФ вычисляли по формуле: $C = E/6,22$, где 6,22 – молярный коэффициент экстинкции.

С целью исключения погрешности измерений белок осадка, оставшийся после центрифугирования, растворяли в 0,1 N растворе *NaOH* и определяли содержание белка по Лоури (1971).

2.1.2.19. Определение содержания НАД·Н.

Для извлечения НАД·Н и НАДФ·Н взвеси эритроцитов и плазмы крови, замораживали в жидком азоте и измельчали. После чего НАД·Н и НАДФ·Н экстрагировали по методу Bessho et al, (1989) с добавлением 4-х кратного объема 0,5 М *KOH* в 50% этиловом спирте. 0,1 мл экстракта брали для определения белка по Лоури. Экстракт нейтрализовали 5М яблочной кислотой. Количественное содержание НАД·Н и НАДФ·Н вычисляли по формуле: $C = E/6,22$, где 6,22 – молярный коэффициент экстинкции после добавления в супернатант 0,025 мл раствора 1% алкогольдегидрогеназы для определения НАД·Н и 0,025 мл раствора глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы – для определения НАДФ·Н, соответственно.

2.1.2.20. Определение содержания цитохрома С.

Экстрагирование цитохрома С из крови и гомогенатов миокарда проводили по методике, описанной Rosenthal et al в 1949. Затем в пробирку с 1 мл раствора экстракта добавляли 0,3 мл 0,01 М раствор $K_3[Fe(CN)_6]$ для окисления всех молекул в растворе. При этом в желто-зеленой части спектра полосы поглощения отсутствовали. Затем в ту же пробирку добавляли несколько крупинок гидросульфита натрия $Na_2S_2O_2$ для восстановления цитохрома С, что приводило к появлению полос поглощения при длине волны 520 ± 3 нм и 550 ± 3 нм, а также при длине волны 415 ± 3 нм. Для количественного определения цитохрома С в качестве аналитической была выбрана длина волны 550 ± 3 нм [Chance et al, 1956; Rosenthal et al, 1949], как специфическая для данного соединения. Расчет количества цитохрома С проводили по формуле: $C_{\text{цитохрома С}} = E/27,7$, где 27,7 ммоль⁻¹см⁻¹ - молярный коэффициент экстинкции цитохрома С при длине волны 550 нм.

2.1.2.21. Определение содержания эндотелина-1.

Содержание эндотелина-1 в образцах крови определяли с использованием тест-системы R&D Systems for Human Endothelin-1 Immunoassay (Великобритания) и

рассчитывали по калибровочной кривой, построенной стандартному препарату эндотелина-1.

2.1.2.22. Планирование медицинского эксперимента и статистическая обработка результатов.

При оценке необходимого объема когорт в данном исследовании учитывали следующие критерии:

- использование в исследовании переменных строго количественного типа (количественно измеряется эффект);
- наличие подходящего плана, исходя из специфики исследования,
- проведение оценки величину различий между эффектами, приемлемую для данного исследования с клинической точки зрения
- выбор подходящего статистического критерия для последующего анализа интересующих событий и соответствующий выбор конкретных формул для расчета
- определение необходимости применения одностороннего или двустороннего критерия
- не применять увеличения, рассчитанных по формулам значений объема выборок с учетом возможного исключения в процессе исследования

В таблицах и на рисунках приведены средние арифметические и ошибки средних ($M+m_x$). Определение мощности t -критерия (критерия Стьюдента) и необходимый для него объем выборки проводили с помощью программ **STAT Soft**, а именно в модуле "Анализ мощности" выборки для t -критерия с независимыми выборками, поскольку t -критерий между двумя независимыми выборками является одним из классических критериев в статистике. В случае "двустороннего" критерия, нулевая гипотеза H_0 проверяется вместе с альтернативной гипотезой H_1 , где

$$\frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \geq t_{\alpha/2, n_1+n_2-2} \quad , \text{ где}$$

\bar{x}_1 является значением среднего в первой группе, а \bar{x}_2 есть значение среднего во второй группе.

Если критерии эффекта в контролируемых клинических исследованиях служат количественные признаки, выражаемые статистическими средними величинами, то

формула расчета минимального объема групп для сравнения показателя в двух

$$n = (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \frac{Sx_0^2 + Sx_k^2}{\Delta^2}$$

независимых группах:

где Sx_0 и Sx_k - стандартные отклонения сравниваемых опытной и контрольной групп, Δ - требуемая величина различий между средними значениями сравниваемых групп, Z_{α} и Z_{β} - критические значения нормального распределения, соответствующие заданным уровням ошибок 1 и 2 рода, которые определяются по таблицам [Г.Ф. Лакин, 1990].

Из формулы видно, что для оценки необходимого объема выборки важно, скорее, соотношение дисперсии и требуемой величины различий, чем их численные значения. Это обстоятельство имеет важное практическое значение при планировании исследования, когда точные значения дисперсий могут быть неизвестны.

При альтернативной форме описания эффекта с помощью частот (или долей) p_0 и p_k необходимое число наблюдений при равных по численности опытной и контрольной групп определяются по формуле:

$$n = (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \frac{p_0(100 - p_0) + p_k(100 - p_k)}{\Delta^2}$$

где Δ - величина разности между частотами ($p_0 - p_k$). Такой метода дает достаточно точные результаты при $25\% < p < 75\%$. При других значениях частот для корректировки возникающих искажений вводится поправка $\varphi = 2 \arcsin \sqrt{p}$.

Объем выборки вычисляется при этом как:

$$n = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2}{(\varphi_0 - \varphi_k)^2}$$

Этические или другие соображения могут требовать формирования различных по численности опытной и контрольных групп. Если известна фиксированная численность одной (например, контрольной групп n_k), можно оценить требуемую численность другой группы (n_0) для формирования статистически значимого заключения о различиях в эффекте между ними.

Для количественного признака:

$$n_0 = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2}{(\varphi_0 - \varphi_k)^2 - (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 / nk}$$

Для альтернативного представления признаков:

$$n_0 = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 S_{x0}^2}{\Delta^2 - (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 S_{xk}^2 / nk}$$

Данные формулы предполагают использование одностороннего теста (показатель одной группы лучше показателя другой, исключая возможность превосходства последнего). В случае необходимости "улавливания" различий в эффекте в ту или иную сторону применяется двусторонний тест.

Чтобы оценить чувствительность критерия, нужно задать величину различий, которые он должен выявлять. Если в результате проверки гипотезы о существовании различий был сделан вывод об их отсутствии, необходимо проверить, была ли чувствительность критерия достаточной для обнаружения таких различий. Чувствительность зависит не только от величины различий, но и от разброса данных и объема выборки. Если посмотреть на объем выборки, чем он больше, тем меньшие различия окажутся статистически значимыми. Таким образом, появляется возможность заранее оценивать численность выборок, необходимых для выявления эффекта. При прочих равных условиях, тот критерий имеет преимущество, который имеет меньшую вероятность ошибки 2го рода. Учтено, что на чувствительность критерия различные факторы влияют следующим образом:

- уровень значимости альфа - чем меньше альфа, тем ниже чувствительность.
- отношение величины различий к стандартному отклонению: чем оно больше, тем больше чувствительность (для количественного признака); частота события: чем больше число (или доля) событий, тем выше чувствительность (для учета реакции в альтернативной форме)
- объем выборки: чем больше, тем больше чувствительность

В исследовании используются только параметрические критерии, которые являются более мощными, чем их непараметрические аналоги и соблюдаются все предпосылки использования параметрического критерия, что позволяет избежать ошибок первого и второго рода.

Корреляционный анализ вели по методу нелинейного приближения наименьших квадратов и достоверность различий средних оценивали по критерию t Стьюдента [Г.Ф. Лакин, 1990]. Достоверность различий средних оценивали по критерию t Стьюдента и рассчитывали по программе STAT Soft для IBM-компьютера. В таблицах и на рисунках приведены средние арифметические и ошибки средних ($M+m_x$).

2. 2. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

2.2.1. Состояние стресс-лимитирующих систем подростков при информационно-эмоциональном перенапряжении и общие механизмы адаптации подростков к различным экстремальным и экологическим факторам.

В современных условиях жизнедеятельности ребенок и подросток постоянно подвергается воздействию вирусов, патогенных бактерий, практически постоянно повышенных предельно допустимых концентраций двух-трех токсических веществ, избыточного или недостаточного содержания микроэлементов, тяжелых металлов, источников ионизирующих и неионизирующих излучений. Однако установленные в мире предельно допустимые концентрации вредных веществ и тяжелых металлов определяют безопасный для человека уровень лишь того или иного вещества или металла в отдельности, а собранные вместе даже в микродозах, они многократно усиливают токсическое действие друг друга. При этом субклеточные механизмы сочетанного воздействия различных экопатогенных факторов на организм подростков остаются практически неизученными. Загрязнение внешней среды и кризис экологии породили загрязнение и кризис внутренней среды организма. Загрязнение организма, порожденное экологическими и другими нарушающими гомеостаз факторами (дефекты питания, стрессы, вредные привычки и др.) осложняет течение болезней. Медицина подростков постоянно сталкивается с извращенным течением болезней, непредсказуемым действием лекарственных препаратов. Поэтому поддержание здоровья подрастающего поколения и разработка способов повышения адаптационных возможностей организма к сложившемуся экологическим условиям, а также разработка адекватных методов диагностики эффективности систем нейтрализующих последствия воздействия токсических веществ является важнейшей задачей педиатрии.

Поступающие в организм токсические вещества накапливаются в околкеклеточном пространстве. Организм не владеет специфическими механизмами адаптации - механизмами нейтрализации и удаления этих соединений из этого пространства. Все это поставило задачу очищения экологического пространства клеток организма, привело к развитию нового направления эндоэкологии - науки об очищении внутренней среды организма, и прежде всего в организма ребенка и подростка.

Радикальное решение вопроса заключается в создании методов диагностики и разработки способов эндоэкологической реабилитации, очищения и/или нейтрализации с активацией адаптативных систем организма экзо- и эндогенных токсинов, например, образующихся под воздействием вирусов и патогенных бактерий). В развитии механизма срыва адаптации организма к различным последствиям эндогенной интоксикации

является снижение функциональной активности естественных детоксицирующих систем организма (выведение веществ из клеток и тканей в кровь, удаление из крови и наружное выведение, значительное снижение увеличения скорости образования естественно элиминируемых веществ при максимальной скорости их выведения).

Кроме того, необходимость приспособления организма подростка к новым факторам среды, сочетается со стрессовыми факторами, связанными с межличностными отношениями, начиная с поступления в детские дошкольные учреждения, учебным процессом, использованием современных средств обучения, в частности, с широким внедрением в практику обучения компьютерной техники. Это предъявляет повышенные требования к адаптативным механизмам деятельности висцеральных и поведенческих систем. Совокупность изменений, наблюдаемых в состоянии здоровья подростков непрерывно более 6 часов в день занимающихся с компьютером включает заболевания опорно-двигательного аппарата (рук, шеи, спины, плечевого пояса, связанных с гиподинамией и вынужденной рабочей позой), органов зрения (точные зрительные работы на светящемся экране в условиях перепада яркостей в поле зрения, наличия мельканий, неустойчивости и нечеткости изображений) [Аветисов Э.С., Розенблюм Ю.З., Корнюшена Т.А., 1995], автономной нервной системы (долговременная кортикальная синхронизация проекционных зон зрительной системы негативным образом влияет на функциональное состояние окружающих зон и структур мозга) [Тарасова Л.А., Мухина Г.Н., Лагутина Г.Н., Матюхина В.В., 1995; Судаков К.В., 1995, 1998], центральной нервной и сердечно-сосудистой систем, желудочно-кишечного тракта [Демирчоглян Г.Г., 1997]. Отрицательное влияние оказывает постоянный шум у компьютера, нарушенный ионный режим, неблагоприятные показатели микроклимата (в воздухе могут содержаться химические вещества: озон, фенол, стирол, формальдегиду др) [Демирчоглян Г.Г., 1997]. И наконец, работа с видеодисплейными терминалами связана с воздействием статических электрических и импульсных электромагнитных полей низкой и сверхнизкой частоты, превышающих допустимые границы параметров неионизирующих электромагнитных излучений, что вместе с высоким эмоциональным напряжением существенно изменяет активность ЦНС, ведет к развитию неврозов, нейроциркуляторных дистоний, гипо- и гипертоний [Муратов Е.И., 1996; Полонников Р.И., 1997; Тарасова Л.А., Мухина Г.Н., Лагутина Г.Н., Матюхина В.В., 1995]. У подростков длительно занимающихся с компьютерами наблюдаются аллергические заболевания, повышается уровень заболеваемости органов дыхания, что объясняется, по-видимому, снижением резервных защитных иммунной системы [Демирчоглян Г.Г., 1997]. Целью настоящей работы было изучение факторов, обуславливающих переход подростков длительно и постоянно

подверженных информационно-эмоциональному напряжению, обусловленному работой с компьютерной техникой и интернетом, в группу часто и/или длительно болеющих подростков [Лысков Е.Б., Медведев С.В., Сандстрем М., 1995] и выявление субклеточных мишеней в иммунной системе и системе энергетического обеспечения к сочетанному воздействию различных стрессорных реакций формируемых при длительном информационно-эмоциональном напряжением при работе с компьютером.

Оказалось, что при интенсивной нагрузке (работе с компьютером) у 16 из 22-х отмечается развитие "компьютерного зрительного синдрома (жжения в глазах; чувства "песка" под веками; боли в области глазниц и лба; боли при движении глаз; покраснение глазных яблок), который проходит после 3 - 4-х часового отдыха. После 8 месяцев интенсивной работы у 77,3% обследованных подростков отмечаются постоянные головные боли, головокружение у 3,2%, периодическое снижение остроты зрения и двоение покраснения глаз у 49%, боли в области шейных позвонков у 35%, быстрое утомление при работе у 23,5%, частый насморк у 63,6%, остеохондроз шейных позвонков (статичная работа и повторяющиеся движения) - у 56%. периодическая тахикардия - у 86,5%, чувство тошноты - у 23%, почти у всех после длительной нагрузки повышаются на 10-20 мм рт. ст. цифры артериального давления, у 12 обследованных подростков появились жалобы на снижение аппетита, у 17 - на трудность засыпание, у 16 - на снижение памяти, у 18 - на снижение внимания по сравнению с началом учебного года, а 18 отмечают повышенную возбудимость и быструю смену настроения. После 2-х месячного летнего отдыха в начале учебного года жалобы на периодическую головную боль остаются всего у 10,5% подростков, на чувство тошноты - у 3%, на пароксизмальную тахикардию - 5%, астенопия - у 2,5%. Нормализация аппетита отмечается практически у всех подростков, трудность засыпания остается у 3%, быстрая непредсказуемая смена настроения у 3%, на быструю утомляемость - у 2%, на снижение памяти - у 5%, внимания - у 6%, резкая неадекватная реакция на внешние раздражители - у 3,5%.

С одной стороны, это может быть обусловлено изменениями иммунитета (известно влияние электромагнитных полей на иммунную систему). Следует также обратить внимание, что, ввиду наличия статических электрических полей, к экрану монитора притягиваются пылевые частицы, которые могут содержать антигены и бактериальную флору. Это также способствует развитию вышеуказанной патологии.

Таблица 5. Состояние здоровья часто и/или длительно болеющих подростков

Показатель	Количество эпизодов							
	в течение предшествующего года		От начала занятия с компьютером, через мес					
			3		6		1 год	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Частота ЛОР и респираторных инфекций	3,8± 0,4	3,6± 0,4	3,2 ± 0,3	3,9 ±0,4	3,9 ±0,2	5,5± 0,4*	3,6 ± 0,3	6,1± 0,4**
Среднее число пропусков образовательных учреждений	8,0± 0,5	14,8 ± 1,4**	9,0 ± 0,8	24,5 ± 2,6**	8,2 ±1,4	27,5± 2,8**	4,6 ±0,6	32 ±6***
Потребность антибактериальной терапии	13±4	23±4	15±3	39 ±7**	14±2	35,5± 5,4**	18, 6 ±3, 3	36,1± 6,4*
Как изменилось течение рецидивирующих инфекций ЛОР-органов и респираторного тракта								
Заболевание стало тяжелее протекать	-	+	-	++	-	++	-	++
Увеличились сроки заболевания	-	+	-	++	-	++	-	++
Потребность симптоматических и базисных препаратов (кроме антибиотиков)	-	+	-	+	-	+	-	++
Явились ли эти эффекты причиной занятия с компьютером с не соблюдением санитарно-гигиенических правил организации рабочего места		+		+		+		+

Примечание : *- сравнение с группой эпизодически болеющих подростков, достоверность различий средних : один знак - $p < 0,05$, два - $0,01$, три - $< 0,001$.

Длительная напряженная работа с компьютером, сочетающаяся с нарушением санитарно-гигиенических норм организации "рабочего места" и трудового распорядка безусловно представляет собой один из вариантов стресс-реакции, формирующей развитие долгосрочной устойчивой адаптации прежде всего за счет мобилизации центров головного мозга, энергетических ресурсов организма.

Таким образом, воздействие электромагнитного поля широкого спектра частот, импульсного характера, различной интенсивности в сочетании с высоким зрительным и нервно-эмоциональным напряжением вызывает изменения со стороны системы

энергетического обеспечения, иммунорезистентности организма и нервной системы, проявляющиеся в субъективных и объективных расстройствах. Работающие чаще всего предъявляют жалобы на головные боли, иногда с тошнотой и головокружением. В данной когорте подростков, чаще, чем у лиц контрольных групп диагностируются неврозы, нейроциркулярные дистонии, гипо и гипертония [Демирчоглян Г.Г., 1997; Муратов Е.И., 1996; Тарасова Л.А., Мухина Г.Н., Лагутина Г.Н., Матюхина В.В., 1995].

Анализируя результаты состояния иммунологического статуса подростков прежде всего отмечается, что напряженность иммунной системы к концу учебного года в группе часто болеющих относительно группы эпизодически болеющих подростков опосредована через снижение синтеза IgA, снижением клеточного иммунитета (табл. 5): уровня цитотоксических лимфоцитов $CD8^+$, продуцирующих интерферон- γ (ингибитор вирусной репликации) через 6 месяцев работы и воспалительных $CD4^+$ -лимфоцитов (осуществляющих рекрутирование макрофагов в места воспаления и играющих центральную роль в контроле координации механизмов противoinфекционной защиты от внутриклеточных патогенов) продуцирующих через 12 месяцев (вернее в промежутке от 6 до 12 мес).

Возможно, что рецидивирующие респираторные инфекции, регулярно воздействуют на иммунную систему организма подростка, вызывают избыточную активацию $CD3^+$, что в последующем приводит к хроническому изменению иммунорегуляторного индекса. Это может провоцировать замедленное торможение иммунных реакций в ходе респираторных инфекции (за счет развивающегося дефицита $CD8^+$ -лимфоцитов), что особенно опасно у подростков работающих с компьютером. Отмечается резкое возрастание специфического иммунитета. Нельзя исключить, что сочетание определенной фенотипической характеристики лейкоцитов складывающейся под воздействием длительной напряженной работы с компьютером с несоблюдением санитарно-гигиенических норм и порочного круга респираторных инфекций, в конечном итоге, может привести к формированию соответствующей патологии, например, атопической. И что в качестве профилактических мероприятий должны включать целенаправленное иммунологическое воздействие.

По-видимому, внутриклеточной мишенью хронического информационно-эмоционального перенапряжения, биохимическими (биологическими) маркерами стрессорной реакции организма в первую очередь является система энергетического обеспечения, редокс-потенциал НАД/НАДН и дыхательная цепь митохондрий. Так показано, что уже через три месяца работы с компьютерами редокс-потенциал крови

НАДН/НАДН (маркер дезадаптивных процессов в системе энергообеспечения), определяющего активность энергетических процессов в организме, что может в сочетании с дифференциальной чувствительности различных людей к следовым факторам (на метаболическом уровне) в зависимости от индивидуальных наследственных особенностей [Тарасова Л.А., Мухина Г.Н., Лагутина Г.Н., Матюхина В.В., 1995] способствовать формированию митохондриальной патологии в этой группе подростков.

Таблица 6. Динамика изменения иммунологического статуса часто и/или длительно болеющих подростков при длительном информационно-эмоциональном перенапряжении.

Показатель	Период обследования, мес			
	До	3	6	12
Лимфоциты, 10^9 /л				
I группа	4,9 ± 0,3	5,0 ± 0,2	4,95 ± 0,15	5,1 ± 0,2
II группа	4,97 ± 0,32	5,1 ± 0,2	5,3 ± 0,2	5,8 ± 0,2 ⁺⁺
CD3 ⁺ , %				
I группа	43 ± 4	47 ± 2	49 ± 3	51 ± 3
II группа	60 ± 4	62 ± 3	74 ± 5	79 ± 4 ⁺⁺
CD4 ⁺ , клетки/мкл				
I группа	36 ± 2	35 ± 3	33 ± 3	31 ± 2
II группа	38 ± 4	32 ± 3	30 ± 3	27 ± 2 ⁺⁺
CD8 ⁺ , клетки/мкл				
I группа	24,0 ± 1,0	23,5 ± 2,3	23 ± 2	22 ± 3
II группа	26 ± 3	22 ± 2	20 ± 3	16 ± 2 ⁺⁺
CD4 ⁺ /CD8 ⁺				
I группа	1,5 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1
II группа	1,46 ± 0,15	1,4 ± 0,2	1,55 ± 0,15	1,6 ± 0,1
3F3 ⁺ , 10^9 /л (%)				
I группа	0,59 ± 0,09	0,61 ± 0,05	0,58 ± 0,06	0,60 ± 0,02
II группа	0,58 ± 0,05	0,62 ± 0,04	0,64 ± 0,04	0,65 ± 0,03
IgA, мкг/мл				
I группа	1,9 ± 0,2	2,0 ± 0,3	2,1 ± 0,2	2,3 ± 0,3
II группа	2,1 ± 0,2	1,9 ± 0,2	1,8 ± 0,2	1,7 ± 0,2 ⁺⁺
IgE, МЕ/мл				
I группа	39 ± 3	53 ± 13	49 ± 6	50 ± 8
II группа	43 ± 3	166 ± 23 ^{***}	270 ± 28 ^{***}	254 ± 34 ^{***}

Примечание: обозначения те же, что и в табл. 4.

Интерес представляет тот факт, что с одной стороны продукция биоцидных свободных форм кислорода фагоцитами – полиморфоядерными лейкоцитами и макрофагами [Спицын В.А., 1991] является защитной реакцией, выражающуюся в перестройке метаболизма клетки - увеличению ионной проницаемости клеточной мембраны, усилению окисления глюкозы и резкому возрастанию (в десятки раз) потребления кислорода, сопровождающегося образованием O_2^- . Это явление называют "дыхательным" или "респираторным взрывом" [Тарасова Л.А., Мухина Г.Н., Лагутина Г.Н., Матюхина В.В., 1995], связанного с резким повышением образования НАДФН в клетке в результате активации гексозомонофосфатного шунта и окисления НАДФН ферментным комплексом - НАДФН-оксидазой с образованием супероксиданного радикала [Темурьянц Н.А., Владимирский Б.М., Тушкин О.Г., 1992]. Именно генерацией супероксиданион радикала объясняются не только микробицидное и цитотоксическое, но также в немалой степени и иммунорегуляторное действие активированных фагоцитов. Так, показано, что O_2^- супероксидный анион радикал участвует в выработке хемотаксических пептидов [Чернух А.М.] и индукции синтеза интерлейкин 1- подобного фактора [Aust S. D., Roerig D. L, Pederson T. C., 1972]. При этом отмечается резкое компенсаторное возрастание активности митохондриальной фракции СОД лимфоцитов. Наиболее важным моментом, прогностически неблагоприятным фактором, по-видимому, следует считать, отсутствие в повышении активности СОД в группе часто болеющих детей к концу учебного года (табл. 7).

В когорте же часто и/или длительно болеющих подростков, когда под воздействием дополнительного хронического адаптационного процесса, требующего напряженной работы системы энергетического обеспечения с начальными признаками дезадаптации в системах энергетического обеспечения в организме вырабатывается повышенное количество активных форм кислорода, что выражается в постоянно повышенной активности СОД, митохондриальной, постоянным выходом цитохрома С из клетки и нарушением редокс-потенциалов НАД/НАДН и НАДФ/НАДФН дыхательный взрыв, связанный с адаптацией к воспалительному процессу замыкает порочный круг поддержания и прогрессирования дисбаланса в системе энергетического обеспечения. Длительное воздействие стрессорных факторов, связанных с работой с компьютерами при несоблюдении норм организации рабочего места и санитарно-гигиенических правил у подростков в поздний период подросткового возраста наслаивается на определенную адаптационную уязвимость периода гормональной перестройки, являющегося самостоятельным мощным стрессовым фактором.

Практически важно, что состояние здоровья развивающегося организма определяется взаимодействием и взаимовлиянием изменяющихся во времени различных факторов риска. В связи с этим в группе подростков длительно и постоянно работающих с компьютером повышается риск срыва адаптации и развития состояний предболезни (пограничного состояния как отклонений в структуре и функции, которые неравноценны заболеванию, но могут ему предшествовать).

Таблица 7. Динамика изменения в системах энергетического обеспечения и антиоксидантной защиты у часто и/или длительно болеющих подростков при длительном информационно-эмоциональном перенапряжении.

Показатель	Период обследования, мес			
	До	3	6	12
НАД, нмоль/мл				
I группа	19,0 ± 2,3	18,5±1,3	19,2±1,6	20,0±0,8
II группа	20,1±1,3	18,6±2,3	17,0±1,3	16,5±1,5* +
НАДН, нмоль/мл				
I группа	29 ± 3	26± 2	31± 2	30± 2
II группа	31 ± 3	27± 1	31± 3	28± 2
НАД/НАДН				
I группа	0,74± 0,06	0,7 ± 0,1	0,61 ± 0,05	0,67 ± 0,07
II группа	0,72± 0,05	0,67± 0,08	0,55 ± 0,05	0,59± 0,05*
НАД+НАДН, нмоль/мл				
I группа	48 ± 3	45± 2	41± 2	50± 2
II группа	51 ± 3	46± 1	48± 3	45± 2
Mn-СОД, нмоль цитохрома С /мл				
I группа	2,1± 0,2	2,4±0,2	2,5±0,2	2,6±0,2
II группа	2,4 ± 0,3	2,9±0,4	2,1±0,2	1,9±0,2* ⁺

2.2.1.2. Влияние длительно информационно-эмоционального напряжения на психологический статус и состояние серотонинергической регуляции у подростков.

В основной когорте у 6 из 8 подростков к концу академического года головная боль отмечается практически каждый день, тогда, когда головная боль в контрольной группе почти не регистрируется. Обращает на себя внимание тот факт, что в основной когорте к концу года повышается частота респираторных жалоб. В основной группе к концу академического года происходит достоверное снижение остроты зрения, концентрации

внимания, памяти, развивается быстрая утомляемость, лабильность нервно-эмоционального статуса, нарушение сна (табл. 8).

Таблица 8. Изменение параметров психо-эмоционального статуса у подростков длительно работающих с интернетом на персональном компьютере

Параметры	Контрольная группа		Основная группа	
	I исследование	II исследование	I исследование	II исследование
Нарушение зрения	3,9±0,2	3,1±0,3**	3,9±0,2	2,3±0,2*** ##
Снижение концентрации внимания	3,5±0,2	3,0±0,3	3,6±0,2	2,8±0,2***
Быстрая утомляемость	3,8±0,2	3,0±0,4*	3,8±0,2	3,0±0,2**
Снижение памяти	3,7±0,3	3,5±0,3	3,8±0,2	3,0±0,2** #
Нарушение сна	2,6±0,2	1,9±0,4*	2,5±0,3	1,8±0,3*
Быстрая смена настроения	3,2±0,3	3,0±0,2	3,3±0,2	3,2±0,2

Примечание: сравнение показателей I и II исследования – *, контрольной и основных групп – #. Достоверность различий средних $P < 0,05$ – один знак, $P < 0,01$ – два, $P < 0,001$ – три.

Полученные результаты указывают на нарушение процессов адаптации, которые за этот период не приводят к формированию патологических сдвигов, но требуют своевременной как нефармакологической, так и фармакологической превенции. Оказалось, что у подростков длительно работающих за компьютером с большими массивами информации, необходимыми для освоения учебного материала, и развившимся синдромом информационного стресса, отмечается снижение в крови содержания свободного серотонина на 99,65%. С изменением уровня серотонина связано: нарушение памяти, регуляция температурных реакции, общее самочувствие, сексуальное поведение, тонус мышц, регуляция процессов сна, состояние эндокринной и сердечно-сосудистой системы [Baldwin D, Rudge S., 1995; Shibuya T, Sato K., 1986]. При этом степень снижения уровня серотонина коррелирует с нарушением сна ($r=0,69$; $p<0,05$) что, по видимому, должно вызвать включение адаптогенных механизмов.

Снижение уровня серотонина сопровождается увеличением общей оксидантной активности в 1,7 раз и снижением общей антиоксидантной активности в 1,5 раз (табл. 9). Предполагается, что ответом на снижение серотонина может быть повышение содержания мелатонина в крови, который является компонентом неферментативной системы антиоксидантной защиты, необходимого для предотвращения оксидантного стресса, который регистрируется отношением антиоксидантной активности к общей оксидантной

активностью. У подростков длительно работающих за компьютером с большими массивами информации без соблюдения правил гигиенических норм, развивается психо-эмоциональное напряжение, что вызывает напряженность серотонинэргической регуляции активности антиоксидантной защиты крови.

Таблица 9. Изменение содержания серотонина и активности антиоксидантной системы у подростков при длительно информационно-эмоциональном напряжении.

Параметры	Контрольная группа		Основная группа	
	I исследование	II исследование	I исследование	II исследование
ООА, %	13,2±2,4	18,1±3,5	12,2±2,1	21,3±3,1 ^{***}
ОАА, %	3,4±4,2	39,3±4,0 ^{***}	34,5±4,8 ^{***##}	35,7±3,1
АА/ ОА	2,65±0,25	2,15±0,25	2,85±0,35	1,7±0,2 ^{*#}
Свободный серотонин, нмоль/мл	0,18±0,02	0,13±0,03	0,16±0,02	0,056±0,006 ^{***##}

Примечание: обозначения те же, что и в табл. 1, ООА - общая антиоксидантная активность, ОАА - общая антиоксидантная активность.

2.2.2. Моноаминоэргическая регуляция поведенческих реакций при гипокинезии не половозрелых животных.

Гипокинезия одновременно с нарастанием нервно-психического напряжения гипокинезия (из-за ограничения общей двигательной активности и монотонной мышечной работы в условиях современного учебного процесса и быта подростков) является мощным стрессорным агентом и патогенетическим фактором риска развития прежде всего сердечно-сосудистых и цереброваскулярных [Буреш Л., Бурешова О., Хьюстон Дж., 1991; Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н., 1980; Verbitsky E., Kolpakova N., Topchiy I., Lysenko A., 1998]. Резкое однократное ограничение двигательной активности, не говоря уже о повторных, хроническом ее ограничении, приводит к тяжелым продолжительным поведенческим изменениям. Длительная хроническая гипокинезия в сочетании с большими потоками обрабатываемой информации способствует развитию информационной патологии вегетонейроциркуляторных дистоний (ВНД) и других невротических расстройств [Гельман В.Я., Кременевская С.И., 1990]. Целью настоящей

работы было изучить взаимосвязь поведенческих реакций при гипокинезии у белых неполовозрелых крыс и сдвигов в моноаминоэргических системах головного мозга.

В первый час ограничения подвижности у неполовозрелых крыс исчезает реализация груминга и существенно увеличивается вклад мелкой двигательной активности (активные попытки животных освободиться), тогда как представленность поведенческого сна существенно не изменяется. Одновременно увеличивается время релаксированного бодрствования, что связано, по-видимому, со склонностью животных с высоким уровнем тревожности к "затаиванию" уже при предъявлении афферентного стимула малой интенсивности. Оказалось, что эти изменения сопровождаются снижением уровня норадреналина (табл. 10) в гипоталамусе, снижением массы селезенки и сдвигом лейкоцитарной формулы. В остром периоде стрессового воздействия (резкого ограничения двигательной активности) значительный выброс норадреналина из гипоталамуса и адаптационная активация серотонинергической системы (резкое снижение отношения норадреналин/серотонин) может быть одной из причин развития язвы желудка у крыс, подвергнутых иммобилизационному стрессу [Smirnov K., 1991].

Увеличение времени ограничения подвижности до 12 ч (стадия резистентности острого стресса, приходящаяся на дневное время суток) у неполовозрелых крыс ведет к снижению продолжительности дневного сна и груминга и увеличению времени релаксированного бодрствования, а доля мелкой двигательной активности, резко повышенная в первый час возвращается к нормальному уровню.

Таблица 10. Содержание биогенных аминов (нг/г влажной ткани) в гипоталамусе при гипокинезии неполовозрелых крыс.

Показатель	контроль	Гипокинезия, ч		
		1	24	72
Адреналин	56±6	88±6 ^{***}	77±5 ^{**}	69±4 ^{*#}
Норадреналин	676±34	456±45 [*]	767±36 ^{*##}	787±35 ^{*###}
НА/А	12±2	5,2±1,6 ^{***}	10±1 ^{##}	11,4±1,3 ^{###}
ДОФА	605±26	585±46	599±34	623±16
Дофамин	1009±67	1456±78 ^{***}	1678±78 ^{***}	1545±46 ^{***}

Д/(НА+А)	0,83±0,06	3,2±0,4 ^{***}	2,0±0,3 ^{***##}	1,8±0,2 ^{***##+}
Серотонин	781±31	1345±43 ^{***}	1832±6 ^{***#}	1434±45 ^{***+}
НА/Сер	0,87±0,08	0,33±0,05 ^{**} *	0,42±0,07 ^{**} *	0,55±0,06 ^{***}

Примечание: Д – дофамин, НА – норадреналин, А – адреналин, Сер – серотонин; сравнение различий средних: * – с контролем, # – с гипокинезией 1ч, + – 24 ч, один знак – $p < 0,05$, два – $< 0,01$, три – $< 0,001$.

В последующие 12 ч (ночное время) доля релаксированного бодрствования и поведенческого сна остается на уровне 12 ч, вклад мелкой двигательной активности и груминга прогрессивно снижаются. Кроме того, в 78% случаев к концу первых суток гипокинезии отмечается подергивание мышц морды и дрожание хвоста. В спектре биогенных аминов обращает на себя внимание резкое повышение уровня дофамина в гипоталамусе, что, по-видимому, и лежит в основе отрицательных эмоциональных реакций, предрасположенности к срыву адаптационных механизмов (табл. 10). Накопление дофамина в структурах мозга может усиливать глутамат-индуцированную гибель нейронов при стрессе, стимулировать образование цитотоксических метаболитов аутоокисления катехоламинов, образующихся под воздействием активных форм кислорода. Есть основание считать, что 24 ч гипокинезия – переходная фаза стресс-реакции (преморбидное состояние), которое под воздействием любого дополнительного стресс-фактора может перейти в фазу истощения. На истощение глюкокортикоидной функции коры надпочечников указывают и изменения в белой крови при 24 ч гипокинезии: при нормальном уровне лимфоцитов наблюдается повышение уровня нейтрофилов и моноцитов.

На 3-сутки после действия гипокинезии в светлое время суток вклад груминга остается сниженным, тогда как повышается длительность вертикальной локомоции и релаксированного бодрствования. В ночное время представленность поведенческого сна и релаксированного бодрствования выше, а локомоции, горизонтальной и вертикальной ниже контрольных значений. При этом в гипоталамусе уровень норадреналина и адреналина остается повышенным относительно нормального, однако содержание адреналина и дофамина снижается относительно, наблюдаемого через 24 ч гипокинезии.

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что основными и наиболее общими патогенетическими механизмами и условиями возникновения ВНД у неполовозрелых крыс в условиях гипокинезии являются дисбаланс между торможением и

возбуждением, ослабление тормозных и преобладание возбуждающих механизмов в высших отделах головного мозга. Наиболее значимыми являются сдвиги в уровне серотонина и соотношении симпатoadреналовой к серотонинергической регуляции (табл. 5). При этом серотонин и продукт его метаболизма, мелатонин, участвуют в регуляции смены отдельных стадий сна и бодрствования, что позволяет рассматривать сдвиги в уровне серотонина как регуляторный механизм инверсии цикла "активность-покой".

2.2.3. Метод дифференцировки токсического действия различных металлов на клетки почек, печени и сердца, половозрелых животных.

Экопатогенные факторы, особенно в сочетании с другими причинными агентами, увеличивают риск развития хронических болезней особенно в детском возрасте. Основной внутриклеточной мишенью действия тяжелых металлов, как и многих других химических вредных веществ является митохондрия, что подтверждается изменением их формы, структуры и размеров. В основе токсического действия металлов на функцию митохондрий лежит ингибирование электрохимического градиента вследствие повреждения как дыхательной цепи митохондрий, так и цикла Кребса и гликолиза, поставляющих НАД, что ведет к изменению мембранного потенциала. Показано, что кадмий способен ингибировать цитратсинтетазу, сукцинатдегидрогеназу в цикле Кребса и цитохром-С-оксидазу дыхательной цепи митохондрий, снижать способность митохондрий окислять НАД на 35%. Нарушение дыхательной функции митохондрии неминуемо ведет к активации свободно радикальных механизмов под воздействием тяжелых металлов, усилению перекисного окисления липидов, нарушение кальциевого гомеостаза и окислительного метаболизма клетки.

В связи с этим в настоящей работе была поставлена задача с использованием нового уникального метода определения токсического действия тяжелых металлов выявить чувствительность к ним различных органов в эксперименте у половозрелых крыс.

В каждой митохондрии имеется механизм, посредством которого восстановленный НАД (НАД·Н, где Н – водород), образовавшийся в цикле трикарбоновых кислот, передает свою пару электронов кислороду. Перенос, однако, не происходит напрямую. Электроны как бы передаются «из рук в руки» и, лишь пройдя цепь переносчиков, присоединяются к кислороду. Все компоненты этой системы, находящиеся в митохондриях, фиксированы в пространстве и сцеплены друг с другом. Такое их состояние облегчает перенос электронов. В цепи переноса электронов на каждую пару электронов, перенесенную от

НАДН на O_2 , синтезируется 3 молекулы АТФ. Поскольку от каждой молекулы глюкозы отщепляются и передаются молекулам НАД 12 пар электронов, в общей сложности на каждую молекулу глюкозы образуется 36 молекул АТФ. Этот процесс образования АТФ в ходе окисления называется окислительным фосфорилированием.

Оказалось, что в крови степень ингибирования при длительной экспозиции металлами *Cu, Zn, Cd, Mn, Pb, Hg* одного или обоих редокс потенциалов (НАД/НАДН, НАДФ/НАДФН) крови наибольшая в случае марганца > свинца > ртути, затем убывает $Cu > Zn > Cd$ и начинается с концентрации металлов $5 \cdot 10^{-4}$ М. При этом в отличие от митохондрий печени, например, токсическое действие цинка, меди, свинца и кадмия проявляется уже при концентрации превышающей нормальную в два раза и затем практически остается на этом уровне при увеличении концентрации еще в 5 и 10 раз. Тогда как в печени и почках двукратное увеличение концентрации меди и цинка активирует дыхательную цепь, в крови и легких, происходит ингибирование (рис. 23).

Митохондриальная дыхательная цепь печени очень чувствительна к повышению содержания ртути и марганца, несколько менее кадмия и свинца и оказалась высокорезистентной к увеличению концентрации цинка и меди.

Картина наблюдаемая в суспензии митохондрий легких очень напоминает характерную для крови.

В сердце при высоких дозах токсических эффектов убывает в ряду $Pb > Cd > Zn > Hg > Cu > Mn$, однако при концентрации всего в два раза превышающую нормальную наиболее выраженное токсическое действие оказывает ртуть, марганец и цинк. Высокая токсичность изученных металлов в действии на основную функцию митохондрий синтез легкодоступного для использования источника энергии АТФ, обусловлена стимулированием тяжелыми металлами утечки протонов (проникновение протонов через мембрану митохондрий как пассивно, так и через изменение стехиометрии протонной помпы), снижая тем самым эффективность окислительного фосфорилирования. Это усугубляется способностью кадмия, ртути, свинца, хрома и некоторых других металлов депонироваться в паренхиматозных органах [Ambrosi I., Lomonte C., Soleo L. et al., 1990; Knobeloch L.M., Blondin G.A., Lyford S.B. and Harkin J.M., 1990; Passada R., 1983] и медленным выведением из организма. Период полувыведения для кадмия составляет более 10 лет, для свинца - около 30 лет, для хрома - около 1 месяца [Aiyar J., Bercovits H.J., Floyd R.A. et al., 1991;].

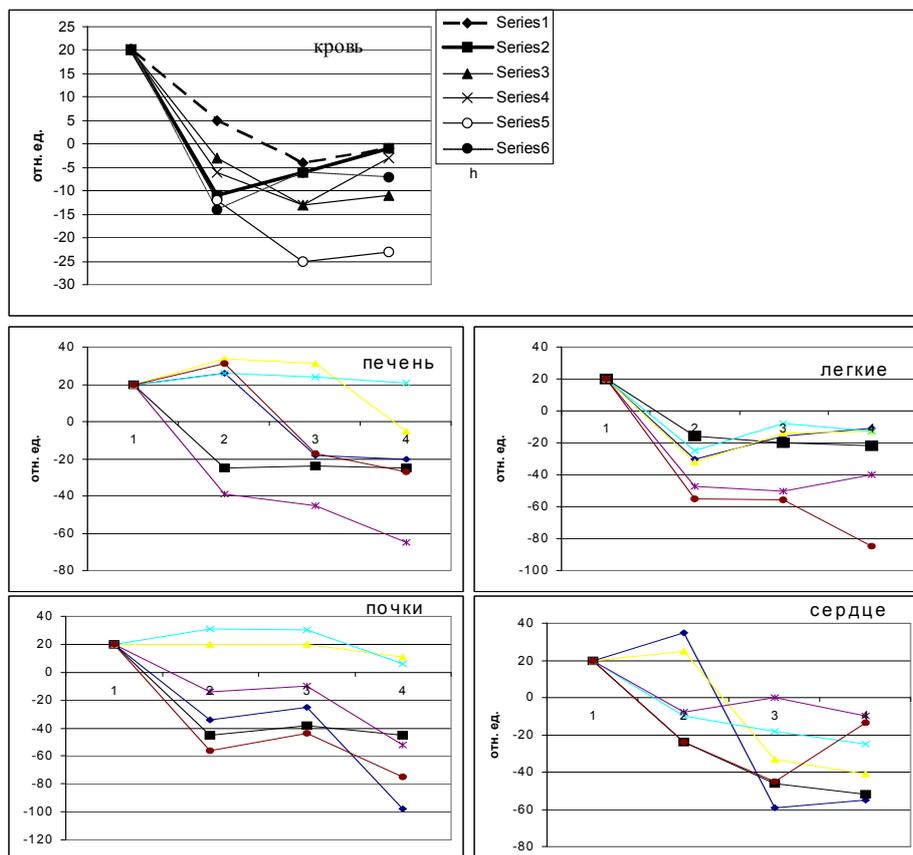


Рис 25. Концентрационные зависимости действия тяжелых металлов на дыхательную цепь митохондрий различных органов неполовозрелых крыс.

По оси ординат - изменение интенсивности функционирования дыхательной цепи, по оси абсцисс - концентрация металла, мМ.

1 - Zn, 2 - Cu, 3- Pb, 4- Cd, 5- Hg, 6- Mn.

Нарушение функции митохондрий при воздействии ртути, кадмия, свинца, мышьяка, хрома в конечном итоге проявляется снижением продукции макроэргов, уменьшением соотношения НАД/НАДН, НАДФ/НАДФН и как следствие АТФ/АДФ [Argese E., A. Marcomini, P. Miana, C. Bettiol and G. Perin. 1994; Coban T., Beduke Y., Iscan M. 1996; Goyer A., 1990], падением активности АТФ-зависимых ферментных систем, за счет нарушения фосфорилирования фермента [Passada R., 1983]. Таким образом, в основе действия тяжелых металлов лежит ингибирование окисления НАД-зависимых субстратов и возможно цитохром-С-оксидазу [10]. Изменение активности цитохром-Р-450 играет роль в токсическом действии свинца и кадмия [Knobeloch L.M., Blondin G.A., Lyford S.B. and Harkin J.M., 1990, Petering D.H., Fowler B.A., 1986]. Выявляемую при хроническом действии малых доз свинца и ртути копропорфирурию связывают с блоком

копропорфириногенаксидазы, локализованной в межмембранном пространстве митохондрий.

В качестве "ловушек" металлов могут выступать специфичные белки, связывающие двухвалентные металлы, такие как металлотионеин (белок с м.м. 6,5 кД, высоким содержанием цистеина (около 30%) и отсутствием в молекуле ароматических аминокислот, синтезируется в печени и почках), связывающий кадмий и цинк, свинец-связывающий белок, трансферрин, церулоплазмин. Свинец-связывающий протеин имеет м.м. около 27 кД, богат глутаминовой, аспарагиновой аминокислотами, глицином, цистеином и связывает около 40-50 мг свинца на 1 мг [Ambrosi I., Lomonte C., Soleo L. et al. 1990; Coban T., Beduke Y., Iscan M., 1996]. К неспецифичным металл-связывающим белкам относятся сывороточный альбумин, глутатион, мембранные белки базолатеральной и/или апикальной поверхности канальцевого эпителия. Образование внутриклеточного комплекса "металл-протеин" направлено на снижение цитоплазматической концентрации металла и играет антиоксидантную роль [Coban T., Beduke Y., Iscan M., 1996; Fowler B.A., 1992]. Механизм действия ксенобиотиков включает и прямое генотоксическое действие (нарушение структуры и процессов репарации ДНК, нестабильность хромосом, хромосомные aberrации), ферментотоксическое (за счет связывания SH-групп ферментов или вытеснения эссенциальных металлов из металлоферментов) и мембранопатологическое действие [Knobeloch L.M., Blondin G.A., Lyford S.B. and Harkin J.M., 1990; Rossi E., Costin K.A., 1990]. Знание патогенетических механизмов цитотоксического действия тяжелых металлов обосновывает использование в профилактике и терапии заболеваний, связанных с хроническим действием ксенобиотиков, антиоксидантов, мембраностабилизаторов, препаратов, улучшающих функцию митохондрий, и блокаторов кальциевых каналов. Экопатогенные факторы, особенно в сочетании с другими причинными агентами, основной внутриклеточной мишенью действия которых является митохондрия, увеличивают риск развития хронических болезней особенно в детском возрасте.

2.2.4. Функциональный ответ и резервные возможности стресс-лимитирующих систем у частоболеющих подростков.

Простудные заболевания, повторные инфекции уха, горла, носа, острые и хронические бронхолегочные инфекции составляют основной перечень заболеваний в

детском возрасте. При этом возрастает популяция подростков у которой отмечаются частые респираторные заболевания в основном из-за транзиторных отклонений и возрастных особенностей иммунной системы детского организма с высоким риском развития хронических заболеваний [Земсков А.М., Земсков В.М., Золоедов В.И. и др., 2002; Маркова Т.П., Чувиров Д.Г., 2002]. Установлены сложные регуляторные взаимоотношения по типу обратной связи между интерлейкином-1 (Ил-1) и глюкокортикоидными гормонами, а сам Ил-1 обладает прямым действием на гипоталамо-нейрогипофизарную систему, вызывая активацию аденокортикотропной функции гипофиза с участием адренергических систем [Земсков А.М., Земсков В.М., Золоедов В.И. и др., 2002]. Показан также активирующий эффект глюкокортикоидов на состояние ферментного комплекса с НАДРН (никотинамидадениндинуклеотид фосфата)-оксидазой мембраны фагоцитов [Clark R.A., Leidal K.G.P., Pearson D.W., Nauseef W.M. 1987]. Предполагается, что повышение активности НАДРН-оксидазы, индуцируя увеличение продукции супероксидного аниона (и других АФК, в частности гидропероксида), модулирует эффект глюкокортикоидов на состояние иммунной системы [Clark R.A., Leidal K.G.P., Pearson D.W., Nauseef W.M. 1987; Gardner A.M., Xu F.H., Fady C., et al., 1997]. И что, что АФК-зависимый эффект лежит в основе глюкокортикоид-индуцированного апоптоза лимфоцитов при стрессовых воздействиях [Clark R.A., Leidal K.G.P., Pearson D.W., Nauseef W.M. 1987; Gardner A.M., Xu F.H., Fady C., et al., 1997; Hassan H.M., Schrum L.V., 1994]. В связи с этим в работе была поставлена задача изучить роль увеличения активности НАДН- и НАДРН-оксидаз-зависимого образования АФК в глюкокортикоид-индуцированном апоптозе лимфоцитов у подростков при ОРВИ.

В группе с ОРВИ выявлены нарушения иммунного статуса в виде депрессии клеточного звена, дисбаланса Т-хелперов и Т-супрессоров (табл. 11). В отличие от контрольной группы практически здоровых подростков в остром периоде ОРВИ, наблюдается снижение уровня Т-клеток и $CD4^+$, тогда как у первой отмечается тенденция к увеличению уровня $CD4$ (Т-хелперов) при нормальном уровне Т-супрессоров (табл. 11).

Показано, что при ОРВИ (стресс-фактор) у подростков снижается содержание НАДФ и возрастает содержание восстановленной его формы (табл. 12). Это ведет к резкому снижению редокс-потенциала, что в сочетании со снижением содержания ключевого фермента цепи переноса электронов, цитохрома с, указывает на нарушения в системе использования кислорода в каскаде реакций образования основного источника энергии в клетке – АТФ. Одновременно возрастает как собственная, так и в еще большей

степени дексаметазон-индуцированная НАДРН-оксидазная активность лимфоцитов (табл. 13). При этом дексаметазон-индуцированная активность НАДФН-оксидазы превышает собственную активность в контрольной группе в 1,7 раза, а в группе подростков с ОРВИ в 3 раза.

Отмеченные сдвиги в системе энергообразования сопряжены с нарушениями резервных возможностей системы антиоксидантной защиты, и особенно ее ферментативного звена. Активность ключевого фермента системы антиоксидантной защиты – СОД повышается СОД в 3 раза, а фермента нейтрализующего гидропероксидный анион, каталазы, в 4 раза. Однако, есть все основания считать, что такое компенсаторное повышение активности ферментов антиоксидантной защиты, в ответ на повышенное образование АФК при ОРВИ, недостаточно, поскольку апоптоз лимфоцитов, несмотря на это, также ускоряется. Оказалось, что скорость гибели митохондрий (митоптоз) лимфоцитов крови больных ОРВИ под воздействием МТТ значительно больше, чем в случае лимфоцитов практически здоровых больных. Причем количество жизнеспособных лимфоцитов уменьшается под воздействием дексаметазона и в значительной степени купируется под воздействием введения экзогенной каталазы в концентрации 100 U/мл через 4 часа инкубации. В случае лимфоцитов подростков с ОРВИ, несмотря на повышение активности эндогенной каталазы, концентрация экзогенного фермента, при которой происходит значимое ингибирование митоптоза в 2,7 раз превосходит таковую в лимфоцитах практически здоровых подростков, и начинается не через 4 часа инкубации с каталазой, а через 6 часов. Более того, оказалось, что введение НАДР в концентрации 10 мМоль/мл лимфоцитов восстанавливает редокс-потенциал лимфоцитов и ингибирует дексаметазон-индуцируемый апоптоз клеток в значительно большей степени и уже через 30 мин после инкубации с суспензией лимфоцитов, чем каталаза.

Таблица 11. Состояние иммунной системы и системы энергетического обеспечения лимфоцитов у часто болеющих детей и подростков

Показатель/группа	Практически здоровые	Не часто болеющие	Часто болеющие
-------------------	----------------------	-------------------	----------------

Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$6,9 \pm 0,8$	$7,1 \pm 1,1$	$5,3 \pm 0,8$
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	$3,5 \pm 0,4$	$4,1 \pm 0,5$	$3,0 \pm 0,4$
$\text{CD}3^+$, $10^9/\text{л}$	$2,35 \pm 0,25$	$2,24 \pm 0,21$	$1,67 \pm 0,15$
$\text{CD}4^+$, $10^9/\text{л}$	$1,25 \pm 0,15$	$1,4 \pm 0,2$	$1,43 \pm 0,08$
$\text{CD}8^+$, $10^9/\text{л}$	$0,9 \pm 0,1$	$0,94 \pm 0,06$	$0,83 \pm 0,08$
$\text{CD}16^+$, $10^9/\text{л}$	$0,51 \pm 0,04$	$0,52 \pm 0,05$	$0,49 \pm 0,05$
$\text{CD}4^+/\text{CD}8^+$,	$1,4 \pm 0,1$	$1,48 \pm 0,09$	$1,72 \pm 0,12^{***\#}$
$\text{CD}72^+$, $10^9/\text{л}$	$15,4 \pm 0,6$	$16,7 \pm 0,5$	$17,5 \pm 0,8$

Примечание: * - сравнение различий между двумя группами, один знак значимость различий средних - $<0,05$, два - $<0,01$, три - $<0,001$.

Таблица 12. Состояние системы энергетического обеспечения лимфоцитов у часто болеющих детей и подростков

Показатель/группа	Практически здоровые	Не часто болеющие	Часто болеющие
НАДФ, нмоль/мл	$17,6 \pm 1,2$	$17,0 \pm 0,6$	$16,7 \pm 1,1$
НАДФН, нмоль/мл	$18,9 \pm 1,2$	$19,4 \pm 0,8$	$22,7 \pm 1,6$
НАДФ/НАДФН	$0,94 \pm 0,05$	$0,88 \pm 0,04$	$0,74 \pm 0,07^{***\#}$
Цитохром с, нмоль/мл	$0,75 \pm 0,06$	$0,71 \pm 0,04$	$0,63 \pm 0,05$
Цитохромоксидаза, нмоль/мл	$0,65 \pm 0,05$	$0,61 \pm 0,04$	$0,60 \pm 0,05$
АТФ, рМоль/ 10^3 клеток	$5,1 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,2$	$3,85 \pm 0,4^{***}$
АДФ, рМоль/ 10^3 клеток	$2,1 \pm 0,5$	$2,3 \pm 0,2$	$2,65 \pm 0,12^{***}$
АТФ/АДФ	$2,4 \pm 0,5$	$2,1 \pm 0,2$	$1,45 \pm 0,15^{***\#}$

Примечание: * - сравнение различий между двумя группами, один знак значимость различий средних - <0,05, два - <0,01, три - <0,001.

Таблица 13. Состояние системы антиоксидантной защиты и НАДФН-оксидазной активности лимфоцитов у подростков при ОРВИ.

Показатель/группа	Практически здоровые	ОРВИ
НАДРН-оксидазная активность	265±23	289±12*
Дексаметазон-индуцированная НАДН-оксидазная активность	415±24	561±32*
Каталаза, $H_2O_2^-$ мл / мин	3,2±0,2	13,4±0,6***
MnСОД, усл.ед.	2,1±0,2	6,8±0,9***

Примечание: * - сравнение различий между двумя группами, один знак значимость различий средних - <0,05, два - <0,01, три - <0,001.

Таким образом, активация НАДН-оксидазы мембраны клеток и лимфоцитов, в частности, выявляемая под действием дексаметазона, по-видимому, лежит в основе повышения скорости апоптоза при инфекционно-воспалительных процессах. При этом поддержание редокс-потенциала лимфоцитов, по-видимому, является одним из ключевых сенсорных механизмов ингибирования ускорения каскада апоптоза.

Высокое регуляторное сопряжение функционирования дыхательной цепи митохондрий, системы антиоксидантной защиты и иммунологических механизмов становится одной из основных мишеней поражения при острых респираторных инфекциях у подростков. Показан активирующий эффект глюкокортикоидов на активность НАДФН-оксидазы мембраны лимфоцитов, ответственной за повышение образования супероксидного радикала в клетках. Повышение активности НАДФН-оксидазы, индуцируя увеличение продукции супероксидного аниона (и других АФК, в частности гидропероксида), ведет к сдвигам в состоянии иммунной системы и ускорению апоптоза.

Высказывается предположение, что АФК-зависимый эффект лежит в основе глюкокортикоид-индуцированного апоптоза лимфоцитов при стрессовых воздействиях. Сделан вывод, что гиперпродукция гидропероксидного аниона, выявляемая в лимфоцитах под воздействием дексаметазона и гиперактивация НАДН-оксидазы при

ОРВИ лежит в основе повышения скорости апоптоза при инфекционно-воспалительных процессах. При этом поддержание редокс-потенциала лимфоцитов, по-видимому, является одним из ключевых сенсорных механизмов в ингибировании процесса ускорения апоптотических процессов.

У всех ЧБД выявлены нарушения иммунного статуса в виде депрессии клеточного звена, дисбаланса хелперов и супрессоров, угнетения выработки Ig A и гиперпродукции Ig M. При изучении факторов местного иммунитета у ЧБ детей и подростков выявлено снижение содержания секреторного IgA в слюне ($15,4 \pm 0,8$ мг%) по сравнению с редко болеющими детьми ($23,1 \pm 1,9$ мг%, $p < 0,01$). Несколько снижен уровень и активность лизоцима в носовом секрете (у ЧБ – $21,4 \pm 0,6$ мкг/мл, у редко болеющих – $25,6 \pm 0,7$ мкг/мл, $p < 0,05$). Уровень IgA и его фиксация на слизистых оболочках считается наиболее важным фактором, обеспечивающим резистентность к инфекциям. Снижение синтеза IgA и лизоцима указывает на иммунодефицит в системе местного иммунитета у данной категории больных. Исследование функциональной активности нейтрофильных лейкоцитов в НСТ–тесте показывает снижение данного показателя (спонтанная активность – $4,5 \pm 1,4\%$; активированная – $20,2 \pm 2,8\%$; у редко болеющих детей $8,2 \pm 1,8\%$ и дисиммуноглобулинемия выявлена у 75,9% детей. У 21% детей и подростков отмечено снижение абсолютного количества В–лимфоцитов.

Показано, что у ЧБ подростков, несмотря на недостоверное снижение содержания НАДФ и его восстановленной формы НАДФН, редокс потенциал системы энергетического обеспечения снижается (табл. 12). Одновременно в лимфоцитах уменьшается содержание ключевого фермента цепи окислительного фосфорилирования в митохондриях – цитохрома с, тогда как содержание цитохромоксидазы не изменяется (цитохромоксидаза является более устойчивой к гипоксическим и другим воздействиям, чем цитохром с). Оказалось, что между снижением содержания цитохрома с, редокс потенциала НАДФ/НАДФН и повышением иммунорегуляторного индекса существует отрицательная множественная корреляционная взаимосвязь ($R = 6,8$, $p < 0,005$). Снижение редокс-потенциала в сочетании со снижением ключевого фермента цепи переноса электронов, цитохрома с, указывает на нарушения в системе использования кислорода в каскаде реакций образования основного источника энергии в клетке – АТФ в митохондриях лимфоцитов. В результате содержание АТФ в лимфоцитах ЧБ подростков в первые две недели после перенесенной ОРВИ остается сниженной на 21%. Более того, соотношение АТФ/АДФ сдвигается в сторону динуклеотида (табл. 12), что также указывает на нарушение процессов синтеза АТФ в лимфоцитах. Полученные результаты обосновывают

применение фармакологических средств, направленных на купирование развития биоэнергетической недостаточности у часто болеющих детей и подростков.

2.2.5. Функциональный ответ и резервные возможности стресс-лимитирующих систем у часто болеющих подростков.

Распространенность атопической сенсibilизации – основного фактора риска развития астмы и других аллергических заболеваний в подростковом возрасте постоянно увеличивается, при этом атопический характер бронхиальной астмы (БА) наблюдается в половине случаев диагноза БА [Beasley R., Crane J., Lai C.K.W., 2000; Pearce N., Pekkanen J., Beasley R., 1999]. При этом большое значение в патогенезе аутоиммунных заболеваний и в нарушение защитных свойств иммунной системы при БА подростков имеет дисбаланс нейрогормональной регуляции [Wilder R.L., 1995; Stevens-Felten S.Y., Bellinger D.L., 1997], поскольку мультифакторное взаимодействие иммуно-нейроэндокринных систем организма, обеспечивает адекватную модуляцию иммунного ответа, адаптацию организма к различным эндо- и экзогенным стимулам [Wilder R.L., 1995; Baldwin D., Rudge S., 1995; Richter K, et al, 1979]. В связи с этим целью настоящей работы было изучение состояния резервных возможностей адаптационных систем лимфоцитов у подростков с персистирующей формой атопической БА.

У подростков с атопической БА отмечается напряженность иммунологического статуса, что характеризуется снижением синтеза IgA на 19%, резким возрастанием Ig E (в 8,3 раза), а также и относительно небольшим сдвигом отношения цитотоксических лимфоцитов CD8⁺, продуцирующих интерферон-γ (ингибитор вирусной репликации) и воспалительных CD4⁺-лимфоцитов (осуществляющих рекрутирование макрофагов в места воспаления и играющих центральную роль в контроле координации механизмов противоинфекционной защиты от внутриклеточных патогенов) (табл. 14).

Таблица 14. Иммунологический статус у подростков больных атопической формой бронхиальной астмы.

Показатель	Группы	
	контрольная	Основная
Лимфоциты, %/абсх 10^9	34,9 ± 2,3 / 1,74±0,21	36,1±2,2/1,89±0,1 9
CD4 ⁺ , 10 ⁶ /мкл	0,73 ± 0,04	0,64±0,06
CD8 ⁺ , 10 ⁶ /мкл	0,45 ±0,07	0,53±0,06
CD4 ⁺ / CD8 ⁺	1,62 ± 0,12	1,2 ± 0,1*
IgA, мкг/мл	2,1±0,2	1,7±0,2*
IgE, МЕ/л	54,9 ± 5,4	447± 29***

Примечание: *- достоверность различий средних в контрольной и основной группах, один знак - $p < 0,05$, два - $< 0,01$, три - $< 0,001$.

Описанные сдвиги в иммунной системе организма подростков с атопической формой БА сопровождаются изменением концентрации биохимических маркеров стрессорной реакции организма, в частности, снижением содержания в лимфоцитах окисленных форм пиридиновых нуклеотидов НАД и НАДФ на 19 и 22% соответственно, снижением редокс-потенциала НАД/НАД·Н (маркер дезадаптационных процессов в системе энергообеспечения) на 8% и в еще большей степени редокс-потенциала НАДФ/НАДФН – на 17%, указывающим и на замедление процессов синтеза белков и нуклеиновых кислот (табл. 15).

Более того, значительно снижается сопряженность между активностью иммунной системы и системы энергетического обеспечения – коэффициент корреляции между редокс-потенциалом НАДФ/НАДФН и содержанием IgE снижается с 0,79 ($p < 0,01$) до 0,57 ($p < 0,05$, рис. 24А).

Напряженность иммунной системы, повышение содержания в сыворотке IgE, ассоциированное со снижением редокс-потенциала системы энергетического обеспечения, а также одновременное снижение содержания в лимфоцитах цитохрома с, ключевого фермента дыхательной цепи митохондрий, указывает на нарушения в системе энергетического обеспечения с начальными признаками дезадаптации, что проявляется в снижении содержания АТФ в лимфоцитах на 18% и может способствовать формированию митохондриальной патологии в группе подростков с атопической БА.

Отмечаемые в основной группе снижение концентрации внимания, памяти, повышенной утомляемости, лабильности нервно-эмоционального статуса, нарушение сна и возникновение в 78% ночных приступов БА, по-видимому, связано со сдвигами в содержании и соотношении биогенных аминов. Оказалось, что у подростков длительно страдающих БА атопического генеза отмечается повышение в крови содержания свободного серотонина на 59% на фоне снижения содержания адреналина на 30%.

Таблица 15. Состояние системы энергетического обеспечения лимфоцитов у подростков больных атопической формой бронхиальной астмы.

Показатель	Группы	
	контрольная	Основная
АТФ, рМ/10 ³ клеток	5,1±0,4	3,9±0,2 ^{**}
Цитохром с, нмоль/мл	0,67±0,04	0,58±0,03 [*]
НАД, нмоль/мл	19,2 ± 2,3	15,6±0,8 [*]
НАДН, нмоль/мл	21± 3	18,6±1,2 [*]
НАД/НАДН	0,91±0,03	0,84±0,03 [*]
НАДФ, нмоль/мл	21,4 ± 2,5	16,7±1,2 [*]
НАДФН, нмоль/мл	24± 3	22,6±2,1
НАДФ/НАДФН	0,89±0,02	0,74±0,03 ^{**}

Примечание: *- достоверность различий средних в контрольной и основной группах, один знак - $p < 0,05$, два - $< 0,01$, три - $< 0,001$.

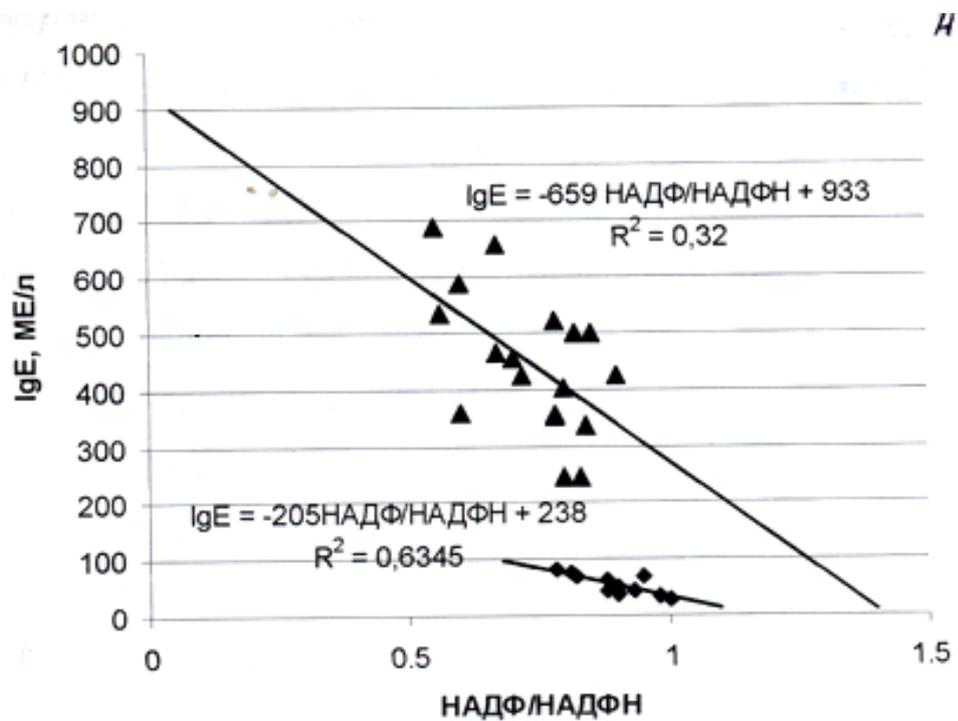


Рис . 26. Взаимосвязь между изменением редокс- потенциалом IgE (А), IgE и соотношением адреналинё серотонин (Б), а также между фактором атопии IgE и редокс- потенциалом (В) в лимфоцитах практически здоровых подростков (1) и подростков с бронхиальной астмой атопического генеза (2).

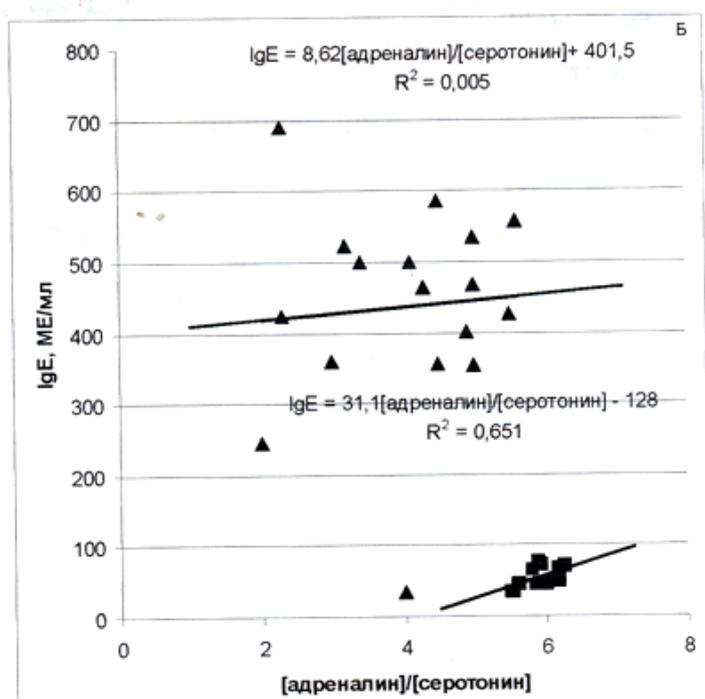


Рис . 27.

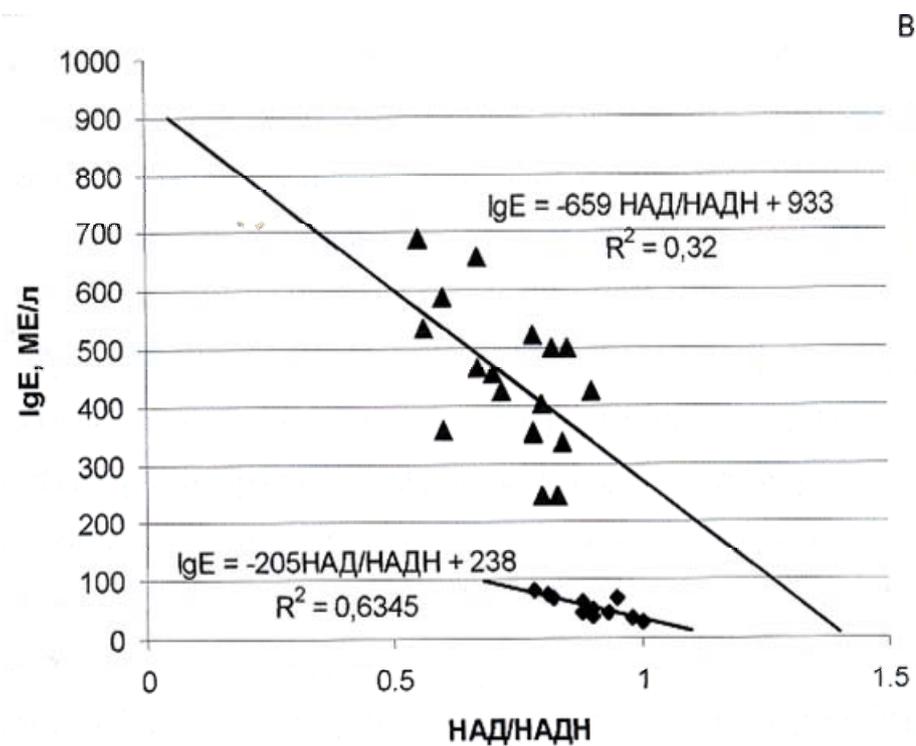


Рис . 28.

В результате соотношение между бронхоконстрикторным (серотонином) и бронходилатирующим (адреналином) биогенными аминами сдвигается в сторону первого – отношение [адреналин] / [серотонин] у подростков с БА уменьшается в 2 раза. При этом отношение [норадреналин] / [адреналин] тем не менее, также уменьшается на 27% (табл. 16).

Повышение уровня свободного серотонина у подростков с БА может принимать участие в нарушении памяти, регуляции температурных реакции, тонуса мышц, процессов сна, состоянии эндокринной и сердечно-сосудистой системы [Beasley R., Crane J., Lai C.K.W., 2000; Baldwin D., Rudge S., 1995]. При этом степень снижения отношения [адреналин] / [серотонин] коррелирует с частотой возникновения приступов БА в ночное время ($r=0,73$; $p<0,01$), однако, наблюдаемая в норме линейная взаимосвязь между уровнем IgE и отношением содержания [адреналин] / [серотонин] полностью исчезает (рис. 26). Установленная дисрегуляция нейрогормональной и иммунной систем может лежать в основе нарушения контроля над пагубным IgE-опосредованным иммунным ответом при персистирующем аллергическом воспалении дыхательных путей при БА. При этом зависимость между повышением IgE и редокс-потенциалом системы энергетического обеспечения, хотя и существенно снижается с 0,94, $p<0,001$ в лимфоцитах практически здоровых подростков до 0,7, $p<0,05$ (рис. 27), но сохраняется - происходит ослабление координации между метаболической системой лимфоцитов и функциональной активностью иммуннокомпетентных клеток, необходимой для реализации механизмов иммунореактивности [Савченко А.А., Шакина Н.А., Россиев Д.А., 1998].

Таблица 16. Содержание и соотношение биогенных аминов в крови подростков с бронхиальной астмой.

Показатель	Группы	
	контрольная	Основная
Адреналин, нмоль/л	1,75 ± 0,23	1,23 ± 0,23*
Норадреналин, ммоль/л	4,2 ± 0,3	6,25 ± 0,35**
Норадреналин/адреналин ($\times 10^6$)	2,4 ± 0,2	1,76 ± 0,22*
Серотонин свободный, нмоль/л	0,32 ± 0,04	0,41 ± 0,06*

Адреналин/серотонин	5,9 ± 0,21	3,0 ± 0,4***
---------------------	------------	--------------

Примечание: обозначения те же, что и в табл 15.

Таким образом, нарушение тесного сопряжения активности нейроэндокринных и иммунологических систем у подростков с БА является важным патогенетическим фактором прогрессирования заболевания и, по-видимому, во многом зависит от уровня редокс-потенциала системы энергетического обеспечения лимфоцитов, развития недостаточной сбалансированности энергетических и пластических процессов. Индукция аутоиммунных заболеваний в организме формирует целый комплекс сочетанных изменений иммунологического, нейрогормонального и биохимических статусов с выраженными корреляционными взаимосвязями между составляющими, которые должны учитываться в разработке рациональной комплексной фармакологической коррекции больных с БА. При этом иммунные нарушения не всегда являются ведущими, а основные эффекты иммунотропных воздействий во многом замыкаются на наличие резервных сил нейрогормональной и биоэнергетической систем клеток.

2.2.6. Функциональный ответ и резервные возможности стресс-лимитирующих систем у подростков при сочетанном воздействии стрессорных факторов внутренней и внешней среды.

Показано, что у подростков с атопической БА после длительной работы с большими массивами информации с использованием средств интернета на персональном компьютере в течение учебного года отмечается существенно более выраженная напряженность иммунологического статуса, что выражается в клеточного иммунитета - синтеза IgA на 23% (в начале учебного года на 19%) и резким возрастанием синтеза IgE – в 10 раз (в начале учебного года в 8,3 раза, табл. 17). В группе практически здоровых подростков наблюдается лишь тенденция к появлению напряженности клеточного иммунитета.

Описанные сдвиги в иммунной системе организма подростков с атоической формой БА сопровождаются существенными сдвигами в биохимических маркерах стрессорной реакции организма. Наибольшее значение имеет снижение редокс-потенциала

НАД/НАД·Н (маркер дезадаптационных процессов в системе энергообеспечения) на 14% и 16%. В еще большей степени происходит снижение редокс-потенциала НАДФ/НАДФН – на 9 и 9,5%, указывающего на замедление процессов синтеза белков и нуклеиновых кислот (табл. 17). Более того, значительно снижается сопряженность между активностью иммунной системы и системой энергетического обеспечения – коэффициент корреляции между редокс-потенциалом НАДФ/НАДФН и IgE снижается с 0,79 ($p < 0,01$) до 0,57 ($p < 0,05$), в контрольной группе и исчезает в основной ($r = 0,49$, рис. 28) к концу учебного года.

В основной когорте значительно чаще диагностируются неврозы, нейроциркулярные дистонии, гипо и гипертония, снижается концентрация внимания, памяти, повышается утомляемость, лабильность нервно-эмоционального статуса, нарушение сна и возникновение в 78% ночных приступов БА, по-видимому, связано со сдвигами в содержании и соотношении биогенных аминов. Оказалось, что у подростков длительно страдающих БА атопического генеза на фоне дополнительного постоянного напряжения, связанного с интенсивным общеобразовательным процессом, снижение отношения бронходилатирующего (адреналина)/бронхоконстрикторного (серотонина) значительно более выражено чем в контрольной группе, а отношение норадреналин/адреналин, наоборот, повышается в 1,35 раз (табл. 17).

При этом степень снижения отношения [адреналин]/[серотонин] коррелирует с частотой возникновения приступов БА в ночное время ($r = 0,73$; $p < 0,01$), однако, наблюдаемая в норме линейная взаимосвязь между уровнем IgE и отношением содержания [адреналин]/[серотонин] при наложении гиподинамии и умственного перенапряжения снижается с 0,8 до 0,73, тогда как в подгруппе с БА с 0,63 до 0,6 (рис. 29). Установленная дисрегуляция нейрогормональной и иммунной систем может лежать в основе нарушения контроля над пагубным IgE-опосредованным иммунным ответом при персистирующем аллергическом воспалении дыхательных путей при БА. При этом если в начале учебного года зависимость между повышением Ig E и редокс-потенциалом системы энергетического обеспечения, хотя и существенно снижается с 0,8, $p < 0,001$ в лимфоцитах практически здоровых подростков до 0,58, $p < 0,05$ (рис. 30), то к концу учебного года снижается в группе практически здоровых подростков до 0,6, $p < 0,05$, а в подгруппе с БА исчезает ($r = 0,44$, НД).

Заключение. Длительное воздействие психо-эмоционального напряжения при работе с большими массивами информации с использованием интернета на компьютере и

несоблюдении норм организации рабочего места у подростков наслаивается на определенную адаптационную уязвимость системы клеточного иммунитета, системы энергетического обеспечения и симпато-адреналовой системы и является самостоятельным мощным стрессовым фактором.

Таблица 17. Динамика изменения клеточного иммунитета и состояния системы энергетического обеспечения и симпато-адреналовой системы у подростков с атопической формой БА при длительной работе с персональным компьютером.

Показатель	Группы			
	контрольная		Основная	
	В начале учебного года	Через полгода	В начале учебного года	Через полгода
IgA, мкг/мл	2,1±0,2	2,0±0,2	1,8±0,2	1,56±0,08* #
IgE, МЕ/л	49,9 ± 5,0	59,9±5,2	422± 29*	489 ± 34**
НАД, нмоль/мл	19 ± 2,3	18,3±1,0	17,0±1,3	15,8±0,9*
НАДН, нмоль/мл	23 ± 3	26± 2	27±2	30± 2
НАД/НАДН	0,83±0,0 6	0,72±0,06	0,62±0,0 5*	0,52±0,04*
НАДФ, нмоль/мл	21,4 ± 2,5	19,8 ± 2,1	16,7±0,9 *	15,0 ± 1,5*
НАДФН, нмоль/мл	26,4 ± 2,5	27,0 ± 1,2	26,7±1,0	26,3 ± 1,3
НАДФ/НАДФН	0,81±0,0 2	0,74±0,02	0,63±0,0 2*	0,57±0,03* #
Адреналин, нмоль/л	1,8 ± 0,2	2,1 ± 0,2	1,3 ± 0,2*	1,1 ± 0,2
Норадреналин, ммоль/л	4,2 ± 0,3	4,5 ± 0,3	5,8 ± 0,3*	6,6 ± 0,3
Норадреналин/адреналин ($\cdot 10^6$)	2,4 ± 0,2	2,14±0,11	4,46±0,2 2*	6,0±0,4
Серотонин свободный, нмоль/л	0,32 ±0,03	0,39±0,04	0,42±0,0 6*	0,48±0,04*

Адреналин/серотонин	$5,9 \pm 0,2$	$7,2 \pm 0,2^*$	$3,1 \pm 0,3^*$	$2,3 \pm 0,1^{* \#}$
---------------------	---------------	-----------------	-----------------	----------------------

Примечание: сравнение показателей в начале и через полгода учебного процесса – *, контрольной и основных групп – #. Достоверность различий средних $P < 0,05$ – один знак, $P < 0,01$ – два, $P < 0,001$ – три.

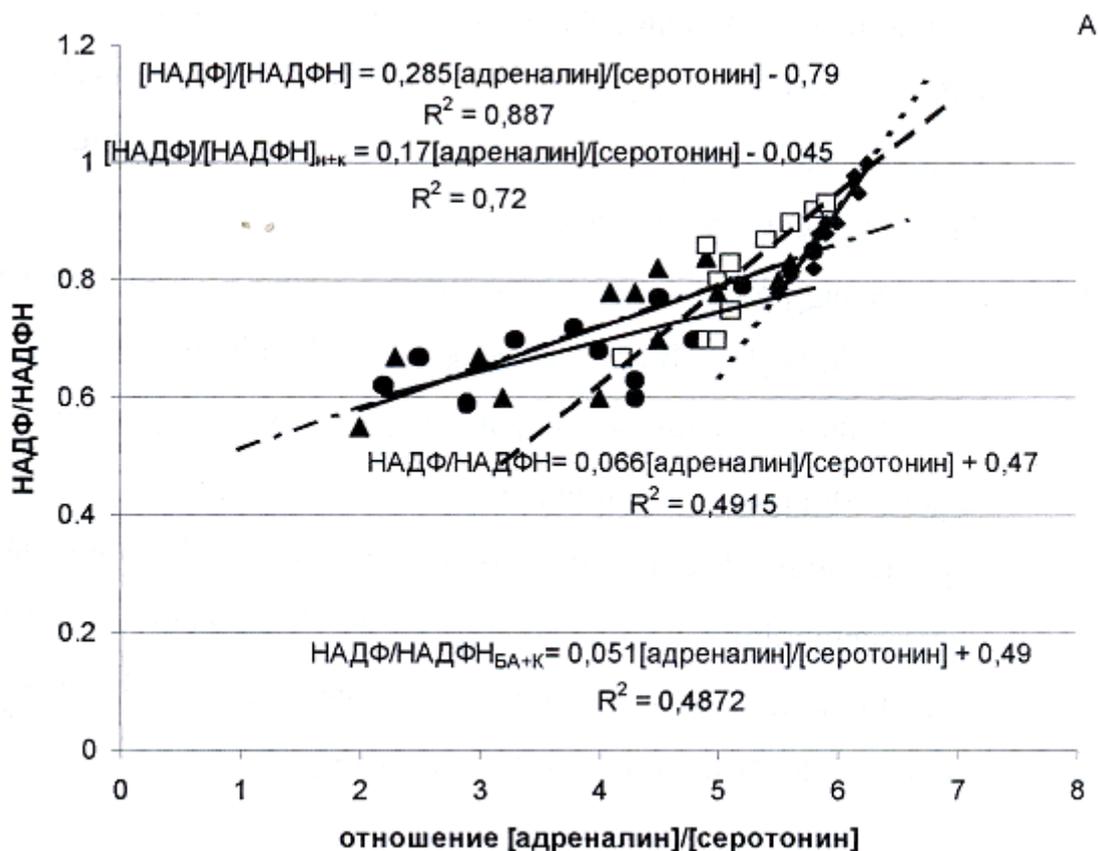


Рис. 29. Взаимосвязь между изменением редокс потенциала и отношением адреналин/серотонин (А), фактором атопии IgE и отношением адреналин/серотонин (Б) и фактором атопии IgE и редокс потенциалом (В) в лимфоцитах практически здоровых подростков (черный квадратик) и подростков с бронхиальной астмой атопического генеза (черный треугольник).

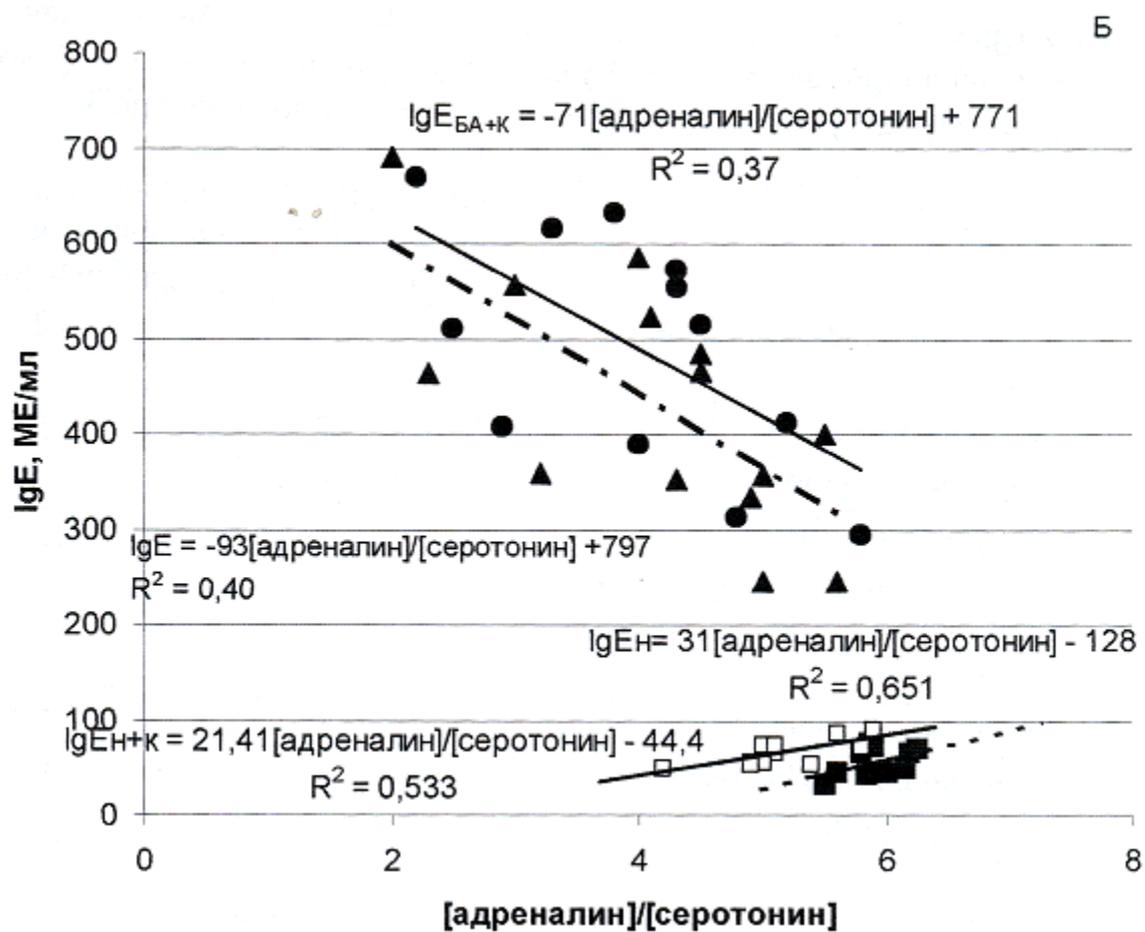


Рис. 30.

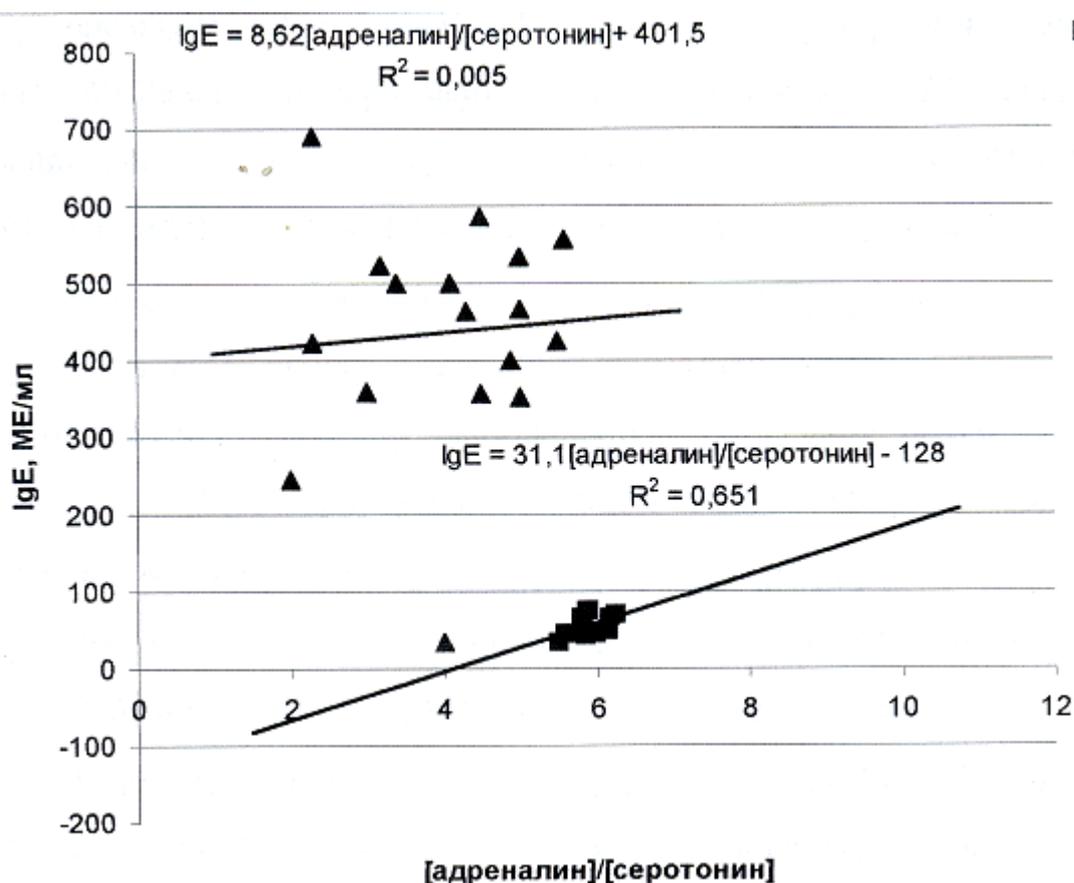


Рис. 31.

2.2.7. Патогенетические механизмы стрессорных реакций при бронхиальной астме атопического генеза.

В патогенезе развития и прогрессирования атопической формы БА большое значение имеет состояние эндотелиальной системы [Hay D.W.P., Henry P.J., Goldie R.G., 1996]. Известными факторами, индуцирующими дисбаланс между вазоконстрикторными и вазодилатирующими компонентами эндотелиальной системы являются гипоксия [Elton T.S., et al., 1992; Li H., et al., 1994], провоспалительные цитокины [Kanse S.M., et al., 1991] и стресс [Harrison V.J., et al., 1998]. Вазоконстрикторный пептид, эндотелин-1 продуцируется эпителиальным слоем бронхов и альвеолярными макрофагами [Yanagisawa M., et al., 1988; Redington A.E., et al., 1992] и обладает бронхоконстриктивными

свойствами при связывании со специфическими эндотелиновыми рецепторами А и В [Li H., et al, 1994]. Экспрессия ЭТ-1 эпителиальными клетками бронхов при БА возрастает [Vittori E., et al, 1992] и может стимулировать секрецию мокроты, отек, митогенез гладкой мускулатуры и гиперреактивность бронхов [Hay D.W.P., 1996, Trakada G., et al, 2000]. Показано, что степень повышения содержания ЭТ-1 в плазме сопряжена с тяжестью симптомов БА [Chen W.Y., Wang I-Y., 1995]. Способность эндотелина-1 повышать уровень медиаторов воспаления, интерлейкина-1 и интерлейкина-8 лежит в основе его провоспалительного эффекта [Mullol J., et al, 1996].

Механизмом, запускающим эндотелиальную дисфункцию при воспалительно-аллергических заболеваниях, является активация свободнорадикальных реакций [Vittori E., et al, 1992; Freeman B.A., et al, 1982], в основном АФК [Freeman B.A., et al, 1982]. Высказывается гипотеза, что сверх-регуляция системы эндотелия в условиях гипероксии легких является следствием повышения уровня АФК и срыва компенсаторных механизмов системы антиоксидантной защиты [Freeman B.A., et al, 1982], с последующей активацией перекисного окисления липидов, высвобождением реактивных гидропероксидаз липидов и 8-изопростана [Roberts L.J., Morrow J.D., 1997]. Однако каким именно образом, АФК или продукты их взаимодействий ведут к прямому стимулированию выброса эндотелина-1 в легких остается неизвестным [Saugstad O.D., 2000]. В связи с этим целью настоящей работы было изучение состояния резервных возможностей адаптационных систем лимфоцитов у подростков с персистирующей формой атопической БА.

Содержание эндотелина-1, вазоконстрикторного пептида эндотелиоцитов при атопической бронхиальной астме легкой и средней тяжести повышается на 81% и сопряжено с повышением активности НАДФН-оксидазы на 76,4% (табл. 18). Сопряженность гиперобразования эндотелина-1 и повышение активности НАДФН-оксидазы, участки которой в эндотелиоцитах расположены в непосредственной близости от центров образования пероксинитрила может косвенно нарушать транспорт NO в клетке. Сильное связывание НАДФН в активном центре каталазы, необходимо для перехода фермента в активную форму (нейтрализацию гидроперекиси) [Hekirman S., Galiano S., Gaetani G.F., 1987]. В связи с этим, можно предположить, что повышение активности НАДФН-оксидазы может конкурентно снижать (лимитировать) активность каталазы.

Проблема изучения молекулярных механизмов регуляции метаболической адаптации патологически измененной бронхо-легочной системы остается важным направлением

современной экспериментальной и клинической медицины, педиатрии. Особенно это важно в современных условиях, когда значительно увеличивается количество детей и подростков с атопическими заболеваниями и атопической формой БА в частности. Это имеет важное значение с одной стороны для выявления энзиматических поломок (энзимопатий) и установления характера нарушений метаболического блока и эндотелиальной дисфункции, развивающихся при атопической форме БА.

Таблица 18. Содержание эндотелина-1, супероксидного аниона, перекиси водорода, адреналина и адренохрома, активности каталазы, супероксиддисмутазы и НАДН-оксидазы у подростков больных атопической формой бронхиальной астмы.

Показатель	Группы	
	контрольная	Основная
IgE, МЕ/л	51,2 ± 5,0	456±32 ^{***}
Эндотелин -1, пг/мл	1,46±0,05	2,64±0,15 ^{**}
Скорость генерации O ₂ ⁻ , мкмоль/мин	36,1±1,4	66,1±3,6 ^{***}
H ₂ O ₂ ⁻ , мкмоль/л мин	0,10 ± 0,04	0,56±0,13 ^{**}
НАДН-оксидаза, нмоль/мг белка мин	106±14	187±21 ^{**}
СОД, усл. ед/мл	21±3	37±5 [*]
Каталаза, нмоль H ₂ O ₂ ⁻ / мл мин	4,0±0,6	6,7±0,9 ^{**}
Адренохром, пмоль/мл	2,1 ± 0,3	6,6±0,2 ^{***}
Адреналин, нмоль/мл	1,75 ± 0,20	1,23 ± 0,23 [*]
Адреналин/адренохром	830±31	187±35 ^{***}

Примечание: *- достоверность различий средних в контрольной и основной группах, один знак - $p < 0,05$, два - $< 0,01$, три - $< 0,001$.

У подростков с атопической формой БА отмечается развитие окислительного стресса. Несмотря на повышение активности основных ферментов антиоксидантной защиты – СОД и каталазы, в плазме крови повышается содержание как супероксидного аниона (скорость генерации увеличивается на 83%), так и перекиси водорода (повышается на 460%). Это указывает на несостоятельность и развитие скрытой недостаточности системы антиоксидантной защиты. Повышение содержания O₂⁻ является важнейшим фактором

риска развития и прогрессирования бронхолегочной дисплазии, дисрегуляции факторов роста легких, включая фибропролиферативные изменения [Wedgwood S., Dettman R.W., Black S.M., 2001]. В результате, повышается содержания адренохрома, продукта аутоокисления адреналина в условиях избытка супероксидного аниона и сдвиг соотношения адреналин/адренохром в сторону кардиотоксического адренохрома [Rona G., 1985] (табл. 18).

Возможно, что неадекватная гиперобразованию АФК активация СОД является результатом накопления соединений, взаимодействующих с ионами металлов в активном центре фермента или влияющих на степень их восстановленности, а также следствием взаимодействия активного центра этого фермента с гидроперекисями ненасыщенных жирных кислот [Jankov R.P., et al., 2000], выступающими в роли предшественников диеновых конъюгатов. Об этом свидетельствует и повышение содержания МДА, образуется не только в результате деградации диеновых конъюгатов жирных кислот, но и в процессе образования простагландинов [Chalmers G.W., et al, 1997].

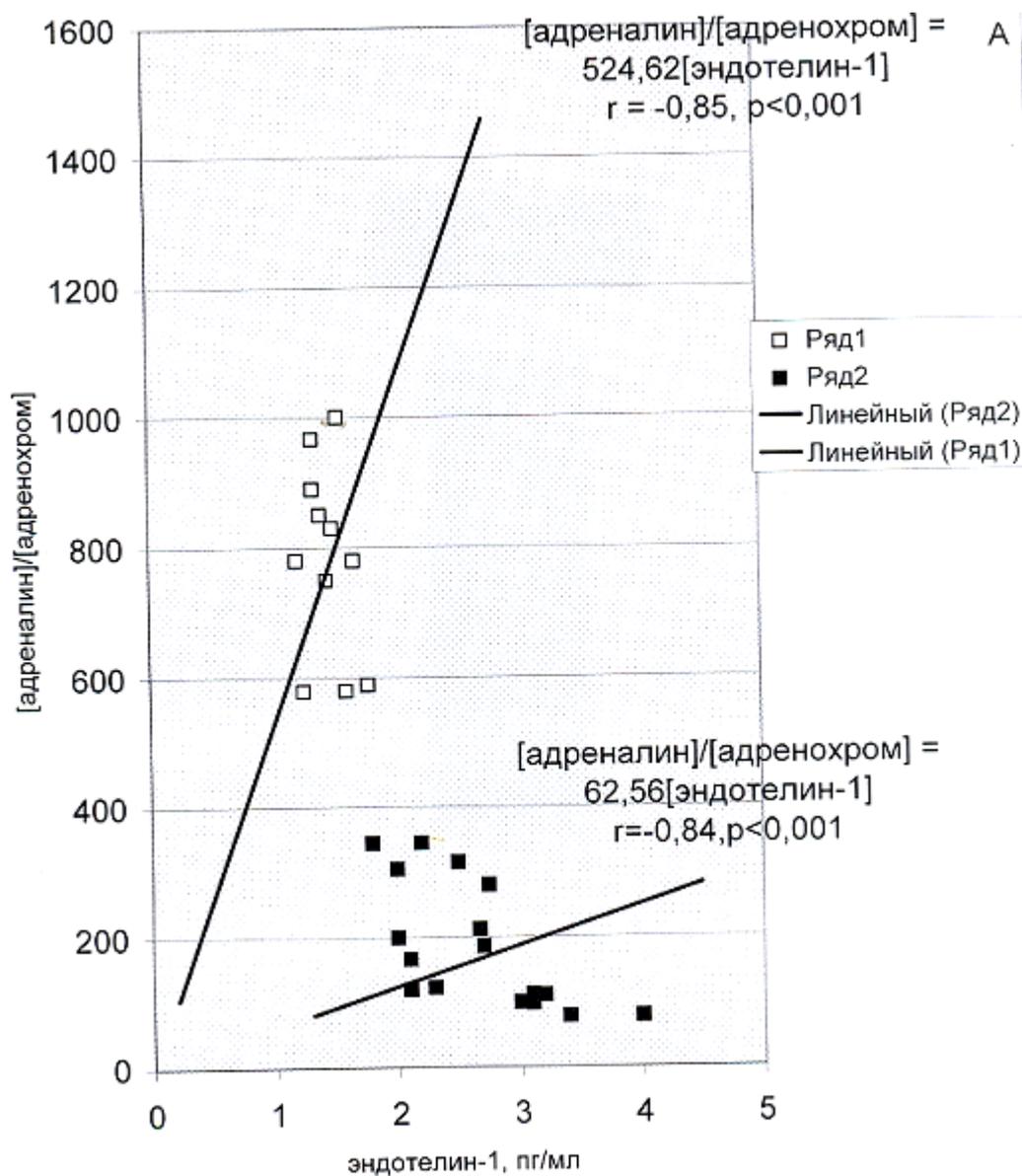


Рис. 32. Взаимосвязь между изменением содержания эндотелина-1 и адреналин/адренохром (А), между содержанием эндотелина-1 и супероксидного аниона (Б) практически здоровых подростков (светлый квадратик) и подростков с бронхиальной астмой атопического генеза (черный квадратик).

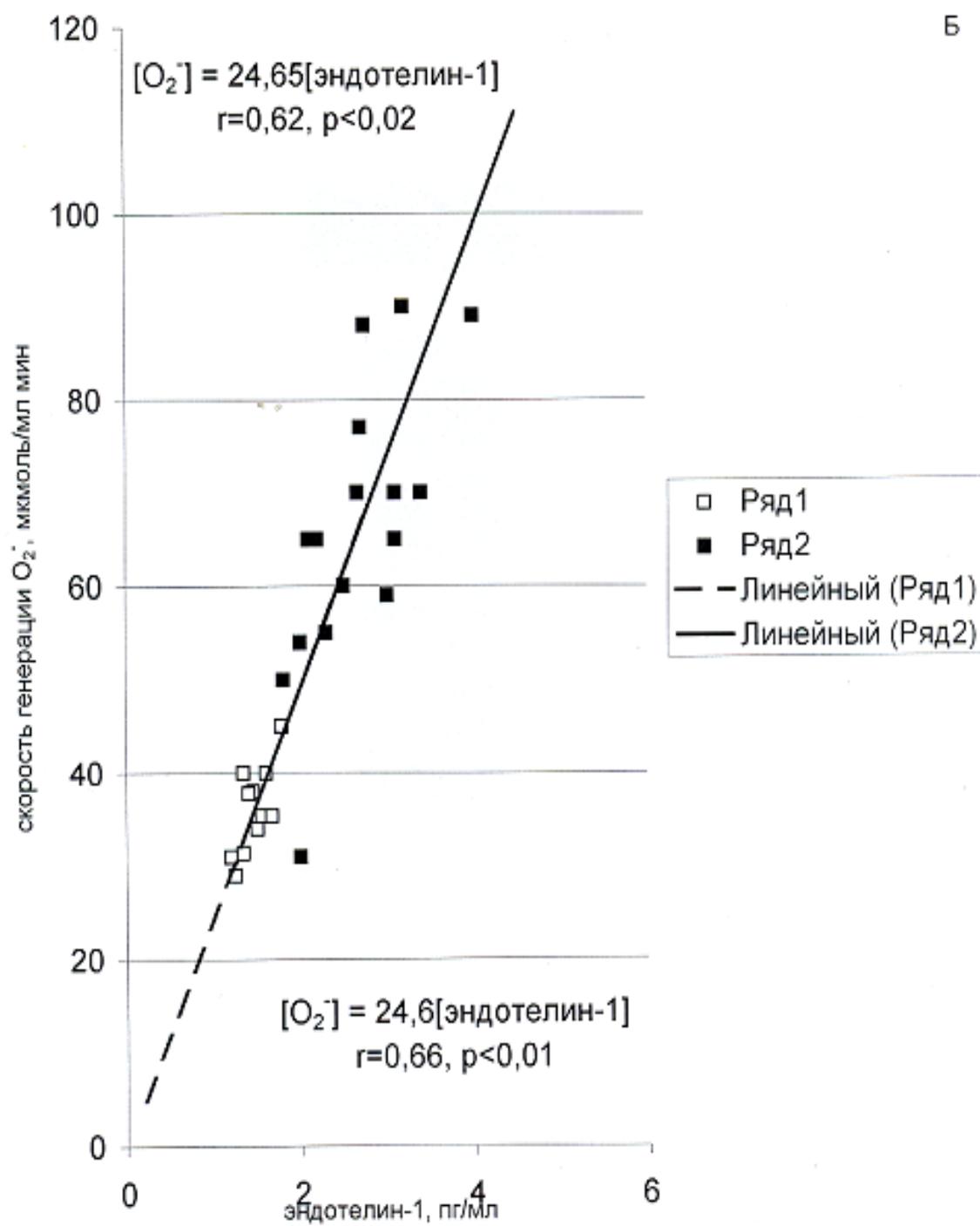


Рис. 33.

Своевременное выявление подростков стрессорных реакций, угрожаемых по формированию хронической патологии, учитывающее комплексное влияние наследственного предрасположения и внешних факторов, способствующих его реализации, является крайне актуальной медицинской и социальной задачей. Однако на практике врач не имеет возможности учитывать в совокупности многообразие факторов - биологических, этнических, социально-гигиенических (включая микросреду обитания, характер питания), социально-экономических (включая долю затрат общества на здравоохранение в валовом продукте и доступность медицинской помощи), экологических), - оказывающих воздействие на развивающийся организм подростка. В то же время, состояние здоровья подростка во многом определяется именно совокупным, изменяющимся во времени взаимодействием различных факторов. В особенности это относится к заболеваниям, характеризующимся прогрессированием патологического процесса, что в конечном итоге повышает риск инвалидизации. Исходя из изложенного, представляется целесообразным говорить о континууме переходных состояний, определяющем здоровье и болезни развивающегося организма и зависящем от множества факторов риска, об отсутствии четких границ между нормой и патологией или, в математическом смысле, о непрерывной функции. В зависимости от того, в каком интервале находится значение функции, формируются понятия: норма, функциональные отклонения, пограничные состояния, хроническая патология. Практическая реализация этого подхода продемонстрирована при использовании дискретно-непрерывных алгоритмов распознавания нормы и патологии, оценки степени риска и прогнозе развития заболевания [Б.А.Кобринский, Д.И.Бухны, 1986]. Непрерывная функция, характеризующая состояние организма, определялась нами методами регрессионного анализа, а уточнение границ между нормой и патологией, между разными уровнями риска (дискретизация состояний) - с помощью байесовского метода. Вышеизложенное позволяет, по аналогии с концепцией континуума репродуктивных потерь [А.М.Lilienfeld, Е.Parkhurst, 1951; К.В.Nelson, 1968], сформулировать гипотезу континуума переходных состояний здоровья развивающегося организма: норма - функциональные отклонения - пограничные состояния - хронические заболевания - инвалидизация, которые, в случае поступательного развития этого процесса, ведут к утрате здоровья. Возможность их смены в процессе развития плода и ребенка определяется взаимодействием факторов риска, воздействующих в анте-, интра- и постнатальном периодах жизни детей. Эта гипотеза позволяет объяснить смену одного состояния другим под воздействием факторов риска и обосновать необходимость динамического прогноза риска формирования

хронических мультифакториальных и, в меньшей степени, моногенных (с варьирующим возрастом начала) заболеваний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно теории функциональных систем [Анохин К.В., 1997, 2000] целый организм представляет гармоническое взаимодействие множества функциональных систем различного уровня: молекулярного, гомеостатического, поведенческого и популяционного [Судаков К.В., 2000].

Центральные звенья многих функциональных систем охватывают мозговые структуры различного уровня (рис. 29). Взаимодействие разных функциональных систем на уровне головного мозга всегда строится по принципу доминирования, открытого А.А.Ухтомским (1925). В каждый данный момент времени деятельностью мозга завладевает ведущая для сохранения жизни или адаптации организма во внешней среде функциональная система. Каждую такую систему характеризует некое общее эмоциональное состояние организма, обеспечивающие во-первых, наиболее оптимальные реакции и специализацию, и во-вторых - личностное отношение и мотивацию ответных реакций. Другие функциональные системы в это время или способствуют деятельности доминирующей функциональной системы, или затормаживаются. После удовлетворения потребности организма, сформировавшей доминирующую функциональную систему, начинает доминировать другая ведущая по социальной и биологической значимости функциональная система и т.д. Динамика формирования функциональных систем во времени следует принципу системного квантования процессов жизнедеятельности [Судаков К.В., 1997]. Согласно этому принципу, непрерывный континуум процессов жизнедеятельности расчленяется в живых организмах на дискретные отрезки – “системокванты” от потребности к ее удовлетворению. Каждый “системоквант” включает формирование соответствующей потребности, мотивацию и поведение, направленное на удовлетворение этой потребности, а также постоянную оценку с помощью обратной афферентации достигнутых промежуточных и конечного результатов, удовлетворяющих эту потребность. Мозговая архитектоника, обеспечивающая “системокванты”, включает все системные компоненты, установленные П.К.Анохиным (1961): афферентный синтез, принятие решения, акцептор результата действия и оценку параметров достигнутых результатов акцептором результата действия на основе поступающей в мозг обратной афферентации.

Ведущими критическими состояниями “системоквантов” поведенческой и психической деятельности человека и животных являются мотивация и подкрепление, как адаптивный результат, удовлетворявший лежащую в основе доминирующей мотивации потребность. В механизмах доминирования функциональных систем в мозге ведущая роль принадлежит биологическим и социальным мотивациям.

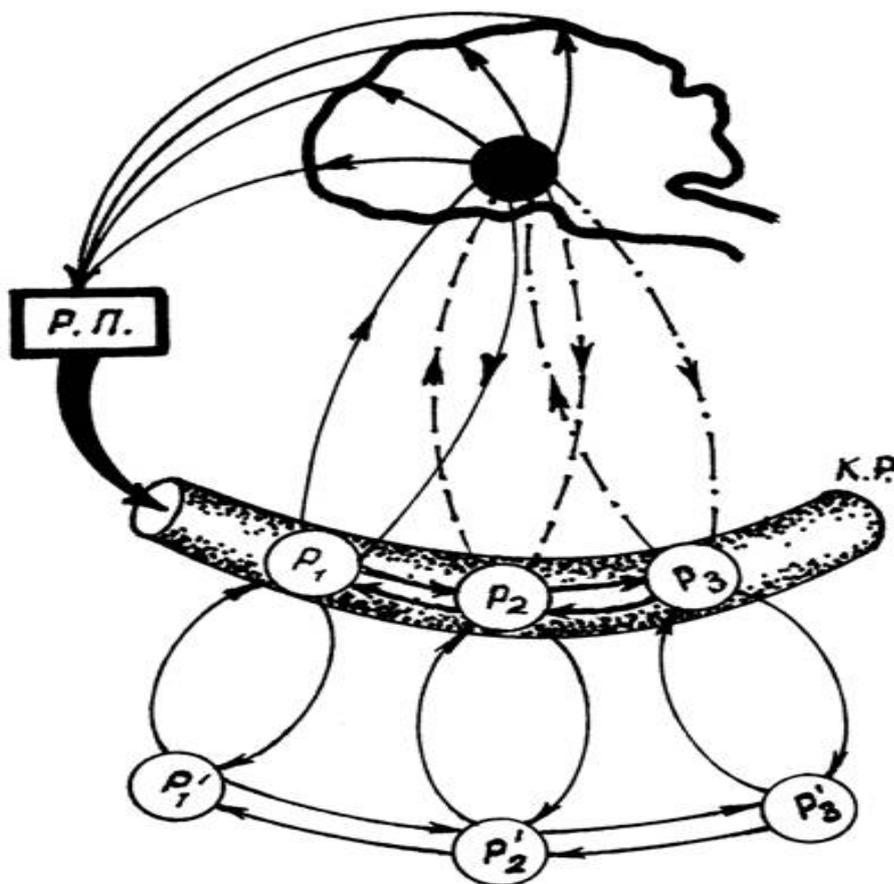


Рис. 34. Схематическое изображение взаимодействия множества функциональных систем на структурах мозга. На схеме показано, что ведущая потребность формирует доминирующую мотивацию, завладевавшую деятельностью мозга и организующую поведение. P1', P2', P3' – результаты деятельности функциональных систем метаболического, а P1, P2, P3 – гомеостатического уровня. РП – результат поведения, КР – кровяное русло.

Восходящие активирующие влияния мотивациогенных центров на другие структуры мозга и кору больших полушарий составляют “жизненную энергию каждого из нас” [Павлов И.П., 1951].

В наше время, когда темп жизни с каждым годом ускоряется, человеку все труднее адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды, сохраняя при этом эмоциональное равновесие. Организм не успевает восстанавливать силы - все системы органов находятся в постоянном напряжении. И естественно такой образ жизни приводит в итоге к истощению нервной системы и может лечь в основу психосоматического заболевания. Именно поэтому учение о стрессе получило в наше время достаточно широкую известность.

Экопатогенные факторы, особенно в сочетании с другими причинными агентами, увеличивают риск развития хронических болезней особенно в детском и подростковом возрасте.

По данным экспертов ВОЗ, до 92% взрослых, работающих на компьютере, жалуются в конце рабочего дня на различные неприятные ощущения и усталость, которые в дальнейшем приводят к неблагоприятным последствиям. Чаще всего страдают глаза; через несколько часов работы появляется чувство жжения - словно в глаза попал песок, болят веки. Даже не очень продолжительная работа за компьютером, не более 1-2 часов, вызывает у 73% подростков общее и зрительное утомление, в то время как обычные учебные занятия вызывают усталость только у 54% подростков. Увлечшись компьютером, испытывая большой эмоциональный подъем, школьники даже не замечают наступившего утомления и продолжают работать дальше. Если же на экране высвечивается не обучающая программа, а одна из многочисленных компьютерных игр, подростки, даже чувствуя утомление, не в силах оторваться от него по несколько часов.

Снижение двигательной активности в настоящее время связано с компьютеризацией не только учебного процесса, но и ростом автоматизации и механизации почти всех видов деятельности человека. Следствиями малоподвижного образа жизни подростков и популяции в целом являются гиподинамия, хронический стресс, различные болезни адаптации. Согласно современным представлениям на различных этапах гипокинезии в системе крови наблюдаются изменения, типичные для стресс-реакции [Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н., 1980]. В частности, продолжительная гипокинезия характеризуется наличием в периферической крови нейтрофилеза, моноцитоза, лимфопении и эозинопении [Реутов В.П., 2000]. Развитие нейтрофильного лейкоцитоза связано главным образом с увеличенным поступлением в циркуляцию костномозговых нейтрофилов, рекрутирование которых может потенцироваться глюкокортикоидами и катехоламинами [Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Хлусов И.А., 1997; Дыгай А.М., Клименко Н.А., 1992].

Показано, что некоторые стадии длительной гипокинезии характеризуются при отсутствии выраженного нейтрофилеза увеличением более чем в три раза количество

нейтрофилов в селезенке [Камскова Ю.Г., 2000]. Последнее свидетельствует о вовлечении этой категории лейкоцитарных клеток в маргинальный пул. Вместе с тем увеличение уровня нейтрофилов в селезенке сочеталось с гипоплазией органа. Одновременно при 30-суточной гипокинезии наблюдалась инволюция тимуса [Камскова Ю.Г., 2000, Павлова В.И., Попкова М.А., Локтионова И.В., 1997]. Отмеченная в динамике длительной гипокинезии гипоплазия лимфоидных органов также является глюкокортикоидзависимой [Kvetnansky R., 1995]. Согласно данным литературы, характерная для гипокинетического и иммобилизационного стрессов эозинопения является АКТГ-зависимым процессом и связана с выходом этих клеток из крови в соединительную ткань [Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Хлусов И.А., 1997]. В условиях гипокинезии активации мононуклеарных фагоцитов и лимфоцитарного звена системы иммунобиологического надзора противодействуют основные медиаторы стресс-реализующих систем - катехоламины и глюкокортикоиды, содержание которых поддерживается на повышенном уровне в течение длительного времени [Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Хлусов И.А., 1992]. В настоящее время имеются данные об угнетении при продолжительной гипокинезии различных звеньев иммунитета [Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н., 1980]. Тем не менее в ответ на дополнительную антигенную нагрузку при 120-дневной гипокинезии в печени наблюдались диффузно-очаговая лимфоцитарная инфильтрация и пролиферация звездчатых эндотелиоцитов [14]. Последнее обстоятельство можно расценивать как одно из проявлений иммуновоспалительных процессов [Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Хлусов И.А., 1992]. Необходимо отметить, что для гипокинетического синдрома характерна повышенная чувствительность к воспалительным агентам [Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н., 1980]. Аналогичная ситуация наблюдалась и на другой модели ограничения двигательной активности - ежедневной одночасовой иммобилизации [Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Хлусов И.А., 1992]. В условиях периодического иммобилизационного стресса развитие иммуновоспалительных процессов в печени связано со снижением глюкокортикоид-реактивности лимфоидных клеток. Известно, что такие цитокины, как Ил-1 и ФНО_α, могут потенцировать повышение устойчивости лимфоцитарной ткани к гипоплазирующему действию глюкокортикоидов [Корнева Е.А., 1993]. По-видимому, цитокины также опосредуют стимулирующее действие глюкокортикоидов на развитие "лимфоидного пика" в костном мозге [Шахов В.П., 1990]. Представляется вполне обоснованной точка зрения о том, что характерная для стрессорной реакции инволюция вилочковой железы связана не только с глюкокортикоидзависимым цитолизом Т-лимфоцитов. Помимо этого глюкокортикоиды потенцируют миграцию тимоцитов в лимфоузлы и в костный мозг [Шахов В.П., 1990]. Согласно нашим исследованиям при 30-суточной гипокинезии

зарегистрирован "лимфоидный пик" в костном мозге [Камскова Ю.Г., 2000]. В нем Т-лимфоциты вступают в кооперацию с такими элементами гемопозиндуцирующего микроокружения, как макрофаги и стромальные механоциты. В итоге происходит усиление продукции различных цитокинов, обладающих гемопозитической активностью, что и обуславливает активацию гемопоза [Шахов В.П., 1990]. Необходимо отметить отсутствие взаимосвязей между увеличением количества лимфоидных клеток и активацией лимфопоэза в органе. Согласно литературным данным экспериментальная гипокинезия сопровождается угнетением лимфопоэза при одновременном усилении эритропоэза с 15 до 30 суток [Павлова В.И., Попкова М.А., Локтионова И.В., 1995], что хорошо согласуется с представлениями о реципрокной регуляции этих ростков гемопоза [Громыхина Н.Ю., Козлов В.А., 1997].

С точки зрения стрессовой реакции, не имеет значения, приятна она или не приятна - важна лишь интенсивность потребности в перестройке или адаптации. Ганс Селье показал, что процесс приспособления не зависит от характера раздражителя или нагрузки. Воздействия (стрессоры) могут быть самыми различными, но независимо от своих особенностей они ведут к серии однотипных изменений, обеспечивающих приспособление. Еще исследования В. Кеннона (1927, 1929) показали, что организм стремится обеспечить постоянство внутренней среды, постоянство уровней функционирования всех своих систем. Когда же возникают новые, нестандартные условия происходит перестройка, которая через цепь преобразований восстанавливает прежнее равновесие, но уже на другом уровне. При этом, следует отметить, что новые условия могут определяться не только внешними (физическими), но и внутренними (психологическими) факторами. Совокупность психических и соматических проявлений в организме при стрессовых ситуациях была названа Г. Селье ОБЩИЙ АДАПТАЦИОННЫЙ СИНДРОМ. Ведущим звеном в этой цепи адаптации Г.Селье считал эндокринно-гуморальную систему. Он выделил три фазы развития общего адаптационного синдрома:

- 1) Реакция тревоги, во время которой сопротивление организма понижается ("фаза шока"), а затем включаются защитные механизмы;
- 2) стадия сопротивления (резистентности), когда напряжением функционирования систем достигается приспособление организма в соответствии с новыми условиями;
- 3) Стадия истощения, в которой выявляется несостоятельность защитных механизмов и нарастает нарушение согласованности жизненных функций;

Р. Лазаурус (1956, 1970), развивая учение о стрессе, выдвинул концепцию, согласно которой разграничивается физиологический стресс (связанный с реальным

раздражителем) и психический(эмоциональный) стресс, при котором человек оценивает (на основе индивидуальных знаний и опыта) предстоящую ситуацию как угрожающую. Такая оценка вызывает эмоции и такую же адаптационную перестройку в организме, как и любой другой внешний раздражитель. Но, если при физиологическом стрессе перестройка наступает при встрече с раздражителем, то при психическом стрессе адаптация наступает заблаговременно и предшествует ситуации. И если прогноз человека был неверен, и наступившие изменения не являются адекватными наступившей ситуации, то это может привести к усилению стресса.

В развитии адаптации прослеживаются два этапа: срочной, но не совершенной адаптации и совершенной долговременной. Экстремальные ситуации делятся на кратковременные, когда активизируются программы реагирования, которые в человеке всегда "наготове", и на длительные, которые требуют адаптационной перестройки функциональных систем человека, иногда субъективно напряженной и под час вредной для его здоровья. Среди стрессоров обычно выделяют группу с кратковременным действием и группу с длительным действием. К стрессорам кратковременного действия относятся:

- вызывающие страх (неблагоприятный прогноз, неблагоприятный опыт в прошлом и т. п.)
- вызывающие неприятные физические ощущения (боль, усталость и т.п.)
- стрессоры темпа и скорости (т.е. необоснованно завышенные установки на рекордный результат в условиях конкуренции, информационная и/или физическая перегрузки и др.)
- отвлечения внимания (когда во время решения какой-либо задачи, возникают неприятности в личной жизни, семейные, бытовые и т.п. трудности)
- стрессоры неудачи (неудачное начало, ошибки и т.п.)

Стрессоры длительного действия:

- ситуации постоянного риска
- стрессоры очень длительной нагрузки
- стрессоры постоянной борьбы
- стрессоры изоляции (невозможность желаемых контактов, осуждение окружением и пр.)

Но в силу того, что стресс - это реакция неспецифическая, можно сказать, что в основе кратковременного и длительного стресса лежат идентичные механизмы, но работающие в разных режимах, с разной интенсивностью. Если кратковременный стресс - это бурное расходование поверхностных адаптационных резервов, то длительный - это постоянная мобилизация и расходование и поверхностных, и глубинных адаптационных

резервов психики.

Возможен переход кратковременных стрессов в длительные. Повторяющиеся экстремальные условия могут стать причиной длительного стресса. Адаптация к таким факторам возможна при условии, что организм человека успевает, мобилизуя глубинные ресурсы, подстраиваться к уровню длительных экстремальных требованиям среды. Основными причинами длительных стрессов могут быть периодически повторяющиеся отрицательные воздействия - долгая изоляция, болезнь близких, большая ответственность, длительная работа вызывающая большую усталость, чувство страха, вины, безнадежности...). Течение длительного стресса напоминают общие симптомы соматических, а подчас психических болезненных состояний; такой стресс может переходить в болезнь.

Как уже отмечалось, очень большое влияние на характер стресса оказывает внутренний мир человека. Каждый человек реагирует на события в соответствии со своей интерпретацией внешних стимулов, которая, зависит от его эмоционально-психологической сферы, социального поведения, воспитания, мировоззрения. Повышенная эмоциональная возбудимость, тревожность, невротичность приводит к тому, что человек порой реагирует на слабый раздражитель так же как если бы он попал в экстремальную ситуацию.

Существенное влияние могут оказать мотивационные факторы. Например, выявлено, что: уверенность и умеренное чувство ответственности способствует возникновению положительного эмоционального настроения, формирует состояние оптимизма, для которого характерно:

а) незначительная интенсивность эмоционального возбуждения, переживаемая как мобилизация интеллектуальной и физической энергии;

б) активная позиция; активность в преодолении препятствий и трудностей;

И наоборот - чрезмерная ответственность и недооценка своих возможностей формируют чувство "страха перед неуспехом", которое характеризуется:

а) повышенным эмоциональным возбуждением с тревогой;

б) чувством неуверенности в благополучном исходе;

в) переживанием негативных эмоций еще до столкновения с неудачами;

Таким образом, основной фактор, определяющий устойчивость организма при неблагоприятных условиях - это тип поведения. Эмоции здесь играют роль запускающего фактора в образовании последующей цепи сменяющих друг друга состояний. Если отрицательные или положительные эмоции кладут начало новому поиску, они способствуют повышению устойчивости организма перед неблагоприятными воздействиями. С точки зрения стресса, отрицательные эмоции опасны тем, что человек

прекращает поисковую деятельность, рушится система мотиваций, понижается общая резистентность организма. Восстановить сопротивляемость и способность к адаптации помогает, например: здоровый ночной сон, а после более тяжелого изнурения - несколько недель спокойного отдыха.

Значение индивидуальной предрасположенности уменьшается при чрезвычайных, экстремальных условиях, природных или антропогенных катастрофах, войнах, криминальном насилии, но даже в этих случаях посттравматический стресс возникает далеко не у всех перенесших травматическое событие. С другой стороны, повседневные жизненные события (такие как, изменения семейных взаимоотношений, состояния собственного здоровья или здоровья близких, характера деятельности или материального положения) в силу их индивидуальной значимости могут оказаться существенными для развития эмоционального стресса, приводящего к расстройствам здоровья^[9]. Среди таких жизненных событий выделяются ситуации, непосредственно воспринимаемые как угрожающие (болезни, конфликты, угроза социальному статусу); ситуации потери (смерть близких, разрыв значимых отношений), которые представляют собой угрозу системе социальной поддержки; ситуации напряжения, «испытания», требующие новых усилий или использования новых ресурсов. В последнем случае события могут даже выступать как желательные (новая ответственная работа, вступление в брак, поступление в ВУЗ), а угроза будет связана с разрушением сложившихся стереотипов и возможной несостоятельностью в новых условиях.

Важную роль в формировании стресса играют особенности социализации в детском возрасте, когда в существенной мере определяется индивидуальная значимость жизненных событий и формируются стереотипы реагирования. Вероятность возникновения связанных со стрессом психических (особенно невротических) расстройств зависит от соотношения стрессоров, которые воздействовали на человека в детстве и зрелом возрасте [Reister G., Tress W., Schepank H., Manz R., 1989].

Вероятность развития психического стресса при повышении фрустрационной напряженности зависит от особенностей личности, обуславливающих степень устойчивости к психическому стрессу. Подобные черты обозначались как «чувство когерентности», повышающие ресурсы противостояния стрессогенным ситуациям [Antonovsky A., 1987], «личностная выносливость», понимаемая как потенциальная способность активного преодоления трудностей [Maddi S.R., Kobasa S.C., 1984]. Личностные ресурсы в значительной степени определяются способностью к построению интегрированного поведения [Березин Ф.Б., 1988], что позволяет даже в условиях фрустрационной напряженности сохранить устойчивость избранной линии поведения,

соразмерно учитывать собственные потребности и требования окружения, соотносить немедленные результаты и отложенные последствия тех или иных поступков. При хорошей интегрированности поведения энергия распределяется по различным направлениям поведения в соответствии с важностью реализуемых потребностей. Чем выше способность к интеграции поведения, тем более успешно преодоление стрессогенных ситуаций.

Клинические явления, обусловленные психическим стрессом, можно разделить на острые стрессовые реакции, которые возникают после сильного травматического переживания исключительно угрожающего характера и завершаются в течение дней, а иногда и часов; посттравматические стрессовые расстройства, которые представляют собой затяжную, непосредственную или отложенную реакцию на подобного рода переживание; реакции адаптации, при которых прослеживается четкая связь (в том числе и временная) со стрессовым событием, влекущим за собой более или менее выраженное жизненное изменение; невротические состояния и личностные декомпенсации, при которых обычно обнаруживается зависимость от повторного или хронического воздействия стрессоров («жизненных событий»), трудно разрешимых эмоциональных проблем, интрапсихических конфликтов, длительного нарастания фрустрации и психического напряжения. При невротических состояниях и личностных декомпенсациях роль предшествовавшего опыта и особенностей личности, которые определяют индивидуальную уязвимость, наиболее выражены. Значение эмоционального стресса при этих состояниях очевидно, поскольку стресс не связан с одной конкретной и явной ситуацией, а реализуется в более широком жизненном контексте.

С другой стороны, необходимо учесть и тот факт, что сила эмоций, связанных с получением новой информации, определяется типом высшей нервной деятельности. Так, при слабом (по И.П. Павлову) типе результатом стресса будут различные страхи, а у холерика, в первую очередь, - сильное моторное возбуждение. Два оставшихся типа более устойчивы в отношении стресса в связи с меньшей возбудимостью, поэтому выраженность сиюминутной реакции и последующих нарушений у них существенно ниже. Однако, процесс возрастного развития психики создает предпосылки и для коррекции врожденного типа высшей нервной деятельности, а следовательно, и для смягчения последствий стрессов.

В соматике последствия нарушений развития проявляются, аналогично поведенческим реакциям, в зависимости от глубины вызвавшей их причины и особенностей психической деятельности. По наблюдениям, наиболее частыми соматическими нарушениями оказываются различные опухолевые или, напротив,

дистрофические процессы. Нередки также различные кожные поражения. В медицине такие явления известны как нейродермиты, в ветеринарии же они не выделяются. В свете новых представлений о физиологии психического стресса становится очевидной связь эмоциональных нарушений и соматических заболеваний.

Дальнейшие исследования необходимы для определения характера связи между типами стресса и морфогенезом вызываемых им заболеваний (дистрофические, гиперпластические изменения и заболевания метаболической природы).

Таким образом, анализ состояния и процесса формирования психики дает хорошую основу для исследования патогенеза и профилактики различных соматических заболеваний.

Учение о биомаркерах — новое направление в медицинской теории последних лет. По определению Национального Института Сердца и Легких США (1996) “Биологические маркеры — это количественно определяемые биологические параметры, которые как индикаторы определяют здоровье, риск заболевания, эффекты окружающей среды, диагностику заболевания, метаболические процессы, эпидемиологию и т.д.” Важным патофизиологическим механизмом развития гипоксических или редгипоксических состояний является снижение редокс-потенциала системы энергетического обеспечения и инициируемая им активация инициируемых свободными кислородными радикалами, с нарушением регулирующей функции систем жизнеобеспечения и глубокими функциональными расстройствами гомеостаза [Falaschi P., et al., 1994]. Приоритетное значение при этом, наряду с гипоксией, приобретает эндогенная интоксикация, прогрессирование которой, в свою очередь, приводит к усугублению недостаточности кислородтранспортных систем и несостоятельности гомеостаза [Stratakis C.A., Chrousos G.P., 1995].

Параллельно с развитием тканевой гипоксии развиваются процессы, связанные с энергодефицитом и нарушениями внутриклеточного гомеостаза, а также признавая значимость угнетения систем антиоксидантной и антирадикальной защиты и активации свободнорадикальных процессов в развитии накопления токсичных интермедиатов [Sternberg E.M., Licinio J., 1995] можно предположить, что активация процессов перекисного окисления структур.

Заболевания органов дыхания являются одной из наиболее важных проблем в педиатрии, поскольку до настоящего времени, несмотря на достигнутые успехи, они занимают одно из первых мест в структуре детской заболеваемости - по данным

официальной статистики, 50-73%. Высокий уровень распространенности острых респираторных инфекций среди детей - важная социальная проблема, решение которой является одной из основных задач здравоохранения в педиатрии.

Известно, что дети и подростки, часто болеющие острыми респираторными инфекционными заболеваниями, составляют группы риска по развитию острых бронхитов, бронхиолитов, формированию рецидивирующих бронхитов, включая обструктивные формы, и хронической бронхолегочной патологии. Самой распространенной формой, особенно среди детей в возрасте 1-3 лет, являются бронхиты [Таточенко В.К., 1990; Артамонов Р.Г., 1992, Самсыгина Г.А., Зайцева О.В., Корнюшин М.А., 2000, Каганов С.Ю., 1999, Гавалов С.М., 1999]. Заболеваемость бронхитами, по данным ряда авторов, колеблется от 15 % до 50 %. Этот процент существенно повышается (до 50-90%) у детей, часто болеющих острыми респираторными заболеваниями, особенно в экологически неблагоприятных регионах [Почивалов А.В., 1998]. При этом у преобладающего большинства детей наблюдается обструктивный синдром.

Несмотря на то, что в последние годы отмечается рост числа бронхитов, протекающих с синдромом бронхиальной обструкции, до настоящего времени нет четких данных о распространенности обструктивного синдрома при различной бронхолегочной патологии у детей. Разноречивость сведений о частоте и структуре бронхиальной обструкции обусловлена отсутствием единого подхода к дифференциальной диагностике, трактовке этиологии и патогенеза.

Чувствительность рецепторов бронхов усиливается при вирусной инфекции, сопровождающейся повреждением эпителия слизистой оболочки дыхательных путей. Повышенная чувствительность бронхиального дерева к вирусной инфекции может быть связана с аллергической предрасположенностью и гиперреактивностью бронхов [Таточенко В.К., 2000].

Повторные острые респираторные заболевания могут способствовать сенсibilизации организма и создавать предпосылки для развития генерализованных реакций повышенной чувствительности, с последующим формированием рецидивирующих обструктивных бронхитов, бронхиальной астмы и других бронхолегочных заболеваний [Почивалов А.В., 2000; Мизерницкий Ю.Л., 1992; Геппе Н.А., Каганов С.Ю., 1998].

Применительно к бронхиальной астме таким показателем являются морфологические и функциональные изменения эозинофила. Характер воспалительных изменений, биомаркеры этого процесса в совокупности с патофизиологическими

изменениями и клинической картиной позволяют отнести бронхиальную астму к самостоятельной нозологической форме патологии человека.

Причиной изменения бронхиального тонуса считается нарушение равновесия между возбуждающими (холинергическая, нехолинергическая и альфа-адренергическая система) и ингибирующими (β -адренергическая и неадренергическая ингибирующие системы) [Bames P.J., 1992, 1994]. Особенностью детской бронхиальной астмы является наличие диссоциативных *нарушений* внутри *нейро-иммуно-эндокринного комплекса*. Наиболее распространенным примером является возникновение бронхиальной астмы у детей, перенесших перинатальное повреждение центральной нервной системы. Частота интра- и перинатальной патологии у детей и подростков с бронхиальной астмой намного превышает среднестатистический порог и достигает 80%. Тканевая гипоксия, возникающая при патологическом течении беременности и родов, приводит к нарушению синтеза ферментов, макроэргических соединений, нарушению энергетического обмена. Патологическое течение родов может приводить к поаржению стволовых структур мозга регулирующих функции респираторной системы, что способствует формированию бронхолегочной патологии.

У 60% детей, больных бронхиальной астмой, имеются изменения ЭЭГ, свидетельствующие о вовлечении в патологический процесс стволовых и гипоталамических структур головного мозга, нарушения корково-подкорковых взаимоотношений. Исходом большинства случаев перинатальной патологии ЦНС являются микроструктурные изменения гипоталамо-гипофизарной области. клинически проявляющиеся в нарушении деятельности вегетативных центров, изменении гормональной регуляции на уровне релизинготропных гормонов, отклонениях в интеллектуально-мнестической деятельности. В этих детей отмечена более ранняя манифестация, более тяжелое течение бронхиальной астмы, выраженная поливалентная сенсibilизация. Приступный период характеризуется выраженным вегетативным компонентом (нарушения эмоциональной сферы, абдоминальный синдром, нарушения сна).

Манифестация, запуск патологического процесса, его клиническая окраска, тяжесть могут зависеть от функционального состояния межсистемного комплекса, условно выделяемого в нейрофизиологии как нейро-иммунно-эндокринный блок. Дисбаланс функционального состояния симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы играет большую роль в патогенезе бронхиальной астмы. Для многих больных характерно преобладание тонуса парасимпатического отдела вегетативной нервной системы и извращенные реакции на адреналин. Одной из причин может быть

влияние на функциональное состояние эффекторных клеток бронхов и легких аутоантител против адренергических рецепторов.

К сожалению, большинство гематологических исследований в условиях гипокинезии ограничивается представлениями о системе крови как о мишени для стрессорных гормонов и нейромедиаторов. Однако не учитывается способность секреторных продуктов гематогенного происхождения регулировать активность нейроэндокринных механизмов стресса. При этом в соответствии с общепринятой точкой зрения нервная система играет ведущую роль в восприятии стрессорных сигналов из окружающей среды, а эндокринная система программирует стрессорную реакцию в ответ на разнообразные нарушения гомеостаза [Середа Е.В., и др. , 2001]. Между тем в настоящее время в нейроиммунологии сформировались представления об иммунной системе как о "сенсорном аппарате", воспринимающем те стрессорные раздражители, которые нераспознаваемы для нервной системы. Эта точка зрения наиболее четко отражена в концепции J. Vlahack о "когнитивных" и о "некогнитивных" стрессорах [Лукьянов С.В., и др., 2001]. К первой категории стрессорных раздражителей относятся все экстремальные раздражители, провоцирующие тем или иным способом развитие "эмоционального стресса". Напротив, "некогнитивные" факторы первично взаимодействуют с иммунокомпетентными клетками через цитокины, которые являются секреторными продуктами фагоцитарных и лимфоцитарных клеток. Важно подчеркнуть, что, будучи медиаторами межклеточной кооперации, обеспечивающей формирование иммунного ответа, интерлейкины (Ил) выступают в качестве паракринных факторов и, следовательно, являются локальными иммунорегуляторами.

На основании вышеизложенных фактов вполне оправданы представления о существовании макрофагально-лимфоцитарно-гипоталамо-гипофизарной стресс-реализующей системы [Артамонов Р.Г., 1999]. Более того, в представленной иммунно-нейро-эндокринной оси прослеживаются регуляторные механизмы, работающие по принципу отрицательной обратной связи. Так, глюкокортикоидные гормоны обладают способностью угнетать экспрессию цитокиновых генов (Ил-1; ФНО) в макрофагах, тем самым ограничивая участие лейкоцитарных клеток в активации гемопоза [Геппе Н.А., Каганов С.Ю., 1995]. Таким образом, современные представления о механизмах индукции стресс-реакции помимо нервной и эндокринной составляющих рассматривают еще и гематологическую компоненту в качестве узлового звена в формировании гормонально-метаболического статуса организма при экстремальных воздействиях и как генерализованной реакции гематологического стресс-синдрома системы крови [Таточенко В.К., 1990] В настоящее время исследования системы крови посвящены изучению путей

активации гематологического стресс-синдрома цитокинами, действия которых часто бывают реципрокны друг другу. Так, Ил-1 не только вызывает активацию гематологического стресс-синдрома, но и снижает чувствительность к глюкокортикоидам в тканях-мишенях [Геппе Н.А., Каганов С.Ю., 1995]. Помимо этого Ил-1 и ФНО снижают плотность β_1 -адренорецепторов при одновременной активации экспрессии β_2 -адренорецепторов. Интересно отметить, что аналогичные сдвиги β -адренореактивности наблюдались на начальных этапах повторного воздействия одночасовой иммобилизацией [Шмелев Е.И., 1998]. Кроме того, для Ил-1, ФНО_a и нейтрофилокина характерна способность усиливать активность церебральной MAO [4] и, наконец, секреторный продукт активированных нейтрофилов - нейтрофилокин - помимо снижения глюкокортикоид-реактивности и адренореактивности также ограничивает выраженность стрессорной инволюции тимуса и ульцерогенеза [Артамонов Р.Г., 1992]. Важно подчеркнуть, что стресс-лимитирующие эффекты медиаторами гематологического стресс-синдрома могут осуществляться непосредственно - путем взаимодействия с глюкокортикоидными рецепторами и адренорецепторами и опосредованно - путем усиления продукции NO [Gilly R., 1976]. Известно, что такие представители семейства монокинов, как Ил-1, ФНО_a и Ил-6, активируют индуцибельную NO-синтазу, вследствие чего и происходит усиленная продукция NO. Прежде всего это связано со значением NO в координированной активации стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем и в сопряжении между собой нейрогуморальной и внутриклеточной линий антистрессорной защиты [Булгакова В.А., Сенцова Т.Б., Балаболкин И. И., 2001]. Недавно были получены данные о том, что трансформация физиологических эффектов NO в патофизиологические зависит от его взаимодействия с металлами с переменной валентностью, с тиолами и супероксидным радикалом. Так, связываясь с супероксидным радикалом, NO образует пероксинитрит, что приводит к повреждению клеточной ДНК и РНК, дезаминированию пуриновых и пиримидиновых оснований с последующей фрагментацией нуклеиновых кислот [Чучалин А.Г. , 1998]. А это, в свою очередь, вызывает НАДФ-зависимое АДФ-рибозилирование ядерных белков - гистонов [Федосеев Г.Б. , 1995].

Полученные данные позволяют предположить, что при длительном информационно-эмоциональном напряжении, обусловленном обработкой больших массивов информации и гипокинезией при работе с персональным компьютером развивается синдром хронической усталости сопряженный с напряженностью защитных систем ЦНС и иммунной системы. И что эти изменения усугубляются при осложнении сопутствующей респираторно-вирусной инфекцией или бронхиальной астмы. При этом почти у половины

больных выявлено снижение уровня IgG, а у 12 больных при нормальном уровне иммуноглобулинов (IgG, M, A) наличие дисфункции Т-звена иммунитета.

Показано, что мишенью токсического действия тяжелых металлов, химических ядов и лекарственных препаратов в первую очередь является дыхательная цепь митохондрий на различных ее участках впервые апробируется высокоинформативный и легкодоступный тест оценки токсичности по угнетению окисления *NADH*, а также активности *NADH* – метгемоглобинредуктазы, цитохромоксидазы, *NADH*-оксидазы и *NADH*-цитохром P₄₅₀ редуктазы, содержания цитохромов В образцах также будет исследоваться общая антиоксидантная и оксидантная активности, активности супероксиддисмутазы, ксантинооксидазы, каталазы и глутатионпероксидазы, а неферментативного звена системы антиоксидантной защиты - содержание витамина Е и А. Активность перекисного окисления липидов по содержанию малонового диальдегида и резистентности липидов высокой плотности к окислению

Предполагается, что цитотоксичность тяжелых металлов, большинства химических агентов обусловлена тремя взаимосвязанными механизмами: угнетением митохондриального дыхания клеток мозга, кардиомиоцитов, гепатоцитов, нефроцитов вследствие изменения мембранного потенциала митохондрий и нарушения активности ферментов дыхательной цепи и цикла Кребса; нарушением кальциевого гомеостаза клетки за счет изменения внутриклеточного потока кальция, замены кальция на специфических рецепторах с последующей активацией кальций-зависимых протеолитических ферментов усилением перекисного окисления липидов как за счет снижения антиокислительной защиты клетки, так и за счет непосредственной прооксидантной активности некоторых металлов и химических соединений. Сочетание указанных изменений на фоне активного занятия с компьютерами резко усиливается

Знание патогенетических механизмов цитотоксического действия эндоэкологических факторов позволит разработать высоконадежные, доступные клинические тест-системы ранней диагностики эндогенной интоксикации и наметить пути эндоэкологической реабилитации повышения резистентности адаптивных систем организма подростков, что обеспечит значительное снижение заболеваемости в подростковом возрасте.

В заключении следует отметить, что образующиеся в результате метаболизма в эритроцитах, равно как и в соматических клетках различных органов и тканей, реактивные кислородные радикалы в основном утилизируются при помощи ферментов антирадикальной защиты, поэтому их следует рассматривать как единую систему АФК-ферментативная система антиоксидантной защиты. Такие ферментативные реакции весьма интенсивно участвуют в работе собственных детоксикационных систем и

поддержания резервных возможностей системы энергообеспечения и антиоксидантной защиты. Ключевым механизмом к запуску которых является потеря клетками АТФ и НАДФН. Пероксинитрит окисляет также клеточные липиды и белки.

При этом необходимо подчеркнуть, что помимо ферментов прямой антирадикальной защиты (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатин-пероксидаза и др.) в обезвреживании АФК принимают участие различные ловушки свободных радикалов (неферментативное звено системы антиоксидантной защиты).

Значимость метаболической иммунодепрессии при воспалительных заболеваниях показана у подростков с ОРВИ и БА - выявляется незначительное увеличение иммунорегуляторного индекса, но при отсутствии других изменений со стороны клеточного и гуморального иммунитета. В то же время у больных снижена активность глутамат-, изоцитрат- и лактатдегидрогеназы лимфоцитов крови, при увеличении уровня глицерол-3-фосфатдегидрогеназы. На основании обнаруженного снижения активности ряда митохондриальных оксидоредуктаз у подростков с БА и ОРВИ можно предположить нарушение аэробных процессов лимфоцитов, а увеличение уровня глицерол-3-фосфатдегидрогеназы и митохондриальной СОД — как компенсаторную реакцию, направленную на дополнительное субстратное стимулирование окислительно-восстановительных реакций. Выявленные нарушения метаболизма лимфоцитов и определяют снижение их функции, что приводит к развитию вторичного иммунодефицита и хронизации заболевания.

Простудные заболевания, повторные инфекции уха, горла, носа, острые и хронические бронхолегочные инфекции составляют основной перечень заболеваний в детском возрасте. В группу БА принято относить детей, подверженных частым респираторным заболеваниям в основном из-за транзиторных отклонений и возрастных особенностей иммунной системы детского организма. Индивидуальная способность к интерферонообразованию ИФН генетически детерминирована, а резистентность к вирусным инфекциям во многом зависит от выработки интерферона.

Тесное сопряжение нейроэндокринных и иммунологических механизмов и участие иммунологически активных соединений в реализации иммуно-нейроэндокринных взаимодействий, а нарушения обмена моноаминов и серотонина могут быть патогенетическими факторами различных иммунологических нарушений. Установлены сложные регуляторные взаимоотношения по типу обратной связи между Ил-1 и глюкокортикоидными гормонами, а сам Ил-1 обладает прямым действием на гипоталамо-нейрогипофизарную систему, вызывая активацию аденокортикотропной функции гипофиза с участием адренергических систем. Показано, что синтез гипофизарных

нейропептидов окситоцина и вазопрессина, а также нейрофизина происходит в клетках тимуса и в культурах лимфоцитов. В лимфоцитах эти соединения обладают свойствами интерлейкина-2 (Ил-2), являющегося фактором роста Т-клеток, а также оказывают влияние на дифференцировку и пролиферацию Т-лимфоцитов и накопление в них γ -интерферона, адренкортикотропного гормона и β -эндорфина. На пролиферацию Т-лимфоцитов и биосинтез иммуноглобулина А (IgA) стимулирующее действие оказывает субстанция Р и соматостатин, а иммуномодулирующим действием обладают энкефалины и β -эндорфин. Тяжелое течение болезни характеризовалось достоверным ($p < 0,02$) повышением уровня sIgA в слюне в ночные часы по сравнению с таковыми при среднетяжелом течении. Таким образом, у детей и подростков с ночными приступами БРА усиление бронхоспазма в ночное время суток сопряжено с выраженным увеличением концентрации sIgA, сывороточного IgJ в слюне, свидетельствуя об участии иммунологических механизмов в патогенезе ночной астмы.

Следующий важный компонент в повреждении тканей - это АФК. АФК способны реагировать с эндогенными субстратами, образующими структуры организма, прежде всего с фосфолипидными мембранами. Промежуточные продукты ПОЛ не оказывают токсического и повреждающего действия на ткани организма: это действие оказывают конечные продукты. Свободно-радикальное окисление протекает во всех органах и тканях и является нормальным метаболическим процессом, который важен для регуляции транспорта веществ через мембраны, синтеза лейкотриенов и простагландинов, метаболизма стероидных гормонов и катехоламинов и т.д. Гипоксия занимает ведущее место в стимуляции реакций свободнорадикального окисления: ее глубина во многих случаях определяет тяжесть и исход многих заболеваний. При глубокой гипоксии последующее восстановление снабжения тканей кислородом, может способствовать дальнейшему повреждению клеточных структур в результате активации АФК. Нарушения метаболизма, возникающие вследствие гипоксии, ведут к повышению уровня свободных радикалов. При инфекционно-аллергических заболеваниях антиоксидантный потенциал значительно снижается. Наиболее стабильным и токсичным является супероксидный анион: он оказывает прямое и опосредованное действие через другие формы кислорода. В исследованиях больных с бронхиальной астмой установлено, что активная выработка супероксида предшествует увеличению уровня простагландина E_2 и лейкотриена B_4 , что достоверно коррелирует со снижением числа тромбоцитов и лейкоцитов, увеличением тромбосана B_2 и простагландина F_{2a} , за которыми следует увеличение респираторного индекса, процента шунта, снижение эластичности легких

Эндотелин 1 - это пептид эндотелиальных клеток, которое оказывает вазоконстрикторное действие, в связи, с чем он включен в патофизиологию различных органических дисфункций (острая почечная недостаточность, реакция острого отторжения трансплантата, гепаторенальный синдром, токсический шок и т.д.), а также в формирование первичной легочной гипертензии. При нормальной физиологии легкие являются местом разрушения эндотелина: в результате повреждения легких эта функция нарушается и имеется дополнительное освобождение эндотелина - 1 в циркуляцию, при этом отмечается увеличение бронхоконстрикторной активности и снижение легочной растяжимости. Легочная вазоконстрикция опосредуется через освобождение тромбоксана. Эндотелин-1 может также активировать нейтрофилы в пределах легочных капилляров, что имеет отношение к увеличению сосудистой проницаемости. Предполагается, что эндотелин-1 усиливает выработку свободных кислородных радикалов и может активировать систему коагуляции.

Таким образом, патогенез бронхиальной астмы носит ярко выраженный многофакторный характер и связан с активацией комплемента и нейтрофилов, дисфункцией ретикулоэндотелиальной системы, действием микробного эндотоксина, реперфузионными расстройствами, активацией свободнорадикальных процессов. Для бронхов и легкого характерно поражение в первую очередь интерстиция, обеднение его белками эластином и фибронектином, накопление в нем воды и белков плазмы.

Если процесс не остановить, то развивается некардиогенный альвеолярный отек. В далеко зашедших стадиях в альвеолы проникает гиалин, развиваются гиалиновые мембраны, возникает истинное нарушение диффузии газов через альвеоло-капиллярную мембрану.

Следует подчеркнуть, что формирование понятия “предболезнь” и развитие учения о биомаркерах не только целесообразно, но и необходимо, поскольку они отвечают требованиям современного здравоохранения, ориентированного на первичную профилактику заболеваний путем своевременного оздоровления практически здоровых подростков, популяции в целом. В связи с этим установление с использованием методом доказательной медицины биологических маркеров формирования состояния “предболезни” и выявления факторов риска является необходимым условием разработки диагностических критериев распознавания таких состояний, и рациональных лечебно-профилактических мероприятий. Нозологическая диагностика основанная на накоплении ряда симптомов, сочетание которых определяет конкретный клинический диагноз существующая сегодня обуславливает пассивно-выжидательное отношение врачей к развитию заболевания на предболезненных стадиях. Возникла необходимость осмысления

и выработки новых подходов к выявлению “предболезни”, что возможно на основе обнаружения отдельных клинических симптомов, выявления биологических (биохимических) характерных маркеров и их устранения до сформировавшегося нозологического диагноза. Семичов С.Б. (1984) подчеркивает, что "предболезнь может указывать на действие механизмов и условий, уже формирующих болезнь, может рассматриваться как наипервейшая стадия заболевания и может свидетельствовать о сохранности защитных сил организма, направленных на то, чтобы не допустить развития заболевания". Нельзя не согласиться с В.Т. Митиным (1990), в том, что патогенез “предболезни” трудно осмыслить вне связи с механизмами адаптации, компенсаторных реакций в ответ на стрессорное воздействие, формирования резистентности через болезнь, а также гипотезу И.В. Давыдовского о том, что на предельной высоте или остроте развития эти реакции обычно переходят в свою противоположность. При этом если в одних случаях один и тот же этиологический фактор может участвовать в формировании и предболезни и самой болезни, то в других ситуациях этиология этих явлений может быть совершенно различной. В качестве одного из примеров можно привести следующее. Инфекции верхних дыхательных путей приводят к гиперреактивности бронхов, которая подтверждается повышенной чувствительностью к холинергическим агентам, гистамину, вдыханию холодного воздуха, физической нагрузке, нитрату натрия, озону. Гиперреактивность бронхов сопровождает как естественно возникающие инфекции верхних дыхательных путей, так и экспериментально воспроизводимые инфекции, вызванные риновирусами. Состояние гиперреактивности бронхов составляет один из ведущих механизмов преаастмы, которая может трансформироваться в астму при наличии сенсibilизации организма к тем или иным аллергенам. В том случае если формируется иммунный ответ, обеспечивающий сенсibilизацию организма к тому же инфекционному агенту, который вызвал состояние гиперреактивности бронхов, то этиологический фактор преаастмы и бронхиальной астмы окажется одним и тем же. Если же сенсibilизация будет сформирована к другим аллергенам (инфекционным или неинфекционным), то понятно, что в качестве этиологических факторов “предболезни” и заболевания будут выступать разные воздействия.

По данным Борзова С.П., Положий Б.С. (1992) лишь у 31,7% младших школьников не было обнаружено каких-либо признаков нарушений здоровья, 29,4% составили школьники с повышенным риском возникновения нервно-психических расстройств, а у 38,9% были выявлены те или иные формы нервно-психических расстройств. Каган В.Е. (1984) указывает, что случаи психогенной формы школьной дезадаптации встречаются у 15-20% учащихся. По данным Самоукиной Н.В., с началом обучения в школе у 30% детей

возникают специфические реакции: страхи, агрессивность, истерические реакции, повышенная слезливость, заторможенность, гиперактивность, тревожность. Стрекалова Н.И. (1995) пишет о том, что после 5-6 лет обучения в школе число невротизированных школьников достигает 80%. При этом возникновение болезни может произойти при любых дополнительных функциональных нагрузках, под воздействием неблагоприятных факторов, например, перенапряжения в период экзаменов, которые выявляют психическую напряженность или уже парциальную дезадаптацию, и эта когорта перейдет в категорию школьников, требующих незамедлительной коррекции состояния. Таким образом, выяснение патогенетических механизмов "предболезни" и выявление биологических маркеров этих состояний, а также установление тех инициальных изменений в организме, которые предшествуют не только возникновению болезни, но и формированию патологического процесса является актуальным направлением не только теории медицины, но и практического здравоохранения, педиатрии, которое ждет своего решения.

ВЫВОДЫ

1. У подростков длительно работающих за компьютером без соблюдения гигиенических норм организации "рабочего места" и трудового распорядка в 99,5% случаев развивается синдром информационного стресса, при котором, отмечается снижение свободного серотонина, антиоксидантной активности и напряжение оксидантной системы.
2. Действие электромагнитных полей разной интенсивности в сочетании с нервно-психическим перенапряжением и гипокинезией (сопровождающих современный учебный процесс) является мощным стрессорным агентом и повышает риск развития сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний.
3. Длительно действующий на организм подростка фактор психо-эмоционального напряжения на который наслаивается сниженная адаптационная способность иммунной системы, энергообеспечения и симпато-адреналовой системы, является самостоятельным, сильно действующим стресс-фактором.
4. Наслоение напряженности иммунной системы, систем адренэргической и серотонинэргической регуляции и системы энергетического обеспечения при бронхиальной астме (аллергического стрессорного агента) с длительным перенапряжением центральной нервной системы и гиподинамией, ведет к усугублению нарушения активности нейроэндокринной и иммунологической систем и системы энергетического обеспечения.

5. Основным механизмом возникновения вегетонейроциркуляторной дистонии в условиях гипокинезии является развитие дисбаланса между торможением и возбуждением, ослабление тормозных и преобладание возбуждающих механизмов в высших отделах головного мозга. Наиболее значимыми являются сдвиги в уровне серотонина и соотношении симпатoadреналовой к серотонинэргической регуляции, сдвиги в регуляторном механизме цикла “активность-покой”.
6. Активация образования активных форм кислорода под воздействием сильного стрессорного агента ведет к напряженности эндотелиальной и симпато-адреналовой систем, развитию дисбаланса в эндотелиальной и скрытой недостаточности системы антиоксидантной защиты, активированию процессов аутоокисления адреналина до кардиотоксического адренохрома. Установлена отрицательная линейная взаимосвязь между повышением уровня эндотелина-1 и соотношением [адреналин]/ [адренохром].
7. При острой респираторной вирусной инфекции в группе часто болеющих подростков и детей с нарушением иммунного статуса в виде депрессии клеточного звена, дисбаланса хелперов и супрессоров, угнетения выработки IgA и гиперпродукции IgM, а также снижение содержания секреторного IgA в слюне сочетается со снижением редокс-потенциала и содержания цитохрома-С в лимфоцитах, сдвигом соотношения АТФ/АДФ в сторону динуклеотида. Установлено, что между снижением содержания цитохрома-С, редокс потенциалом НАДФ/НАДФН и повышением иммунорегуляторного индекса существует отрицательная множественная корреляционная взаимосвязь.
8. Механизм регуляторного содержания функционирования дыхательной цепи митохондрий, системы антиоксидантной защиты и иммунной системы является одной из основных мишеней поражения под воздействием стрессорного (аллергического, воспалительного) агента у подростков. Повышение активности НАДФН-оксидазы, индуцируя увеличение продукции активных форм кислорода, ведет к нарушению гомеостаза иммунной системы и ускорению апоптоза.
9. Напряженность иммунологического статуса сочетается со снижением содержания в лимфоцитах окисленных форм пиридиновых нуклеотидов, редокс-потенциала НАД/НАД·Н (маркер дезадаптационных процессов в системе энергообеспечения) и НАДФ/НАДФН (маркер пластического обмена), нарушением корреляции между редокс-потенциалом НАДФ/НАДФН и содержанием IgE – происходит ослабление координации между метаболической системой лимфоцитов и функциональной активностью иммунно-компетентных клеток.

10. Сдвиги в системе энергетического обеспечения под воздействием различных стрессорных агентов тесно взаимосвязаны с нарушениями регуляторных нейрхимических связей и усиливая друг-друга лежат в основе прогрессирования митохондриальной недостаточности и формирования нейрциркуляторных расстройств у подростков.
11. Экопатогенные факторы, основной внутриклеточной мишенью которых являются митохондрии, повышают риск хронических заболеваний у подростков. В связи с этим, для превенции, считаем целесообразным включение мембраностабилизирующих, антиоксидантных, блокирующих кальциевые каналы препараты, подросткам длительно работающим за компьютером с несоблюдением гигиенических норм.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамов В.В., Абрамова Т.Я. Асимметрия нервной, эндокринной и иммунной систем. – Новосибирск. Наука. Сибирская издательская фирма РАН. 1996. 97 с.
2. Абрамов В.В., Маркова Е.В., Повешенко А.Ф. и соавт. Взаимосвязь параметров поведения и иммунитета: возможные механизмы и значение // Russian J. of Immunology. - 2001. - vol. 6. №2. – С.215-220.
3. Аветисов Э.С., Розенблом Ю.З., Корнюшена Т.А. Профессиональная офтальмология. //Мед. труда и пром. экология. - 1995. - №4. - С. 14-16.
4. Акмаев И. Г. Современные представления о взаимодействиях регулирующих систем: нервной, эндокринной, иммунной // Успехи физиол. наук. - 1996. – 27. – С.3—19.
5. Альперович Д.В., Лысенко А.В., Михалева И.И., Менджеричкий А.М. Преадаптация организма к действию неблагоприятных факторов путем введения эндогенного адаптогена – дельта-сон-индуцирующего пептида // Нейрохимия. –1999. –Т.16. -№1. -С. 29-36.
6. Анохин К.В. Молекулярно-генетические предпосылки системогенеза поведенческих актов // Теория системогенеза/Под ред. К.В.Судакова. –М.: Горизонт, 1997. –С. 215–276.
7. Анохин К.В., Рябинин А.Э., Судаков К.В. Экспрессия гена c-fos в мозге у мышей в динамике выработки навыков оборонительного поведения // Журнал высш. нервн. деят. им. И.П.Павлова. – 2000.
8. Анохин П.К. Психическая форма отражения действительности // Ленинская теория отражения и современность /София: Науки и искусство, 1969. –С. 109–139.
9. Анохин П.К. Философские аспекты теории функциональной системы // Избранные труды. – М.: Наука, 1978. –400 с.
10. Артамонов Р.Г. О некоторых дискуссионных аспектах бронхообструктивных состояний у детей. Педиатрия, 1992 - вып. 4-6. - С.71-3.
11. Ашмарин И.П. Сигнальные молекулы и социальное поведение // Нейрохимия. –2001. –Т.18. -№4. –С.243-250.
12. Баевский Р.М. Прогнозирование состояний на грани нормы и патологии. М.: Медицина. -1979. -298с.
13. Баевский Р.М. Прогнозирование состояний на грани нормы и патологии. М.: Медицина. -1979. -298с.
14. Базян А.С. Нейромодуляторные интегративные механизмы формирования эмоционально-мотивационных состояний // Нейрохимия. –1999. –Т.16. -№2. -С. 88-102.
15. Белоусов Ю.Б., Лукьянов С.В., Середа Е.В., и др. Пуриновые и глюкокортикоидные рецепторы у детей с бронхиальной астмой и хроническими бронхолегочными заболеваниями, сопровождающимися бронхообструктивным синдромом // Пульмонология. -1992. - № 2. – С.30-35.

16. Березин Ф.Б., Барлас Т.В. Социально-психологическая адаптация при невротических и психосоматических расстройствах, // Журн. Невропат. и психиатрии им. С.С. Корсакова, 1994, т. 94, N 6, с. 38-43.
17. Биохимия мозга / под ред. И.П.Ашмарина, П.В.Стукаловой, Н.Л. Ещенко. СПб.: изд-во С-Петербурга. Унта. -1999. - 326с.
18. Булгакова В.А., Сенцова Т.Б., Балаболкин И. И. Роль респираторно - вирусных инфекций в развитии воспаления дыхательных путей при бронхиальной астме у детей. Материалы IX Съезда педиатров России, М., 2001- С. 515-6.
19. Буреш Л., Бурешова О., Хьюстон Дж. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.:Мир, 1991, 399с.
20. Вальдман А.В., Козловская М.М., Медведев О.С. Фармакологическая регуляция эмоционального стресса // М.: Медицина. - 1979. - 354с.
21. Василенко А.М., Захарова Л.А., Метакса Е.Е. Яновский О.Г. Корреляции болевой чувствительности и гуморального иммунного ответа при термораздражении у мышей // Бюл. exper. биол. - 1995. - №4. - С. 405-409.
22. Васильев Н.В., Захаров Ю.М., Коляда Т.И. Система крови и неспецифическая резистентность в экстремальных климатических условиях. - Новосибирск: ВО Наука, 1992. - 257 с.
23. Васильева О.А., Семке В.Я. Интеграция нервной и иммунной систем при основных нервно-психических заболеваниях // Бюлл. СО РАМН. - 1994. - №4. - С. 26-30.
24. Ващенко М.А., Тринус Е.К. Поражение нервной системы при гриппе и других респираторных вирусных инфекциях. Киев, Здоровье, 1977.
25. Вельтищев Ю.Е., Фокеева В.В. Экология и здоровье детей. Химическая экопатология // Росс. вест. перинат. и педиат. (прилож., лекц. 9) - С. 23-27.
26. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л. и др. Роль иммунной системы в выборе адаптационной стратегии организма. Челябинск, 1998.
27. Гавалов С.М. Гиперреактивность бронхов как один из ведущих патофизиологических механизмов возникновения «рецидивов» бронхолегочных заболеваний у детей, перенесших пневмонию или ОРВИ // Детский доктор. 1999. - № 4. - С. 19-23.
28. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С. Антистрессорные реакции и активационная терапия. М.:Имедис. - 1998. - 545с.
29. Гельман В.Я., Кременевская С.И. Адаптивные функции мозга // Физиол. журн. СССР. - 1990. - №4. - С.553-556.
30. Геппе Н.А., Каганов С.Ю. Основные задачи и цели национальной программы «Бронхиальная астма у детей» // Аллергология. - 1998. - № 1. - С.4-7.
31. Гиссен Л.Д. Время стрессов. - М., 1990.
32. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Хлусов И.А. Роль вегетативной нервной системы в регуляции гемопоеза. - Томск: изд-во Томского университета, 1997. - 217 с.
33. Гордеева М.А., Гуревич К.Г., Подзолкин А.А. Содержание катехоламинов в крови и слюне при моделировании острого и хронического стресса и дистресса у крыс // Нейрохимия. - 2001. - №3. - С.235-239.
34. Грищенко С.В., Савицкий Г.И., Крылов В.Ф. и др. Клеточный иммунитет при гриппе, осложненном пневмонией // Сов. Мед. - 1983. - 11: 710.
35. Громова Е.А. Эмоциональная память и ее механизмы.-М.:Наука, 1980-180 с.
36. Данилова Р.А., Белопольская М.В., Кушнир Е.А. и соавт. Долговременное изменение биохимического и физиологического статуса белых крыс иммуномодуляцией активности моноаминоксидазы // Нейрохимия. -2000. -Т.17. -№3. -С. 192-197.
37. Девойно Л.В. Серотонин-, дофамин- и ГАМК-ергические системы мозга в нейроиммуномодуляции // В кн. Иммунофизиология. Сп.-Пб., Наука. 1993. С. 201-242.
38. Демирчоглян Г.Г. Компьютеры и здоровье. - Изд-во. Лукоморье. Новый центр. М. 1997г. -256с.
39. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса // Вопр. медицинской химии. - 2001. - №6. С.23-40.

40. Духанин А.С., Лукьянов С.В., Середя Е.В., и др. Оптимизация показаний к терапии препаратами теофиллина у детей с бронхообструктивным синдромом // Фарматека. – 2001. - № 6. – С. 30-34.
41. Дыгай А.М., Клименко Н.А. Воспаление и гемопоэз. - Томск: изд-во Томского университета, 1992. - 275 с.
42. Жаков Я.И. Клинико-патогенетические особенности бронхиальной астмы у детей, перенесших перинатальную патологию центральной нервной системы. Автореф. дис... докт.мед.наук. М. 1988.
43. Журавлев Б.В. Системный анализ активности нейронов мозга при пищедобывательном поведении у животных // Нейроны в поведении: системные аспекты / М., 1986. – С. 170–179.
44. Захарова Л.А., Василенко А.М. Медиаторы взаимодействия нейроэндокринной и иммунной систем // Успехи соврем. биол. - 1984. - Т.98, №1. - С.103-115.
45. Земсков А.М., Земсков В.М. Дополнительные методы оценки иммунного статуса // Клин. лаб. диагностика. - 1994. - №3. - С.34-35.
46. Земсков А.М., Земсков В.М., Золотев В.И. и др. Иммунобиохимические механизмы сочетанной патологии // Аллергология и иммунология. - 2002. - №1. - С.34-49.
47. Исаева Е.И., Ровнова З.И., Полякова Т.Г., Вязов С.О. Частота выявления антигенов вирусов гриппа в лимфоцитах периферической крови доноров в зависимости от эпидемической активности вирусов гриппа А и В // Вопр. Вирус. – 1993. - 4. - 1469.
48. Каганов С.Ю. Бронхиальная астма у детей и ее классификация. В кн.: Бронхиальная астма у детей (под ред. С.Ю. Каганова). М., 1999. - С.12-26.
49. Камскова Ю.Г., [Рассохин А.Г.](#), [Цейликман В.Э.](#) и др. [Изменения в системе крови при длительной гипокинезии](#) // [Вестник ЧГПУ](#). 2000. Серия 9. - № 1. - С. 90 - 93.
50. Кеннон В. Физиология эмоций. Телесные изменения при бооли, голоде, страхе и ярости // Л.: Прибой. – 1927. – 173с.
51. Керкешко Г.О., Степанов М.Г., Корневский А.В. и соавт. Влияние мелатонина на гипоталамическую регуляцию репродуктивной функции крыс при хроническом воздействии ксенобиотиков // Нейрохимия. – 2001. – Т.18. - №1. - С. 67-74.
52. Китаев-Смык А.А. Психология стресса. - М., 1983.
53. Князева Л.Д., Кетиладзе Е.С., Крылов В.Ф. Течение пневмоний у больных гриппом при разных бактериальных ассоциациях // Сов. мед. - 1982. - № 2. – С. 924.
54. Князева Л.Д., Моргунов В.А., Кетиладзе Е.С., и др. Клинические и морфологические признаки аденовирусной инфекции и смешанной гриппозноаденовирусной инфекции при летальных исходах у детей // Педиатрия. – 1972. - № 2. – С. 2935.
55. Кобринский Б.А. Формирование групп риска и прогноз развития заболеваний // Вестник АМН СССР. - 1987. - №4. - С.85-89.
56. Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н. Гипокинезия. М.: Медицина, 1980. 320с.
57. Кокс Т. Стресс. Медицина. М. 1981.
58. [Корнева Е.А.](#) [О взаимодействии нервной и иммунной систем](#) // [Иммунофизиология](#). - СПб.: Наука, 1993, с. 7-9.
59. Коровина Н.А., Чебуркин А.В., Захарова Н.Н. и соавт. Иммунореабилитация часто и длительно болеющих детей. - М., 1996.
60. Куличенко Т.В., Климанская Е.В., Лукина О.Ф., Бальдина Г.Н. Дифференциальная диагностика бронхиальной астмы у детей раннего возраста // Русский вестник перинатологии и педиатрии. - 2000. - № 6. – С.25-30.
61. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Интерпретация клинического анализа крови с определением субпопуляций лимфоцитов при воспалении // Аллергия и иммунология. – 2002. – Т.3. - №1. – С.50-61.
62. Лещинская Е.В., Мартыненко И.Н. Острые вирусные энцефалиты у детей. Медицина, 1990.
63. Лукьянов С.В., Духанин А.С., Белоусов Ю.Б., и др. Гистаминовые и альфа адренергические рецепторы у детей с бронхообструктивными заболеваниями. В кн.: Сборник резюме 11 национального конгресса по болезням органов дыхания. М., 2001- VI-50, с. 76.
64. Лысков Е.Б., Медведев С.В., Сандстрем М. Синхронизация ЭЭГ у человека под влиянием модифицированной освещенности // Физиология человека. - №6. - 1995. - С. 38-41.
65. Маркова Е.В., Громыхина Н.Ю., Абрамов В.В., Козлин В.А. Особенности иммунного статуса у мышей с различным уровнем поведенческих реакций // Russian J. of Immunology. - 2000. - vol. 5. №1. – P.89-95.

66. Маркова Т.П., Чувириков Д.Г. длительно и часто болеющие дети // РМЖ.-2002. - №3. – С.4-13.
67. Маркосян К.А. Дофамин β-монооксигеназа // Нейрохимия. - 1999. –Т.16. -№3. –С181-109.
68. Маслова М.В., Маклакова А.С., Граф А.В. и соавт. Биоамины мозга и поведение потомства после антенатальной гипоксии: эффекты пептидных нейромодуляторов // Нейрохимия. - 2001. –Т. 18. -№3. – С.212-215.
69. Матвеев М.П., Чебуркин А.В. Пограничные состояния у детей // Педиатрия. -1981. -№12. -С.8 - 12.
70. Медведев О.С., Степачкина Н.А., Дорохова М.И. Нейрофармакологические аспекты эмоционального стресса и лекарственной зависимости. М., 1978. – С.109-117.
71. Меерсон Ф.З. Концепция долговременной адаптации. - М.: Дело, 1993. - 137 с.
72. Митин В.Т. К дискуссии по проблеме предболезнь // Патфизиол. Экспер.терапия. – 1990. - №3. – С.48-51.
73. Муратов Е.И. Электрические и магнитные поля сверхнизкой частоты и их роль в развитии новообразований // Вопросы онкологии. - 1996. - №5. - С.13.
74. Муратов Е.И. Электрические и магнитные поля сверхнизкой частоты и их роль в развитии новообразований // Вопросы онкологии. - 1996. - №5. - С.13.
75. Нягу А.И., Логановский К.Н., Юрьев К.Л. и соавт. Нейропсихическая эффективность монотерапии сермионом в высоких дозах (30-60 мг/сут) у облученных пациентов с энцефалопатией // Нейрохимия. - 1999. - С.6-16.
76. Олескин А.В. Биополитика. Соматические (физиологические) факторы в политическом поведении. 1999. М.
77. Олескин А.В. Биополитика. Этиология и социобиология: приложимость к политическому поведению. 1999. М.
78. Орбели Л.А. Лекции по физиологии нервной системы // М.:Медгиз.-1938.- 312с.
79. Павлов И.П. Рефлекс цели // Двадцатилетний опыт объективного изучения высшей нервной деятельности (поведения) животных / М.: Медгиз, 1951. – С. 197–201.
80. Павлова В.И., Попкова М.А., Локтионова И.В. Влияние гипокинезии на гранулоцитопоз //Тезисы конференции "[Наука, культура и образование России накануне третьего тысячелетия](#)". - Челябинск: ЧГПУ, 1997, с. 69.
81. Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса // Новосибирск: Наука. Сиб.отд. – 1983. – 232с.
82. Поленов А.Л., Константинова М.С., Гарлов П.Е. Гипоталамо-гипофизарный нейроэндокринный комплекс // Нейроэндокринология. РАН. 1993. СПб.: 139—187.
83. Райков В.Л. Биоэволюция и совершенствование человека. Гипноз, Сознание, Творчество, Искусство. – М.: Изд. дом “Грааль”, 1998. – 648 с.
84. Рачинский С.В., Волков И.К. Пороки развития органов дыхания у детей. В кн.: Затяжные и хронические болезни у детей (под ред М.Я. Студеникина). М., 1998 - Медицина - С. 40-155.
85. Резник И. Б., Щербина А. Ю., Кулак Ю. В. и др. Особенности воспаления дыхательных путей при бронхиальной астме у детей. // Педиатрия. - 1997. - №2. – С. 9-14
86. Рудометов Ю.П., Уманский К.Г. и др. Энцефалиты, связанные с гриппозной инфекцией у взрослых // Журн. Невропат. и психол. - 1983. - №3. – С, 49 - 59.
87. Савицкий Г.И., Грищенко С.В., Крылов В.Ф. и др. Активность естественных киллеров у больных гриппом // Вопр. Вирус. – 1988. - №3. -С.29-32.
88. Савченко А.А., Мартынова Г.П., Котова Я.А. Особенности иммунного статуса и активность метаболических ферментов в лимфоцитах крови у детей в зависимости от степени тяжести острой кишечной инфекции.
89. Савченко А.А., Шакина Н.А., Россиев Д.А. Нейросетевая классификация лиц с хроническими заболеваниями легких по величине иммунологических параметров крови и активности метаболических ферментов лимфоцитов // Вопр. мед. химии. – 1998. - №3. – С.267-273.
90. Самсыгина Г.А., Зайцева О.В., Корнюшин М.А. Бронхиты у детей. Отхаркивающая и муколитическая терапия // Педиатрия (прил.), М., 2000-39 с.
91. Сафронова Н.Н., Геппе Н.А. Современные подходы к терапии бронхов у детей // Медицинская помощь. – 2000. - № 6. – С.1-2.
92. Селье Г. На уровне целого организма // М.: Наука. – 1972. – 122 с.
93. Селье Г. (Selye H.) Очерки об адаптационном синдроме // М.:Медгиз. – 1960. – 254 с.

94. Селье Г. Профилактика некрозов сердца химическими средствами // М.: Медгиз. – 1961. – 208 с.
95. Селье Г. Стресс без дистресса // М.: Прогресс. – 1979. – 124 с.
96. Сергеев Н.В., Лейпис Ф.А. Поражение сердечно-сосудистой системы при гриппе // МедГиз. – 1962. – Москва.
97. Середа Е.В. Современная терапия при бронхитах у детей // Детский доктор. – 1999. - №2. – С. 30-32.
98. Середа Е.В., Лукина О.Ф., Катосова Л.К., Платонова М.М. Роль аллергического компонента в механизме бронхолегочной обструкции при хронических бронхолегочных воспалительных заболеваниях у детей. В кн.: Сборник резюме 11 национального конгресса по болезням органов дыхания. М., 2001 - ЛП - 14 - с. 318.
99. Сеченов И.М. Избранные философские и психологические произведения. – Госполитиздат, 1947. – С. 362.
100. Симонов П.В. Мотивационный мозг. – М.: Наука. – 1987. – 237с.
101. Смиттен Н.А., Шаляпина В. Г. Периферическая нейроэндокринная хромаффинная система позвоночных // Нейроэндокринология. РАН. СПб.: 1993. – С.362-391.
102. Спицын В.А. Фундаментальные и прикладные аспекты экологической генетики человека // Предмет экологии человека (Сб. науч. тр. Ч. II). М. -1991. - С.76-121.
103. Спичак Т.В., Лукина О.Ф., Реутова В.С. Хронический облитерирующий бронхит у детей // Рос. вестник перинатологии и педиатрии. – 1997. - № 4. – С.32-8.
104. Суворова В.В. Психофизиология стресса // М.: Педагогика. – 1975. – 206с.
105. Судаков К.В. Биологические мотивации в системной организации функций мозга // Журнал невролог. и психиатрии им. С.С.Корсакова. – 1998. – Т. 98. – № 2 – С. 53–58.
106. Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу. М.: Горизонт. – 1998. – 263с.
107. Судаков К.В. Информационный феномен жизнедеятельности. – М., 2000.
108. Судаков К.В. Системная организация функций головного мозга: определяющая роль акцептора результатов действия // Журнал неврол. и психиатрии им. С.С.Корсакова. – 1998. – Т. 98. – № 4. – С. 13–19.
109. Судаков К.В. Системная организация функций человека: Теоретические аспекты // Успехи физиол. наук. – 2000. – Т. 31. – № 1. – С. 1–17.
110. Судаков К.В. Системные механизмы эмоционального стресса // М.: Медицина. – 1981. – 229с.
111. Судаков К.В. Системный процесс подкрепления // Журнал высш. нервн. деят. им. И.П.Павлова. – 1996. – Т. 46. – В. 4. – С. 643–655.
112. Судаков С.К. Возможная роль окситоцина и вазопрессина как факторов доминирования мотиваций // Ж. высш. нервн. деят. – 1987. – Т. 37. – Вып. I. – С. 160–164.
113. Судаков С.К. Нарушение пищевого поведения кроликов при внутрижелудочковом введении антигастриновых иммуноглобулинов // Журнал высш. нервн. деят. им. И.П.Павлова. – 1986. – Т. 36. – № 2. – С. 391.
114. Тарасова Л.А., Мухина Г.Н., Лагутина Г.Н., Мапохина В.В. Влияние нервно-напряженного труда на развитие невротических расстройств у операторов // Мед. труда и пром. экология. - 1995. - №1. - С. 11-13.
115. Таточенко В.К. Бронхиты. В кн.: Практическая пульмонология детского возраста, (под ред. В.К. Таточенко), М.: Мед, 2000:101-111.
116. Темуриянц Н.А., Владимирский Б.М., Тушкин О.Г. Сверхнизкочастотные электромагнитные сигналы в биологическом мире. Киев Наукова думка. - 1992. - 186 с.
117. Тигранян Р.А. Стресс и его значение для организма // М.: Наука. – 1988. – 174с.
118. Уоннер А. Морфология обструктивных процессов в воздухоносных путях. В кн.: Бронхиальная астма. Принципы диагностики и лечения. Под ред. М.Э. Гершвина. Пер. с англ. М.: Медицина, 1984, с. 105–116.
119. Ухтомский А.А. Доминанта как фактор поведения // Собр. соч., 1925. – Т. I. – С. 293.
120. Файф Д., Спейзер Ф.Е. Эпидемиология бронхиальной астмы. В кн.: Бронхиальная астма. Принципы диагностики и лечения. Под ред. М.Э. Гершвина. Пер. с англ. М.: Медицина, 1984, с. 15–25.
121. Федосеев Г.Б. Механизмы обструкции бронхов. - СПб., 1995: Медицинское информационное агентство. - 336 с.
122. Хайдарлиу С.Х. Функциональные механизмы адаптации // Кишинев: Штиинца. – 1989. – 178с.
123. Хайдарлиу С.Х. Функциональные механизмы адаптации // Кишинев: Штиинца. – 1984. – 256с.
124. Хэнсон Ф.В. Бронхиальная астма и беременность. В кн.: Бронхиальная астма. Принципы диагностики и лечения. Под ред. М.Э. Гершвина. Пер. с англ. М.: Медицина, 1984, с. 403–410

125. Чернова О.И., Святкина О.Б. Фармакологическое воздействие на поток ионов кальция в лимфоцитах периферической крови детей, больных атопической бронхиальной астмой. // Вестник перинатологии и неонатологии. - 1996. - № 2. - С. 41.
126. Чернух А.М. Предболезнь, начало болезни и выздоровление (общепатологические аспекты проблемы) // Тез. XVIII Всес. съезда тер. Ч. I. М. -1981. -С.118-121. Березин Ф.Б. Психическая и психофизиологическая адаптация человека. Л., «Наука», 1988.
127. Чернух А.М. Предболезнь, начало болезни и выздоровление (общепатологические аспекты проблемы) // Тез. XVIII Всес. съезда тер. Ч. I. М. -1981. -С.118-121.
128. Чернышева М. П. Аfferентные и эfferентные связи гипоталамических нейросекреторных центров // Нейроэндокринология. РАН. СПб.: 230-296. 1993.
129. Чучалин А.Г. Хронические обструктивные болезни легких. В кн. Хронические обструктивные болезни легких, под ред. А.Г. Чучалина, М., 1998 - ЗАО «Изд. БИНОМ» - С. 11-26.
130. Шаляпина В. Г. О роли адренергических структур мозга в неспецифическом ответе организма на раздражитель // Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова. - 1972. - № 3. – С. 357-362.
131. Шаляпина В. Г. Участие катехоламинов мозга в регуляции гипофиз-адреналовой системы // Гипофизарно-адреналовая система и мозг. Наука. Л.: 39—66. 1976.
132. Шаляпина В. Г. Функциональные качели в нейроэндокринной регуляции стресса // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова. – 1996. - № 4. – С. 9-14. 1996.
133. Шахов В.П. Роль гемопозиндуцирующего микроокружения в регуляции процессов пролиферации дифференцировки клеток-предшественников миелопоэза при стрессе: Автореф. докт. дис. Томск, 1990. - 27 с.
134. Шмелев Е.И. Хронический обструктивный бронхит. В кн. Хронические обструктивные болезни легких, под ред. А.Г. Чучалина, М., 1998 - ЗАО «Изд. БИНОМ» - С. 39-56.
135. Abdelaziz MM, Devalia JL, Khair OA, et al. The effect of nedocromil sodium on human airway epithelial cell-induced eosinophil chemotaxis and adherence to human endothelial cell *in vitro* // Eur Respir J. – 1997. – Vol. 10. – P. 851-857.
136. Abdelilah SG, Bouchaib L, Morita M, Delphine A, Marika S, Andre C and Monique C (1998) Molecular characterization of the low-affinity IgE receptor FcRII/CD23 expressed by human eosinophils. *Int Immunol* **10**: 395-404
137. Aebi, H. Catalase *in vivo* // Method. Enzymol. -1984. - Vol.105. - P. 121–126.
138. Aiyar J., Bercovits H.J., Floyd R.A. et al. Reaction of chromium with glutathione or with hydrogen peroxide: identification of reactive intermediates and their role in chromium-induced DNA-damage // Env. Health Perspect. – 1991. - Vol.92. – P. 53-62.
139. Akoun J, Amaub F, Blanchan F, et al. Effects of fenspiride on airway function and blood gases in stable COPD patients // Eur Respir Rev. - 1991. – Vol. 2. – P.111-25.
140. Alam A, Braun MY, Hartgers F et al. Specific activation of the cysteine protease CPP32 during the negative selection of T cells in the thymus // J. Exp. Med. - 1997. – Vol. 186. – P.1503.
141. Ambrosi I, Lomonte C., Soleo L. et al. Nephropathy induced by heavy metals. Proceedings of the 4th Bari Seminar in Nephrology, Bari/ Italy, - 1990. – P. 85-100
142. Anderson S.E., Cala P.M., Steenbergen C., London R.E, Murphy E. Effects of hypoxia and acidification on myocardial Na and Ca: role of Na-H and Na-Ca exchange // Ann. NY Acad. Sci. – 1991. – Vol.639. – P. 453-455.
143. Andreev A.J. Cytochrome C release from brain mitochondria is independent of the mitochondrial permeability transition // FEBS Letters. – 1998. – Vol. 439. – P. 373-376.
144. Antonovsky A. Unraveling the Mystery of health: How people manage stress and stay well. San Francisco, Jossly Bass, 1987.
145. Argese E., A. Marcomini, P. Miana, C. Bettiol and G. Perin. 1994. Submitochondrial particle response to linear alkylbenzene sulfonates, nonylphenol polyethoxylates and their biodegradative derivatives. Environ. Toxicol. and Chem. **13**:737-742.
146. Asteria M. The physiology of stress: With special reference to the neuroendocrine system. United States, Human Sciences, 1984
147. Baez S., Segura-Aguilar J., Widerstain M. et al., Antioxidant role of glutathione transferase. Biochem.J., 1997. **324**: 25-28.

148. Balasubramanyam M., Robowsky-Kochan C., Reeves J. P., Gardne J.P.R. $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange-mediated calcium entry in human lymphocytes // *J. Clin. Invest.* – 1994. – Vol.94. – P. 2002-2008,
149. Baldwin D, Rudge S. The role of serotonin in depression and anxiety // Earing Mental Health Unit, Southhall, Middsex, UK. *Int Clin Psychopharmacol.* – 1995. – Vol. 9(4). – P. 41-45.
150. Bamberger C.M., Schulte H.M., Chrousos G.P. Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids // *Endocr Rev* 1996;17:221—44.
151. Barnes P.J. Neurogenic inflammation and asthma // *J.Asthma.*-1992. -Vol. 29(3)-P. 165-180.
152. Baosly R., Burgess C., Crane J. et al. Pathology of asthma and its clinical implications. *J Allergy Clin. Immunol.* – 1993. – Vol. 92. – P. 148-164.
153. Battistella P.A., Bordin A., Cemetti R. Et al. Beta-endorphin in plasma and monocytes in juvenile headache // *Headache.* - 1996. V.36, N2. P.91-94
154. Beasley R., Crane J., Lai C.K.W., Pearce N. Prevalence and ethiology of asthma // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2000. – Vol.105. – S466-S472.
155. Belova T.I., Kvetnansky R. // *Stress. The role of catecholamines and other neurotransmitters / Eds usdin E., Kbetnansky R., Axelrod J.N.Y.: Gordon and Breach Sci. Publ., 1984. – P.147-160.*
156. Belvisi M.G., Ward J.K., Mitchell J.A., Barnes P.J. Nitric oxide as a neurotransmitter in human airways // *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* – 1995. – Vol. 329. – P. 97 – 110.
157. Bessho M, Tajima T., Hori S. et al. NAD and NADH Values in rapidly sampled dog heart tissues by two different extraction methods // *Anal. Biochem.* - 1989. – Vol. 182(2). - P.304-308.
158. Blalock J.E. The immune system as a sensory organ // *J. Immunol.* - 1984. - Vol. 132(3)-P. 1067-1070
159. Blondin G.A., Knobloch L.M., Read H.W. and Harkin J.M.. An In-vitro submitochondrial bioassay for predicting acute toxicity in fish // *Aquatic Toxicol. Environ. Fate.* - 1989. – Vol.11. – P.551-563.
160. Blondin G.A., Knobloch L.M., Read H.W. and Harkin J.M.. Mammalian mitochondria as *in vitro* monitors of water quality // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* - 1987. – Vol.38. – P.467-474.
161. Buttke T.M., Sandstrom P.A. Oxidative stress as a mediator of apoptosis. *Immunol. Today.* – 1994. 15. – P.7-10.
162. Callsen D., Brune B. Role of mitogen-activated protein kinases in S-nitrosoglutathione-induced macrophage apoptosis // *Biochemistry.* - 1999. – Vol. 38. – P.2279- 2286.
163. Cannon W. B. The emergency function of the adrenal medulla in pain and the major emotions // *Amer. J. Physiol.* – 1914. – Vol.33. – P. 356—372. 1914.
164. Cannon W.B. *The wisdom of the body.* N.Y. 1932.
165. Carstairs JR., Barnes P.J. Visualisation of vasoactive interstitial peptide receptors in human and quinea-pig lung // *J. Pharmacol. Exp Ter.* - 1986. - 239. - P. 249-255
166. Casolaro V., Gooras S.N., Song Z., Ono S.J.. Biology and genetics of atrophic disease // *Current Opinion in Immunology.* – 1996.-Vol. 8. – P. 796-803
167. Chance B. Techniques for the assay of the respiratory enzymes // *Methods enzymol.* – 1957. – Vol. 4. – P.273-278.
168. Chen I.Y.D., Hoch F.L. Thyroid hormone control over biomembranes: Rat liver mitochondrial inner membrane // *Arch. Biochem. Biophys.* - 1977. Vol.181. – P. 470-483.
169. Chrousos G. P., Gold P.W. The concepts of stress system disorders: overview of behavioral and physical homeostasis // *JAMA.* - 1992. – Vol.267. – P.1244-1252.
170. Chrousos G.P. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation // *N Engl J Med.* – 1995. – Vol.332. – P.1351—1362.
171. Chrousos G.P. Ultradian, circadian, and stress-related hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity — a dynamic digital-to-analog modulation // *Endocrinology.* - 1998. – Vol.139. – P.437—440.
172. Chrousos G.P., Torpy D.J., Gold P.W. Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications // *Ann Intern Med.* - 1998. – Vol.129. – P.229-240.
173. Clark R.A., Leidal K.G.P., Pearson D.W., Nauseef W.M. NADPH oxidase of human neutrophils // *J. Biol. Chem.* – 1987. – Vol.262. – P.4065-4074.
174. Clutton S. The importance of oxidative stress in apoptosis // *British Medical Bulletin.* – 1997. - Vol. 53(3). – P. 662-668.
175. Coban T., Beduke Y., Iscan M. In vitro effect of cadmium and nickel on glutation, lipid peroxidation and glutation-S-transferase in human kidneys in vitro // *Toxicol.* - 1996. – Vol.10. – P. 241-245.

176. Cohen J.J. Apoptosis: mechanisms of life and death in the immune system. *J Allergy Clin Immunol.* - 1999. - Vol. 103. - P.548-554.
177. Cohen S. et al. Psychological stress and susceptibility to the common cold // *N. Engl. J. Med.* - 1991. - Vol. 325. - P.606.
178. Colton M., Gore S. Adolescent stress: Causes and consequences. New York. Walter de Gruyter. Inc. 1991.
179. Combs, G.F.Jr., 1992. Vitamin C. In *Vitamins*. NY: Academic Press. pp. 223-249.
180. Cooper C., Marshall J. White collar and professional stress. New York, John Wiley and Sons. 1980.
181. Cross JV, Deak JC, Rich EA et al. Quinone reductase inhibitors block SAPK/JNK and NFkappaB pathways and potentiate apoptosis // *J. Biol. Chem.* -1999. - Vol. 274. -P.311-350
182. Dale W.E., Sihowitz L.. The role of Na⁺-Ca²⁺ exchange in human neutrophil function // *Ann. NY Acad. Sci.* - 1991. - Vol.639. - P. 616-630/
183. Dantzer R. // *Eur. Cytokine Network.* - 1994. - Vol 5, N 3. - P. 95-99.
184. Daser A., Meissner N., Herz U. Role and Modulation of T-cell cytokines in allergy. *Current opinion in immunology* 1995;7; 762-70.
185. Dawson T.L., Gores G.J., Nieminen A.L., Herman B., LeMasters J.J.. Mitochondria as a source of reactive oxygen species during reductive stress in rat hepatocytes // *Am. J. Physiol.* - 1993. - Vol. 264. -P. C961-C967.
186. De Bellis M.D., Putnam F.W. The Psychobiology of Childhood Maltreatment. In *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America.* - 1994. -Vol.3. -P.663-677.
187. De Sanctis G.T., Itoh A., Green F.H., et al. T-lymphocytes regulate genetically determined airway hyperresponsiveness in mice // *Nature Med.* - 1997. - Vol. 3(4). -P. 460-2.
188. Desreumaux P., Carpon M.. Eosinophils in allergic reactions // *Current Opinion in Immunology.* - 1996. - Vol. 8. -P. 790-795.
189. Distelhorst CW. Glucocorticoid-induced apoptosis // *Adv Pharmacol.* - 1997. - Vol. 41. -P.247 - 270.
190. Domachowske J.B., Rosenberg H.F. Respiratory syncytial virus infection: immune response, immunopathogenesis, and treatment // *Clin Microbiol Rev.* - 1999. - Vol. 12. -P. 298-309.
191. Donnadieu E., Trautmann A.. Is there a Na⁺/Ca²⁺ exchanger in macrophages and in lymphocytes // *Pflügers Arch.* - 1993. - Vol.424. - P. 448-455.
192. Dorian B. et al. Immune mechanisms in acute psychological // *Psychosomatic Med.* - 1981. - Vol. 43. -P.48.
193. Dutton P.W., Swain S.L., Bradley L.M. The generation and maintenance of memory T and B cells // *TRENDS Immun. Today.* - 1999. - Vol.20. -P.291-294.
194. Elenkov I.J., Papanicolaou D.A., Wilder R.L., Chrousos G.P. Modulatory effects of glucocorticoids and catecholamines on human interleukin-12 and interleukin-10 production: clinical implications // *Proceedings of the Association of American Physicians.* - 1996. - Vol.108. -P.374—381.
195. Enkvetchakul, B. Antioxidants, lipid peroxides, and pathophysiology of male broiler chickens with ascites (Ph.D. Thesis, University of Arkansas, Fayetteville AR). 1994.
196. Esplugues J. V. NO as a signalling molecule in the nervous system // *British J. Pharmacol.* - 2002. - Vol.135. - P.1079-1095.
197. Estus S, Zaks WJ, Freeman RS, Gruda M, Bravo R, Johnson Em Jr. Altered gene expression in neurons during programmed cell death: identification of c-jun as necessary for neuronal apoptosis // *J Cell Biol.* - 1994. - Vol.127. -P. 717-727.
198. Evidence from epidemiological studies of children in Australia and New Zealand in the last decade // *Clin Exp Allergy.* - 1998. -Vol. 28. -P.261-265.
199. Evrard K.J., Bodinier M.C., Chapelain B. Fenspiride et inflammation en pharmacologie experimentale // *Eur Respir Rev.* - 1991. -Vol.12. -P.33-40.
200. Falaschi P., Martocchia A., Proietti A., Pastore R. et al. // *Neuroimmunomodulation*. The state of the art. - New York: New York Academy of Sciences, 1994. - P. 223-233.
201. Fishman S., Hobbs K., Borish L.. Molecular Biology of cytokines in allergic diseases and asthma // *Immunol and Allergy Clin North America* 1996. - Vol. 16(3). -P. 613-42.
202. Fowler B.A. Mechanisms of kidney cell injury from metals // *Envir. Health Persp.* - 1992. - Vol. 100. -P. 56-63.
203. Funkenstein S. Mastery of stress. Harvard University Press. 1957.
204. Galaktionova LP, Molchanov AV, Yelchaninova SA, Varshavski VYa. Lipid peroxidation in patients with gastroduodenal ulcer // *Clin Lab Diagnostic.* - 1998. - Vol. 6. -P.10-13.

205. Gardner A.M., Xu F.H., Fady C., et al. Apoptotic vs non-apoptotic cytotoxicity induced by hydrogen peroxide // *Free Radical Biol. Med.* – 1997. – Vol. 22. – P.73-83.
206. Garthwaite J., Boulton C.L. Nitric oxide signalling in the central nervous system // *Ann. Rev. Physiol.* – 1995. – Vol.57. – P. 683-706.
207. Gelfand E.W., Ch.G. Irvin. T-lymphocytes: Setting the tone of the airways // *Nature Med.* -1997. – Vol.3(4). – P. 382-3.
208. Gherman E.M. *Stress and the Bottom Line.* United States. 1981, Amacom.
209. Giembycz M.A., Lindsay M.A. Pharmacology of eosinophil // *Pharmacol. Rev.* – 1999. – Vol.51. – P.213-340.
210. Goetzl E.J., Chernov T., Renold F.G. Neuropeptides regulation of expression of immediate hypersensitivity // *J.Immunol.*-1985.-Vol. 135.- P.802-805.
211. Gold P.W., Goodwin F.K., Chrousos G.P. Clinical and biochemical manifestations of depression. Relation to the neurobiology of stress // *N Engl J Med.* - 1988. – Vol. 319. – P.413—420.
212. Goldmeier D., Johnson A. Does psychiatric illness affect the occurrence rate of genital herpes? // *Br. J. Venereal Disease.* – 1982. – Vol. 54. – P.40.
213. Grinler J.R. Interplay of VIP and nitric oxide in regulation of the descending relaxation phase of peristalsis // *Amer. J. Physiol.* – 1993. - Vol.264. – P.G334-G340.
214. Griskell J., Salas E. *Stress and human performance.* New Jersey, 1996. Lawrence Erlbaum Associates, Inc.
215. Guyton A.C. Blood pressure control — specific role of the kidney and body fluids // *Science.* - 1991. – Vol.252. – P. 1813-1816.
216. Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview // *Methods Enzymol.* - 1990. – Vol.186. – P. 185.
217. Halvorsen R., Vassend O. Effect of examination stress on some cellular immunity functions // *J. Psychosomat. Res.* - 1987. – Vol. 31. – P.693.
218. Hassan H.M., Schrum L.V. Roles of manganese and iron in the regulation of the biosynthesis of manganese superoxide dismutase in *E.coli* // *FEMS Microbiol. Rev.* – 1994. – P. 315-324.
219. Healy D. *The antidepressant era.* MA, 1997. Harvard University Press.
220. Heide D. Moderne Dosier-aerosole in der Behandlung obstruktiver Atemtrakterkrankungen. 3. Inhalierbare Kortikoide. *Zarzl. Fortbild.* – 1984. – Vol.78. – P. 49–51
221. Hessel E.M., Cruikshank W.W., Van Ark I., et al. Involvement of IL-16 in the induction of airway hyper-responsiveness and up-regulation of IgE in a murine model of allergic asthma // *J Immunol.* - 1998. – Vol.160. – P. 2998-3005
222. Heyck H. Pathogenesis of migraine // *Res Clin Stud Headache.* – 1969. – Vol. 2. – P.1-28.
223. Hibbs J.D., Westenfelder C., Taintor R. et al. Evidence for cytokine-inducible nitric oxide synthesis from L-arginine in patients receiving interleukin-2 therapy // *J. Clin. Invest.* – 1992. - Vol.89. – P.867-877.
224. Hirata K., Maghni K., Borgeat P., Sirois P. Guinea pig alveolar eosinophils and macrophages produce leukotriene B₄ but not peptido-leukotrienes // *J Immunol.* – 1990. – Vol.144. – P. 1880-1885
225. Hofmann T.G., Hehner S.P., Bacher S., Droge W., Schmitz M.L. Various glucocorticoids differ in their ability to induce gene expression, apoptosis and to repress NF-kappaB-dependent transcription // *FEBS Letters.* – 1998. – Vol. 441. – P.441-446.
226. Holgate S.. The inflammatory basis of asthma and its implications for drug treatment // *Clinical Exp Allergy.* – 1996. – Vol. 26 (Suppl 4). – P. 1-4.
227. Hollander D. Intestinal absorption of vitamin A, E, D and K // *J. Lab. Clin. Med.* -1981. – Vol.97. – P.449-461.
228. Horton A.A., Fairhurst S.. Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. In *CRC Critical Reviews in Toxicology.* – 1987. - P. 2779.
229. Hussell T.; Openshaw P. Recent developments in the biology of respiratory syncytial virus: are vaccines and new treatments just round the corner? // *Curr Opin Microbiol.* – 1999. – Vol. 4. – P. 410-414.
230. Ide T, Tsutsui H, Kinugawa S, et al. Direct evidence for increased hydroxyl radicals originating from superoxide in the failing myocardium // *Circ Res.* – 2000. – Vol. 86. – P. 152–157.
231. Ingle D. S. Permissibility of hormone action, a review // *Acta endocrinol.*- 1954. – Vol.17. – P.171 — 180.
232. ISSAC. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, atopic eczema // *Lancet* – 1998. – Vol. 351. – P.1225 - 1232.
233. Ivancevich J., Matteson M. *Managing job stress and health.* New York., The Frees Press. 1982.

234. Johansen T., Knudsen T., Bertelsen H. Reversal by EGTA of the enhanced secretory responsiveness of mast cells due to treatment with ouabain // *FEBS Lett.* 1990. – Vol. 262. – P. 228-230.
235. Johnson T.M., Yu Z.X., Ferrans V.J. et al. Reactive oxygen species are downstream mediators of p53-dependent apoptosis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* – 1996. – Vol.93. – P.11848-11852.
236. Joost van Neerven R.J. et al. T-cell responses to allergens: epitope-specificity and clinical relevance // *Immunology Today.* – 1996. – Vol. 17(11). – P. 526-32.
237. Kagoshima M., Tomomatsu N., Iwahisa Y., et al. Suppressive effect of Y-24180, a receptor antagonist to platelet activating factor (PAF), on antigen-induced asthmatic responses in guinea-pigs // *Inflamm Res.* – 1997. – Vol. 46. – P. 147-153.
238. Kaiser J., Bickel C.A., Bochner B.S., Schleimer R.P. The effects of the potent glucocorticoid budesonide on adhesion of eosinophils to human vascular endothelial cells and on endothelial expression of adhesion molecules // *J Pharmacol Exp Ther.* - 1993. – Vol.267. – P. 245-249.
239. Kajita T, Yui Y, Mita H, Taniguchi N, Saito H, Mishima T and Shida T Release of leukotriene C₄ from human eosinophils and its relation to the cell density // *Int Arch Allergy Appl Immunol.* – 1985. – Vol. 78. – P. 406-410.
240. Kakazu T., Chihara J., Saito A., Nakajima S. Effect of RANTES on eosinophil adhesion to plates coated with recombinant soluble intercellular adhesion molecule-1 and expression of β_2 -integrin adhesion molecules on eosinophils // *Int Arch Allergy Immunol.* - 1995. – Vol. 108 (Suppl 1). – P. 9-11.
241. Kiecolt-Glaser J. Marital discord and immunity in males // *Psychosomat. Med.* – 1988. – Vol. 50. – P.213.
242. Kiecolt-Glaser J. Psychosocial modifiers of immunocompetence in medical // *Psychosomat. Med.* – 1984. – Vol. 46. – P.7.
243. Knobeloch L.M., Blondin G.A., Lyford S.B., Harkin J.M. A rapid bioassay for chemicals that induce pro-oxidant states // *J. Appl. Toxicol.* - 1990. – Vol. 10. – P. 1-5.
244. Kotamraju S, Chitambar CR, Kalivendi SV, et al. Transferrin receptor-dependent iron uptake is responsible for doxorubicin-mediated apoptosis in endothelial cells: role of oxidant-induced iron signaling in apoptosis // *J Biol Chem.* – 2002. – Vol. 277. – P. 17179–17187.
245. Kraut R. P., Bose D., Cragoe E.J., Greenberg A.H. The influence of calcium, sodium, and the Na⁺/Ca²⁺ antiport on susceptibility to cytolysin/perforin-mediated cytolysis // *J. Immunol.* - 1990. – Vol.144. – P. 3498-3505.
246. Kreuz L. suppression of plasma testosterone levels and psychology stress // *Arch. Gen. Psychiatry.* - 1972. – Vol.26. – P.479.
247. Krucoff Pump up your spirit. *Raleigh News and Observer.* March, 12, 1999.
248. Kummer JL, Rao PK, Heidenreich KA. Apoptosis induced by withdrawal of trophic factors is mediated by p38 mitogen-activated protein kinase // *J Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272. – P.204-205.
249. Leonard B.E. Changes in the biogenic amine neurotransmitters in parric disorder. 2nd ISIS Conference, Athens (1989). *Stress medicine.* - 1990. - Vol. 6 (4). – P. 267-274.
250. Leone M., Sacerdote P., Amico D., Panerai A.E., Bussone G. - Beta-endorphin concentrations in the peripheral blood mononuclear cells of migraine and tension-type headache patients. // *Cephalalgia.* - 1992.-Vol.12(3).-P.154-157.
251. Lepoivre M., Fieschi F., Coves J. et al. Inactivation of ribonucleotide reductase by nitric oxide // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1991. - Vol.179. – P. 442-448.
252. Lockitch G. Perspectives on lead toxicity // *Clin. Biochem.* – 1993. - Vol.26. - P. 371-381.
253. Lopaczynski W. Differential regulation of signaling pathways for insulin and insulin-like growth factor I. // *Acta Biochim Pol.* – 1999. – Vol. 46. – P.51-60.
254. Lovallo W. *Stress and Health: Biological and Psychological interactions.* California. 1997. Stage Publications.
255. Lowenstein C.J., Dinerman J.L., Snyder S.H. Nitric oxide: a physiologic messengers // *Ann. intern. Med.* - 1994. - Vol.120. – P. 227-237.
256. Maddaiah, V.T. Glutathione correlates with lipid peroxidation in liver mitochondria of triiodothyronine injected hypophysectomized rats // *FASEB J.* 1990. – Vol.4. – P. 1513-1518.
257. Madden K., Felten D. Experimental basis for neural-immune interactions // *Physiol. Rev.* - 1995. - Vol.75.- P.77-105.
258. Markel A.L., Amstyslavski S.Y., Naumenko E.V. // *Biogenic Amines.* – 1987. – Vol.4. – P.329-338.
259. Marsh D.G., J.D. Neely, D.R. Broezeale et al. Linkage analysis of IL-4 and other chromosome 5q31. 1 markers and total serum IgE concentrations // *Science.* - 1994. – Vol. 264. – P.1152-1156.

260. Martin RJ Salmeterol decreases nocturnal symptoms and β -agonist use in nocturnal asthma without altering airway inflammation . In *Acute and Chronic Inflammation in the Respiratory Tract* (Johnson M ed). Colwood House, London. - 1995. - P. 68.
261. Mason J. B. Organization of psychoendocrine mechanism: a review and reconsideration of research // *Handbook of psychophysiology*. N-Y.: 44-88. 1972.
262. Massey L.J. Stress, Illness and Extroversion. Stress Study Final Paper. 1998.
263. Mastorakos G., Bouzas E.A., Silver P.B., et al. Immune corticotropin-releasing hormone is present in the eyes of and promotes experimental autoimmune uveoretinitis in rodents // *Endocrinology*. – 1995. – Vol.136. – P.4650—4658.
264. Maxwell, M.H. Ascites in broilers. *Broiler Industry*. 1991. April: 6064.
265. Maxwell, M.H., G.W. Robertson, and S. Spence. Studies on an ascitic syndrome in young broilers. 1. Haematology and pathology // *Avian Pathol.*- 1986. – Vol.15. – P. 511-524.
266. McEwen B. S. Steroid hormones and multifunctional messenger to the brain // *J. Endocrinol. Metab.* - 1991. – Vol.2. – P. 62—67.
267. McEwen B. S. Had a little stress today it might have boosted your immune system. 1999.
268. Meagher L.C, Cousin J.M., Seckl J.R., Haslett C. Opposing effects of glucocorticoids on the rate of apoptosis in neutrophilic and eosinophilic granulocytes // *J Immunol.* –1996. – Vol. 156. – P.4422-4428.
269. Meerlo N. Acute hypokinesia and monoamines in brain of rats // *Inter. J.Biol. Stress.* - 1996. - Vol.1. - P.21-32.
270. Mehta H., Busse W.W. Eosinophil as a therapeutic target in allergic disease // *Compr Ther.* - 1994. – Vol. 20. – P.651-657.
271. Meister A., Anderson M.E. Glutathione // *Ann. Rev. Biochem.* 1983. -Vol.52. – P. 711-760.
272. Miyashita T, Nagao K, Krajewski S et al. Investigation of glucocorticoid-induced apoptotic pathway: processing of caspase-6 but not caspase-3. *Cell Death Differ.* - 1998. – Vol.5. – P.1034-1041.
273. Monmay T., Marshalls Hunch. *The New Yorker*. September 20, 1993.
274. Munck A., Guyre P.G., Holbrook N.S. Physiological function of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological action // *Endocrinol. Rev.* -1984. - Vol.5. P.25-40.
275. Netterstrom Bo, Hansen A.M. Outsourcing and stress: Physiological effects on bus drivers // *Stress Medicine.* – 2000. - Vol.16. – P. 149-160/
276. Olivier S. Новые направления в лечении хронических бронхопатий. В кн.: *Актуальные проблемы пульмонологии* (под ред. А.Г. Чучалина). М., 2000 - с.362-74.
277. Oxford J.S. et al Targeting influenza virus neuraminidase a new strategy for antiviral therapy // *Drug Discovery Today.* - 1998. – Vol. 3. – P. 44856
278. Ozaki I, Tani E, Ikemoto H, Kitagawa H, Fujikawa H. Activation of stress-activated protein kinase/c-Jun NH2-terminal kinase and p38 kinase in calphostin C-induced apoptosis requires caspase-3-like proteases but is dispensable for cell death // *J Biol Chem.* – 1999. – Vol. 274. – P.5310
279. Paulmyer-Lacroix O., Hary M., Pugeat M., Grino M. The modulatory role of estrogens on corticotropin-releasing factor gene expression in the hypothalamic paraventricular nucleus of ovariectomized rats: role of the adrenal gland // *J Neuroendocrinol.* - 1996. – Vol.8. – P.515—519.
280. Pavia D., Bateman JRM, Clarke SW. Deposition and clearance of inhaled particles. // *Clin Respir Physiol.* -1980. - 16.-P. 335-336
281. Pearce N., Pekkanen J., Beasley R. How much asthma is really attributable to atopy // *Thorax.* – 1999. – Vol.55. – P.268-272.
282. Peat J.K. Can asthma be prevented? Rothenberg ME. Eosinophilia. *N Engl J Med.* - 1998. – 338. – P.1592-1600.
283. Peiffer A., Lapointe B., Barden N. Hormonal regulation of type II glucocorticoid receptor messenger ribonucleic acid in rat brain // *Endocrinology.* - 1991. – Vol.129. – P.2166—74.
284. Petering D.H., Fowler B.A. Metabolism of cadmium, zinc and copper in the rat kidney: the role of metallothionein and other binding sites. *Env. Health. Perspect.* – 1986. – Vol.65. – P.217-224.
285. Pierpaoli W., Kopp H., Muller J. et al. Interdependence between neuroendocrine programming and the generation of immune recognition in ontogeny // *Cell. Immunol.* - 1977. - Vol. 29, N 1. -P.16-27
286. Plotnikoff N. Stress and immunity. Florida, 1991, CRC Press.
287. Postma D.S. et al. Genetic susceptibility to asthma — bronchial hyperreactiveness coinherited with major gene for atopy // *N. Engl. J. Med.* –1995. – Vol. 333. – P. 894-900.

288. Rabin D.S., Johnson E.O., Brandon D.D., Liapi C., Chrousos G.P. Glucocorticoids inhibit estradiol-mediated uterine growth: possible role of the uterine estradiol receptor // *Biol. Reprod.* – 1990. – Vol. 42. – P.74–80.
289. Rabinovich N.L., Macotchenko V.M., Kozinets I.M., Amtina M.G. Technique for separate measurements of total, platelet and free serotonin in blood plasma // *Lab Delo.* – 1985. – Vol. 12. – P.24-26.
290. Rand T.H., Turk J., Maas R.L., Colley D.G. Arachidonic acid metabolism of the murine eosinophil. II. Involvement of the lipoxygenase pathway in the response to the lymphokine eosinophil stimulation promoter // *J Immunol.* – 1982. – Vol.129. – P. 1239-1244.
291. Sampson A.P., Sandford A., Veir T., Pare P. The genetics of asthma // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1996. – Vol.153. – P.1749-1765.
292. Sanders, V.M., The role of norepinephrine and beta-2-adrenergic receptor stimulation in the modulation of Th1, Th2, and B lymphocyte function // *Adv. Exp. Med. Biol.* - 1998. – Vol.437. – P. 269–278.
293. Sarkar S., Bhatnagar D., Poonam Y. Cadmium-induced lipid peroxidation in rat livers slice: a possible involvement of hydroxyl radicals. *Toxicol.in vitro.* -1994. - Vol. 8 (6). - P. 1239-1242.
294. Saxena PR, Ferrari MD. From serotonin receptors classifications to the antimigraine drug sumatriptan // *Cephalgia.* – 1992. – Vol. 12. – P.187-196.
295. Scheele C.W., Decuyper E., Vereijken F.J., Schreurs G. Ascites in broilers. 2. Disturbances in the hormonal regulation of metabolic rate and fat metabolism // *Poultry Sci.* - 1992. – 71. – P. 1971-1984.
296. Schmidt M, Pauels H.G., Lugerling N., et al. Glucocorticoids induce apoptosis in human monocytes: potential role of IL-1 beta // *J. Immunol.* – 1999. – Vol. 163. – P.3484 - 3490.
297. Seiffge –Krenke I. Stress, coping and relationships in adolescence. New Jersey. - 1995. - Lawrence Erlbaum Associates, Inc.
298. Selye H. The general adaptation syndrome and the disorders of adaptation // *J. Clin. Endocrinol.* - 1974. – Vol.6. - P.117—152.
299. Shibuya T, Sato K. Effects of vinpocetine on experimental brain ischemia, histological study of brain monoamines // *Igaki No Ayumi.* – 1986. – Vol.139(3). – P.217-219.
300. Siegal B. Love, medicine and miracles. New York. – 1986. - Harper perennial.
301. Simchowitz L., Foy M.A., Cragoe E.J. A role for $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange in the generation of superoxide radicals by human neutrophils // *J. Biol. Chem.* - 1990. – Vol. 265. – P. 13449-13459.
302. Sly RM. Changing prevalence of allergic rhinitis and asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 82:233-48.
303. Snashall P.D., Boothe F.A., Sterling G.M. The effect of alpha-adrenoreceptor stimulation on the airways of normal and asthmatic man. *Clin. Sci. Mol. Med.* 1978; 54: 283–289
304. Soldati L., Persechini P.M. Depolarization of macrophage polykaryons in the absence of external sodium induces a cyclic stimulation of a calcium-activated potassium conductance // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1988. – Vol.972. – P. 283-292.
305. Spector, N.H., Neuroimmunomodulation: a brief review. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* - 1996. – Vol. 24. – P. S32–S38.
306. Spies H.G., Pay K.Y., Yang S.P. Coital and estrogen signals: a contrast in the preovulatory neuroendocrine networks of rabbits and rhesus monkeys // *Biol Reprod.* - 1997. – Vol.56. – P.310-319.
307. Stevens-Felten S.Y., Bellinger D.L. Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid organs // *Chem. Immunol.* - 1997. – Vol.69. – P. 99–131.
308. Sudakov K.V., Anokhina I.P., Belova T.I., et al. // *Catecholamines and Stress. Recent Advances / Efs. Usdin E., Kvetnansky R., Kopin I.J.* NY: Elsevier North Holland. - 1980. P.75-84.
309. Suematsu N., Tsutsui H., Wen J., et al. Oxidative Stress Mediates Tumor Necrosis Factor- α -Induced Mitochondrial DNA Damage and Dysfunction in Cardiac Myocytes // *Circulation.* - 2003. – Vol.107. – P.1418.
310. Swanson L.W. Biochemical switching in hypothalamic circuits mediating responses to stress // *Progr. Brain Res.* – 1991. – Vol.87. – P. 181 — 193.
311. Tappel, A.L. Vitamin E as the biological lipid antioxidant // *Vitam. Horm.* - 1962. – Vol.20. – P. 493-509.
312. Thomas, C.E. and D.J. Reed, Current status of calcium in hepatocellular injury // *Hepatology.* 1989. – Vol. 10. – P. 3753-3784.
313. Ueda T. $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange activity in rabbit lymphocyte plasma membranes // *Biochim. Biophys. Acta.* - 1983. – Vol.51. – P. 342-346.

314. Verbitsky E., Kolpakova N., Topchiy I., Lysenko A. // Basic and clinical aspects of the theory of functional systems. Eds. Lazetic A. and Sudakov S. Novi. Sad. - 1998. - P.133-139.
315. Vidyadaran, M.K., A.S. King, and H. Kassim, 1990. Quantitative comparisons of lung structure of adult domestic fowl and red jungle fowl, with reference to broiler ascites. *Avian Pathol.* 19: 5158.
316. Wallen N, Kita H, Weiler D, Gleich GJ. Glucocorticoids inhibit cytokine-mediated eosinophil survival. *J Immunol* 1991; 147:3490-5.
317. Walsh GM, Dewson G, Wardlaw AJ, Levi-Schaffer F, Moqbel R. A comparative study of different methods for the assessment of apoptosis and necrosis in human eosinophils. *J Immunol Methods.* – 1998. – Vol. 217. – P.153-63.
318. Wang W, Wykrzykowska J, Johnson T, Sen R, Sen J. A NF-kappa B/c-myc-dependent survival pathway is targeted by corticosteroids in immature thymocytes. *J Immunol.* - 1999. – Vol. 162. – P.314-322.
319. Ward C, Chilvers ER, Lawson MF et al. NF-kappaB activation is a critical regulator of human granulocyte apoptosis in vitro // *J Biol Chem.* – 1999. – Vol.274. – P.4309-18.
320. Watson RW, O'Neill A, Brannigen AE et al. Regulation of Fas antibody induced neutrophil apoptosis is both caspase and mitochondrial dependent. *FEBS Letters* 1999; 453:67-71.
321. Waxman S.G., Davis P.K., Black J.A., Ransom B.R. Anoxic injury of mammalian central white matter: decreased susceptibility in myelin-deficient optic nerve // *Ann. Neurol.* - 1990. – Vol.28. – P. 335-340.
322. Waxman S.G., Ransom B.R., Stys P. K. Non-synaptic mechanisms of Ca²⁺-mediated injury in CNS white matter // *Trends Neurosci.* - 1991. – Vol.14. – P. 461-468.
323. Webster R.Y., Bean W.J., Yorman O. et al. Evolution and Ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Reviews*, 1992: 152-179.
324. Weinberger B., Heck D.E., Laskin D.L., Laskin J.D. Nitric oxide in the lung: therapeutic and cellular mechanisms of action // *Pharmacol. Ther.* -1999. -Vol.84. - P. 401-411.
325. Wilder R.L. Neuroendocrine-immune system interactions and autoimmunity // *Annu. Rev. Immunol.* - 1995. – Vol.13. – P. 307–338.
326. Yurt R. W., Lorry S. F. Role of the macrophage and endogenous mediators in multiple organ failure // *Multiple organ failure* / Ed. E. A. Deitch. -N. Y.: Thieme Med. Publ., 1990. - P.60-66.
327. Zerez CR, Lee SJ, Tanaka KR: Spectrophotometric determination of oxidized and reduced pyridine nucleotides in erythrocytes using a single extraction procedure // *Anal. Biochem.* - 1987. - Vol.164. - P.367-73
328. Zhang Y., Marcillat O., Giulivi C. The oxidative inactivation of mitochondrial electron transport chain components and ATPase // *J. Biol. Chemistry*, 1990. – Vol. 265(27). – P.16330-16336.