№ 22 (141) 2012
Выпуск 20/3

НАУЧНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

НАУЧНЫЕ ВЕДОМОСТИ
Белгородского государственного университета
Медицина Фармация

Основан в 1995 г.

Журнал входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук

НАУЧНЫЕ ВЕДОМОСТИ
Белгородского государственного университета
Медицина Фармация

Учредитель:
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)

Издатель:
НИУ «БелГУ».
Издательский дом «Белгород»

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охраны культурного наследия

Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № ФС 77-21121 от 19 мая 2005 г.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА

Главный редактор

О.Н. Полухин,
и.о. ректора НИУ «БелГУ», доктор политических наук, профессор

Зам. главного редактора

И.С. Константинов,
и.о. проректора по научной и инновационной деятельности НИУ «БелГУ», доктор технических наук, профессор

Ответственные секретари:

В.М. Московкин,
профессор кафедры мировой экономики НИУ «БелГУ», доктор географических наук

О.В. Шевченко,
зам. начальника УНИД НИУ «БелГУ», кандидат исторических наук

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ СЕРИИ ЖУРНАЛА

Главный редактор серии
О.А. Ефремова
доктор медицинских наук, профессор (НИУ «БелГУ»)

Заместитель главного редактора
А.А. Должиков
доктор медицинских наук, профессор (НИУ «БелГУ»)

Ответственный секретарь
О.П. Лебедева
кандидат медицинских наук, доцент (НИУ «БелГУ»)

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

Геномные и экстрагеномные механизмы в реализации ишемических и реперфузионных повреждений в хирургии органов брюшной полости. ***С.А. Алехин, П.М. Назаренко, Д.В. Лопатин, В.В. Алехина, Л.В. Иванова, В.П. Трошин, В.Д. Луценко, С.Л. Сперанский 5***

Фармакологическое прекондиционирование ишемических повреждений сетчатки. ***А.А. Арустамова, М.В. Покровский, А.С. Шабельникова, А.С. Кашуба, В.И. Якушев 13***

Кардио- и эндотелиопротективные свойства полифенолов. ***Ж.С. Лесовая, М.В. Покровский 20***

Фармакологические эффекты альфа-липоевой (тиоктовой) кислоты. ***О.В. Молчанова, В.И. Кочкаров, М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, М.В. Корокин, О.С. Гудырев 24***

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Биологическая роль ионного канала TRPA1 при различных патологических состояниях. ***Е.А. Бесхмельницына, М.В. Покровский, М.В. Корокин, В.И. Якушев, О.С. Гудырев 30***

Аргиназа – новая мишень для фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции. ***В.И. Якушев, М.В. Покровский, М.В. Корокин, Т.Г. Покровская, В.А. Куликовская, И.Н. Ершов, Е.А. Бесхмельницына, А.А. Арустамова, Л.В. Котельникова 36***

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Адекватное лечение воспалительных заболеваний зрительного нерва в целях профилактики возникновения его атрофии. ***А.И. Березников, Н.Г. Филиппенко 41***

Изменение методик компенсации внутриглазного давления и лечения атрофии зрительного нерва при глаукоме за последние десять лет по данным клиники. ***А.И. Березников, Н.Г. Филиппенко 46***

Фармакологическая коррекция иммунометаболических нарушений у пациенток с папилломавирусной инфекцией. ***М.И. Боева, А.А. Конопля 49***

Вопросы реабилитации студентов с низким уровнем соматического здоровья и повышения спортивной формы спортсменов на основе комплексного применения карницетина и физической нагрузки. ***А.П. Григоренко, Ж.Ю. Чефранова, В.Н. Ирхин 52***

Фармакотерапия нарушений иммунного статуса в условиях аденомиоза. ***Н.В. Незнамова, А.А. Ярош, А.А. Конопля, А.Н. Мальцева 57***

Фармакотерапия нарушений иммунометаболического статуса в условиях хронического сальпингоофорита. ***Ж.П. Омашарифа, А.А. Конопля 61***

К вопросу об эффективности сочетанной коррекции проявлений психологической дезадаптации у лиц 18-22 лет с донозологическими проявлениями вегетативной дисрегуляции. ***О.В. Смольнякова, С.И. Корнеева, Н.Г. Филиппенко 66***

Стимулированная цитокинпродуцирующая активность медицинских материалов, применяемых в производстве хирургических стентов. ***С.В. Шкодкин, К.А. Бочарова, М.И. Коган, С.В. Иванов, Ю.Б. Идашкин, Е.Ф. Михайлова, Н.Г. Бахтина, А.В. Любушкин, О.В. Мирошниченко 71***

Современные возможности фармакотерапии дисменореи. ***Н.Ю. Черкасова, О.В. Филиппова 79***

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

Влияние дистантного ишемического прекондиционирования на морфофункциональные показатели и экспрессию фактора антиапоптоза в печени после перенесенного эпизода ишемии/реперфузии. ***С.А. Алехин, Д.В. Лопатин, М.В. Покровский, П.М. Назаренко, В.П. Трошин, Д.И. Колмыков, В.В. Алехина 84***

Влияние гесперидина на скорость восстановления работоспособности и поведенческий статус животных на фоне интенсивных физических и психоэмоциональных нагрузок. ***А.В. Воронков, И.Н. Тюренков, А.А. Слиецанс, Н.А. Муравьева 88***

Остеопротективное действие L-аргинина при экспериментальном остеопорозе. ***О.С. Гудырев, Д.С.Р. Раджкумар, А.В. Файтельсон, М.В. Покровский, В.А. Руженков, О.В. Филиппова 94***

Фармакологическое прекондиционирование 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионатом, новые пути реализации его противоишемических эффектов. ***Л.М. Даниленко, М.В. Покровский, О.О. Новиков, К.А. Беляев, К.В. Хаванский 98***

Члены редколлегии
А.П. Григоренко
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
Н.И. Жернакова
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
Е.Т. Жилякова
доктор фармацевтических наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
В.Ф. Куликовский
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
В.Д. Луценко
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
О.О. Новиков
доктор фармацевтических наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
В.С. Орлова
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
Т.В. Павлова
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
И.П. Парфенов
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
С.П. Пахомов
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
К.И. Прощаев
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
Ф.А. Пятакович
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
Т.А. Романова
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
И.В. Спичак
доктор фармацевтических наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
Б.В. Трифонов
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
Ж.Ю. Чефранова
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
М.И. Чурносов
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
А.А. Шапошников
доктор биологических наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

Противоишемическая эффективность никорандила - модулятора калиевых каналов на модели коронарооккклюзионного инфаркта миокарда у кроликов. ***Л.М. Даниленко, М.В. Покровский, О.О. Новиков, К.А. Беляев, К.В. Хаванский 103***
Метаболические нарушения и способы их коррекции в условиях отравления этанолом и воздействия постоянного магнитного поля. ***В.В. Дудка, А.И. Конопля, Т.В. Чуева 108***
Оценка структурно-функционального состояния мембран при воздействии полиолов. ***В.И. Евдокимов, В.А. Телегин 112***
Изучение способов кардиопротекции на изолированном по Лангендорфу сердце крыс. ***А.Н. Каплин, О.Н. Кузмицкая, А.А. Шапошников, А.П. Григоренко 117***
Фармакологическое прекондиционирование эритропоэтином – возможность применения в хирургии. ***И.М. Колесник 120***
Экспериментальное обоснование возможности фармакологического прекондиционирования мягких тканей силденафилом. ***И.М. Колесник, М.В. Покровский, В.А. Лазаренко, Т.Г. Покровская, С.В. Ходов, Д.А. Ефременкова, К.С. Трофимов, М.М. Папуашвили 125***
Влияние фармакологического прекондиционирования активаторами АТФ-зависимых калиевых каналов на состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной скелетной мышце. ***И.М. Колесник, М.В. Покровский, В.А. Лазаренко, Д.А. Ефременкова, Т.Г. Покровская, С.В. Ходов, К.С. Трофимов, М.М. Папуашвили 129***
Сравнительный анализ эффективности гепатопротекторного действия L-норвалина и адеметионина при ишемических и реперфузионных поражениях печени. ***Д.В. Лопатин, С.А. Алехин, М.В. Покровский, П.М. Назаренко, В.П. Трошин, Д.И. Колмыков, Л.В. Иванова, В.Д. Луценко, С.Л. Сперанский 132***
Проблема хирургии ишемии конечности: сравнительная оценка ангиогенного эффекта L-аргинина и VEGF – фактора роста эндотелия сосудов. ***В.Д. Луценко, С.Л. Сперанский, В.Ф. Куликовский, Н.В. Олейник, М.А. Евсеев, И.В. Сухотерин, Е.Б. Артюшкова 137***
Протективное действие бемитила и этомерзола в период реоксигенации после острой гипоксии. ***Е.Н. Пашин 141***
Влияние некоторых производных арилалканов на кровоснабжение и сократимость ишемизированного миокарда. ***Е.Н. Пашин 147***
Комплексная оценка остеопротективных эффектов эналаприла, лозартана, резвератрола и их комбинаций при экспериментальном генерализованном остеопорозе. ***Н.Ю. Коклина, А.В. Файтельсон, О.С. Гудырев, М.В. Покровский 152***
Оценка эффективности воздействия резвератрола, эналаприла, лозартана и их комбинаций на качество консолидации экспериментальных переломов на фоне моделированного остеопороза. ***А.В. Файтельсон, О.С. Гудырев, М.В. Покровский, Н.Ю. Коклина 158***
Эффективность азитромицина в коррекции эндотелиальной дисфункции при экспериментальном васкулите. ***Е.С. Черноморцева, М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, Э.Н. Дудина, Е.А. Коновалова, О.А. Старосельцева, О.В. Филиппова, В.А. Руженков 164***
Ультразвуковая оценка эффективности использования экспериментального наноструктурного стента при обструкции мочеточника. ***С.В. Шкодкин, М.И. Коган, С.В. Иванов, Ю.Б. Идашкин, О.И. Степченко, А.В. Любушкин, О.В. Мирошниченко 169***

Сведения об авторах ***174***

Информация для авторов ***178***

Оригинал-макет *О.А. Ефремова, Н.А. Гапоненко*
E-mail: efremova.bgu@gmail.com, doctor_ol@bk.ru

Подписано в печать 28.12.2012
Формат 60×84/8
Гарнитура Georgia, Impact
Усл. п. л. 21,15
Тираж 1000 экз.
Заказ 392

Подписной индекс в каталоге агентства «Роспечать» – 18078

Оригинал-макет подготовлен и тиражирован в ИД «Белгород»
Адрес: 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85

© Белгородский государственный национальный исследовательский университет, 2012

№ 22(141) 2012
Issue 20/3

SCIENTIFIC REVIEWING JOURNAL

Founded in 1995

The Journal is included into the list of the leading peer-reviewed journals and publications coming out in the Russian Federation that are recommended for publishing key results of the theses for Doktor and Kandidat degree-seekers

Founder:
Federal state autonomous educational establishment of higher professional education «Belgorod National Research University»

Publisher:
Belgorod National Research University. Publishing house «Belgorod»

The journal is registered in Federal service of control over law compliance in the sphere of mass media and protection of cultural heritage

Certificate of registration of mass media ПИ № ФС 77-21121 May 19, 2005.

EDITORIAL BOARD OF JOURNAL

Editor-in-chief

O.N. Poluchin,
Acting Rector of Belgorod National Research University, doctor of political sciences, Professor

Deputy editor-in-chief

I.S. Konstantinov,
Acting Vice-Rector on Scientific and Innovative Work of Belgorod National Research University, Doctor of Technical Sciences, Professor

Assistant Editors

V.M. Moskovkin,
Professor of world economy department Belgorod National Research University, Doctor of geographical sciences

O.V. Shevchenko,
Deputy head of department of scientific and innovative activity of Belgorod National Research University, Candidate of Historical Sciences

EDITORIAL BOARD OF JOURNAL SERIES

Editor-in-chief of the series
O.A. Efremova
Doctor of medicine sciences, Professor (Belgorod National Research University)

Deputy of chief editor
A.A. Dolzhikov
Doctor of medicine sciences, Professor (Belgorod National Research University)

Responsible secretary
O.P. Lebedeva
Candidate of medicine sciences (Belgorod National Research University)

Members of editorial board
A.P. Grigorenko
Doctor of medicine sciences, Professor (Belgorod National Research University)
N.I. Zhernakova
Doctor of medicine sciences, Professor (Belgorod National Research University)

Belgorod State University Scientific bulletin
Medicine Pharmacy

Belgorod State University Scientific bulletin

Medicine Pharmacy

CONTENTS

REVIEWS

Genomic and extragenomic implementation mecanisms at ischemic and reperfusion damage in abdominal organs surgery. ***S.A. Alehin, P.M. Nazarenko, D.V. Lopatin, V.V. Alehina, L.V. Ivanova, V.P. Troshin, V.D. Lutsenko, S.L. Speranskiy 5***

Pharmacological preconditioning of ischemic damage of the retina. ***A.A. Arustamova, M.V. Pokrovsky, A.S. Shabelnikova, A.S. Kashuba, V.I. Yakushev 13***

Cardio- and endothelioprotective properties of polyphenols. ***Z.S. Lesovaya, M.V. Pokrovskiy 20***

Alpha-lipoic (thioctic) acid pharmacological effects. ***O.V. Molchanova, V.I. Kochkarov, M.V. Pokrovskiy, T.G. Pokrovskaya, M.V. Korokin, O.S. Gudyrev 24***

PERSPECTIVE STUDIES

The biological role of the TRPA1 channel in the various pathological conditions. ***E.A. Beskhmelnitsyna, M.V. Pokrovskiy, M.V. Korokin, V.I. Yakushev, O.S. Gudyrev 30***

Arginase is a new target for pharmacological correction of the endothelial dysfunction. ***V.I. Yakushev, M.V. Pokrovsky, M.V. Korokin, T.G. Pokrovskaya, V.A. Kulikovskaya, I.N. Ershov, E.A. Beshmelnitsyna, A.A. Arustamova, L.V. Kotelnikova 36***

CLINICAL MEDICINE

Adequate treatment of inflammatory diseases of optic nerve for prevention of its atrophy. ***A.I. Bereznikov, N.G. Filippenko 41***

Change of treatment methods of intraocular pressure and atrophy of the optic nerve in glaucoma in the last ten years in the clinic. ***A.I. Bereznikov, N.G. Filippenko 46***

Pharmacological correction of immune and metabolic disturbances at patients with infection of viral papilloma. ***M.I. Boeva, A.A. Konoplya 49***

Approaches to rehabilitation of students with low level of somatic health and to improvement of sportsmen's good physical shape on basis of combined application of carnicetine and aphysical activity. ***A.P. Grigorenko, Z.Y. Chefranova, V.N. Irhin 52***

Pharmacological therapy of disturbances of the immune status in the conditions of the adenomyosis. ***N.V. Neznamova, A.A. Yarosh, A.A. Konoplya, A.N. Maltseva 57***

Pharmacological therapy of disturbances of the immune and metabolic status in the conditions of chronic salpingoophoritis. ***G.P. Omasharifa, A.A. Konoplya 61***

To the question of effectivness of combined correction of psychological maladjustment displays in people of 18-22 with prenosological manifestations of autonomic dysregulation. ***O.V. Smolnyakova, S.I. Korneeva, N.G. Filippenko 66***

Caused cytokine of active medical materials used in manufacture to produce surgical stents. ***S.V. Shkodkin, K.A. Bocharova, M.I. Kogan, S.V. Ivanov, Y.B. Idashkin, E.F. Michailova, N.G. Bahtina, A.V. Lubushkin, O.V. Miroshnichenko 71***

Modern possibilities of pharmacotherapy of dysmenorrhea. ***N.YU. Cherkasova O.V. Filippova 79***

EXPERIMENTAL MEDICINE

Remote ischemic preconditioning effect on morphofunctional indicators and antiapoptotic factor in liver after ischemia/reperfusion episode. ***S.A. Alehin, D.V. Lopatin, M.V. Pokrovskiy, P.M. Nazarenko, V.P. Troshin, D.I. Kolmikov, V.V. Alehina 84***

Influence of gesperedin on speed recovery efficiency and behavioral status of animals during intensive physical and psycho-emotional loads. ***A.V. Voronkov, I.N. Tyurenkov, A.A. Slietsans, N.A. Muravieva 88***

Osteoprotective action of L-arginine in experimental osteoporosis. ***O.S. Gudyrev, D.S.R. Rajkumar, A.V. Faitelson, M.V. Pokrovskiy, V.A. Ruzhenkov, O.V. Filippova 94***

Pharmacologicai preconditioning of 3 - (2,2,2-trimetilgidraziniya) propionate, new ways of implementation of its antiischemic effects. ***L.M. Danilenko, M.V. Pokrovskiy, O.O. Novikov, K.A. Belyaev, A.V. Havansky 98***

Antianginal efficiency of nicorandil –modulator of potassium channels on a model of coronaroocclusion myocardial infarction in rabbits. ***L.M. Danilenko, M.V. Pokrovskiy, O.O. Novikov, K.A. Belyaev, A.V. Havansky 103***

E.T. Zhilaykova
Doctor of pharmacy sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

V.F. Kulikovsky
Doctor of medicine sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

V.D. Lutsenko
Doctor of medicine sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

O.O. Novikov
Doctor of pharmacy sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

V.S. Orlova
Doctor of medicine sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

T.V. Pavlova
Doctor of medicine sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

I.P. Parfenov
Doctor of medicine sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

S.P. Pachomov
Doctor of medicine sciences, Professor
(Belgorod State University)

K.I. Proshchaev
Doctor of medicine sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

F.A. Pjatakovich
Doctor of medicine sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

T.A. Romanova
Doctor of medicine sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

I.V. Spichak
Doctor of pharmacy sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

B.V. Triphonov
Doctor of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

Z.Y. Chephranova
Doctor of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

M.I. Churnosov
Doctor of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

A.A. Shaposhnikov
Doctor of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

Metabolic disturbances and ways of their correction in the conditions of the poisoning with ethanol and influences of the constant magnetic field. ***V.V. Dudka, A.I. Konoplya, T.V. Chueva 108***
Investigations of structural-functional state of biological membranes of under polyols influence. ***V.I. Evdokimov, V.A. Telegin 112***
Studying the ways of cardioprotection in an isolated rat heart by Langendorff. ***A.N. Kaplin, O.N. Kuzmitskaya, A.A. Shaposhnikov, A.P. Grigorenko 117***
Surgical aspects of erythropoietin to correct ischemic damage of organs and tissues. ***I.M. Kolesnik 120***
Experimental substantiation of possibility of pharmacological preconditioning of soft tissues with sildenafil. ***I.M. Kolesnik, M.V. Pokrovsky, V.A. Lasarenko, T.G. Pokrovskaya, S.V. Hodov, D.A. Efremenkova, K.S. Trofimov, M.M. Papuashvili 125***
Influence of pharmacological preconditioning with activators of ATP-dependent potassium channels on the microvasculature condition in ischemic skeletal muscle. ***I.M. Kolesnik, M.V. Pokrovsky, V.A. Lasarenko, D.A. Efremenkova, T.G. Pokrovskaya, S.V. Hodov, K.S. Trofimov, M.M. Papuashvili 129***
Comparative analysis of L-norvaline and ademetionine hepatoprotective action efficacy in ischemic and reperfusion injury of liver. ***D.V. Lopatin, S.A. Alehin, M.V. Pokrovskiy, P.M. Nazarenko, V.P. Troshin, D.I. Kolmikov, L.V. Ivanova, V.D. Lutsenko, S.L. Speranskiy 132***
The problem of limb ischemia surgery: comparative study of angiogenic efficacy of L-arginine and VEGF – vascular endothelial growth factor. ***V.D. Lutsenko, S.L. Speranskiy, V.F. Kulikovskiy, N.V. Oleinik, M.A. Evseev, I.V. Suhoterin, E.B. Artyushkova 137***
Protective action of bemithyl and ethomersol during reoxygenation after acute hypoxia. ***E.N. Pashin 141***
The influence of some arylalkane derivatives on the blood supply and contractility of the ischaemic myocardium. ***E.N. Pashin 147***
Comprehensive assessment of osteoprotective effects of enalapril, losartan, resveratrol and their combinations in experimental generalized osteoporosis. ***N.U. Koklina, A.V. Faitelson, O.S. Gudyrev, M.V. Pokrovskiy 152***
Assessment of impact of resveratrol, enalapril, losartan and their combinations on quality of consolidation of experimental fractures on the background of modelled osteoporosis. ***A.V. Faitelson, O.S. Gudyrev, M.V. Pokrovskiy, N.U. Koklina 158***
Azitromycin effects in correction of the endothelial dysfunction in experimental vasculitis. ***E.S. Chernomortseva, M.V. Pokrovskiy, T.G. Pokrovskaya, E.N. Dudina, E.A. Konovalova, O.A. Staroseltseva, O.V. Filippova, V.A. Ruzhenkov 164***
Ultrasonic evaluation of experimental nanostructured stents in ureteral obstruction. ***S.V. Shkodkin, M.I. Kogan, S.V. Ivanov, Y.B. Idashkin, O.I. Stepchenko, A.V. Lubushkin, O.V. Miroshnichenko 169***

Information about Authors ***174***

Information for Authors ***178***

Dummy layout by *O.A. Efremova*, *N.A. Gaponenko*
e-mail: efremova.bgu@gmail.com, doctor_ol@bk.ru

Passed for printing 28.12.2012
Format 60×84/8
Typeface Georgia, Impact
Printer's sheets 21,15
Circulation 1000 copies
Order 392

Subscription reference
in Rospechat' agency catalogue – 18078

Dummy layout is replicated at BNRU
Publishing-polygraphic complex
Address: 85, Pobedy str., Belgorod, Russia, 308015

© Belgorod National Research University, 2012

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 615.244:616-005.4

ГЕНОМНЫЕ И ЭКСТРАГЕНОМНЫЕ МЕХАНИЗМЫ В РЕАЛИЗАЦИИ ИШЕМИЧЕСКИХ И РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ В ХИРУРГИИ ОРГАНОВ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ

С.А. АЛЕХИН [1], П.М. НАЗАРЕНКО [1]
Д.В. ЛОПАТИН [1], В.В. АЛЕХИНА [1]
Л.В. ИВАНОВА [1], В.П. ТРОШИН [2]
В.Д. ЛУЦЕНКО [3], С.Л. СПЕРАНСКИЙ [3]

[1] Курский государственный медицинский университет

[2] Брянский патологоанатомический институт

[3] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: s_alehin@mail.ru

В статье представлены современные взгляды на проблемы регуляции ишемического и реперфузионного повреждения тканей, взаимодействие геномных и экстрагеномных механизмов в реализиции ишемического воздействия, составляющих суть ишемического воспаления.

Ключевые слова: ишемическое и реперфузионное повреждение, ишемическое воспаление.

Современная высокотехнологичная хирургия с внедрением таких методов, как трансплантация внутренних органов, расширенные операции с использованием так называемых сухих органов, аппаратов искусственного кровообращения, привнесла и другие, до того момента не изученные явления – тяжёлые повреждения органов и тканей, развивающиеся не только при прекращении кровотока, но и при его возобновлении, гипоперфузионные повреждения внутренних органов. Для преодоления негативных последствий от влияния этих повреждений была проделана огромная работа по их изучению на органном, тканевом, клеточном и даже геномных уровнях, которая, однако, ещё далека от своего завершения.

Ишемия лежит в основе патогенеза многих поражений внутренних органов. Характер ответа клеток и тканей на ограничение кровотока зависит как от длительности, так и от глубины его воздействия в случае надпорогового воздействия, реализуясь через один из вариантов ответа – некроз, апоптоз или пролиферацию, а зачастую их комбинацию или последовательную смену [2, 4, 5, 6, 57, 60].

Ишемический стимул реализует своё действие через геномные (HIF, NF-kb) и негеномные пути как в краткосрочном, так и долгосрочном аспекте. Однако подобное деление весьма условно, что говорит о глубокой взаимосвязи двух данных путей [56].

Если рассматривать действие ишемии без участия активации генома, то одним из наиболее важных этапов в реализации её воздействия является смена окислительного фосфорилирования на неокислительное, которое менее эффективно в отношении количества молекул АТФ, что сопровождается энергетическим голодом в условиях гипоксии и ведёт к падению концентрации макроэргических соединений [11, 13]. Как следствие переключения источника для синтеза АТФ, в клетке начинают накапливаться недоокисленные продукты с последующей дестабилизацией цитоскелета и активацией лизосомальных ферментов [11].

Явления ишемии усугубляются нарушениями функционирования сосудистого эндотелия, что, в свою очередь, ведёт к нарушению процессов газообмена, образованию в просвете агрегатов с дальнейшим ограничением кровотока [1, 3, 10].

В процесс ишемического повреждения вовлекаются не только клетки, но также структуры внеклеточного матрикса. В нём участвуют металлопротеиназы, макрофагальные NO-синтазы, коллагеназы, реактивные формы кислорода [9, 10].

Падение концентрации кислорода и накопление недоокисленых продуктов приводит к активации генома клетки путем воздействия так называемых факторов транскрипции, ключевым из которых является гипоксия-индуцируемый фактор Hif. Данный транскрипторный фактор является гетеродимерным белком, присутствующим в виде двух субъединиц α(альфа) и β(бета). Hif-1β – конституционально экспрессируемый белок, и его концентрация поддерживается на постоянном уровне вне зависимости от парциального давления кислорода. Несмотря на то что транскрипция и синтез Hif-1α также являются конституциональными и кислороднезависимыми, в условиях нормоксии сколь-нибудь значимого количества данного белка не определяется, что объясняется быстрой биодеградацией Hif-1α. Развитие гипоксии приводит к стабилизации Hif-1α, с последующей его транслокацией в ядро и связыванием с Hif-1β. Димер, состоящий из двух субъединиц, является транскрипторно активным и, взаимодействуя с HRE участками регуляторных зон таргетных генов, после связи с коактиваторами, приводит к индукции экспрессии данных генов [16, , 19, 31, 45, 80].

На данный момент насчитывается более 100 таргетных генов для Hif-1. Это гены, контролирующие эритропоэз (эритропоэтин, трансферрин), ангиогенез (VGEF, лептин, TGFb3), сосудистый тонус (iNOs, гемоксигеназа, эндотелины, андреномедулин), гены, контролирующие метаболизм матрикса (металлопротеазы), метаболизм глюкозы и цикл Кребса, клеточную пролиферацию (IGF, TGFa) и апоптоз (Bcl-2, NIX). Список таргетных генов для Hif-1 постоянно растёт. Такое большое количество генов, конечными аффекторами которых зачастую являются субстанции с противоположным действием, как в случае с апоптозом и пролиферацией, наводит на мысль о том, что Hif-1 представляет собой универсальный активатор генома клетки в условиях ишемии, конечный результат действия которого модулируется в зависимости от различных условий [1, 21, 41, 42, 43, 54, 64, 76, 83, 84, 85, 90, 91].

Однако не только прекращение, но и возобновление кровотока в сосудах органа может являться причиной значительного увеличения зоны повреждения от первоначального ишемического воздействия, что составляет суть реперфузионного повреждения [59, 93].

Ишемическое и реперфузионное повреждение печени. Широкое развитие хирургии печени, и в особенности трансплантологии, повлекло за собой изучение ишемических и реперфузионных повреждений в гепатологии. Патофизиология реперфузионных поражений печени во многом сходна с таковыми других органов и тканей и включает как прямое ишемическое поражение, так и повреждение в результате активации воспаления. Активация воспаления происходит через повышение экспрессии ядерного фактора транскрипции NF-kβ с запуском каскада системного воспаления и с началом локальной продукции стартового медиатора TNFα [23, 33, 49, 72, 82, 88, 89].

Далее активируется каскад с продукцией медиаторов воспалительной реакции, таких как интерлейкины, которые активизируют выброс как про-, так и противовоспалительных агентов, значительную часть таких агентов составляют эйкозаноиды – продукты ферментативного превращения арахидоновой кислоты [7, 40, 61]. В результате патологического действия образуются новые, дистальные по отношению к цитокинам факторы повреждающего воздействия. К ним относятся промежуточные и конечные продукты нормального обмена в концентрациях выше физиологических (лактат, мочевина, креатинин, билирубин), накопленные в патологических концентрациях компоненты и эффекторы регуляторных систем (калликреин-кининовой, свертывающей, фибринолитической, нейромедиаторы), продукты патологического обмена (альдегиды, кетоны, высшие спирты), вещества кишечного происхождения типа индола, скатола [7, 8, 12]. Таким образом, замыкается патологический круг, когда локальное или системное поступление медиаторов воспаления, вызывая вторичное повреждение, усиливает ишемизацию тканей и приводит к увеличению зоны первичного повреждения. Исходя из вовлекаемых в процесс реперфузионных поражений медиаторов воспаления и характера их взаимодействия, возникают прямые параллели между синдромом системного воспалительного ответа (ССВО) и реперфузионными повреждениями тканей, что подтверждается исследованиями Sang Won Park и соавт., которые выяснили, что реперфузия печени приводит не только к усилению её собственного повреждения, но и к острому повреждению почечной паренхимы [71].

Ишемические и реперфузионные повреждения толстого и тонкого кишечника. Другие органы брюшной полости также подвержены реперфузионным повреждениям в не меньшей степени, чем печень. В частности, тонкий кишечник, один из

наиболее чувствительных органов к эпизодам ишемии, которая ведёт к снижению его функций, и в первую очередь барьерной, результатом чего является повышение микробной транслокации [20]. Даже 15-минутная ишемия приводит к значительному снижению клеточного и митохондриального дыхания. Имеются данные о разнице в реакциях на ишемию тонкого и толстого кишечника. F. W. Leung и соавт. были получены данные, свидетельствующие о более выраженном снижении перфузии в слизистой толстого кишечника по сравнению со слизистой тонкого кишечника в ответ на 30-минутную ишемию [29, 77].

Немаловажным вопросом для медицины вообще и для хирургии желудочно-кишечного тракта в частности является реакция тканей кишечника на восстановление кровотока в русле, приобретающая особую важность в свете открытого феномена ишемия/реперфузия.

В исследованиях Parks и Granger (1986) было показано, что восстановление кровотока в сосудах тонкого кишечника приводит к усилению повреждений предварительно ишемизированных тканей тонкого кишечника [66]. Реперфузия желудочно-кишечного тракта приводит к патологическому состоянию, характеризующемуся многочисленными расстройствами микроциркуляции, и повреждению слизистой оболочки, отёку и набуханию эндотелиальных клеток, тромбозу капиллярного русла, что, в свою очередь, усугубляет нарушение кровотока и приводит к ослаблению барьерной функции [34, 36, 69].

Снижение барьерной функции вызывает повышение поступления липидов в лимфу грудного лимфатического протока в течение первых трёх часов с момента ишемии, а впоследствии и в центральный кровоток, смещая спектр липопротеидов в сторону атерогенных. К концу первых суток с момента транзиторной ишемии всасывание липидов значительно падает [28, 47].

Течение ишемических и реперфузионных поражений тканей кишечника имеет ряд сходных черт с таковыми других органов, однако имеется ряд отличительных черт. С одной стороны, действие ишемии с эпизодом ишемии приводит к развитию синдрома системного воспаления ССВО и полиорганной недостаточности [24, 32, 37]. В ответ на запущенный механизм системного воспаления с продукцией специфических цитокинов, а также в ответ на антигенный стимул происходит активация экспрессии индуцибельной NO-синтазы в ткани кишечника [50]. Повышение экспрессии индуцибельной NO-синтазы происходит по механизмам активации ядерных факторов транскрипции, в частности NF-kβ [30]. Впоследствии усиление продукции NO приводит к повреждению кишечного эпителия за счёт образования пероксинитрита, ответственного за активацию перекисного окисления липидов и образование нитротирозина [52, 55, 67, 78].

Патологическая роль NO в реализации ишемических реперфузионных поражений кишечника подтверждается положительным эффектом от применения ингибиторов индуцибельной NO-синтазы на моделях SIRS синдрома [15]. В то же время применение L-NAME только усиливает ишемические повреждения, что говорит о неоднозначности роли NO в течении ишемических и реперфузионных осложнений, а также о недостаточной её изученности [52]. Группой исследователей во главе с R. Udassin были получены данные о том, что нитроксид ослабляет степень выраженности ишемических и реперфузионных поражений тканей тонкого кишечника у крыс в эксперименте, что наглядно показывает противоречивость и неоднозначность данных об участии системы оксида азота в повреждении и защите тканей в ходе ишемического-реперфузионного повреждения [92].

С другой стороны, ишемия-реперфузия приводит к активации клеточного апоптоза в тканях кишечника через развивающуюся митохондриальную дисфункцию [39, 46, 68, 70]. Redox статус влияет на активность факторов транскрипции, внутри- и межклеточную передачу регуляторных сигналов, клеточный некроз, апоптоз и пролиферацию [27, 53, 74, 75, 86, 87].

Пути реализации программированной клеточной гибели зависят как от аффекторной ткани, так и от механизмов активации. В исследованиях на гендефицитных мышах была установлена роль модулятора клеточного апоптоза p53. Степень выраженности апоптоза тканей тонкого кишечника в ответ на ишемию-реперфузию у мышей, лишённых гена, кодирующего данный модулятор, была значительно ниже [65]. Исследования программированной клеточной гибели в ответ на ишемию и ишемию-реперфузию, проведенные H. Ikeda at al., позволили авторам предположить, что апоптоз является основным механизмом реализации клеточного повреждения в тканях тонкого кишечника [17].

В то же время активное участие полиморфноядерных лейкоцитов в ответ на регионарную ишемию в бассейне передней мезентериальной артерии у крыс, подтвержденное исследованиями H.Kurtel at al., Y.Chen at al., говорят о проявлениях воспалительной реакции. Так, было показано, что ишемия/реперфузия в режиме 45/60 приводит к деградации ворсин эпителия, а ПМЯН появляются через 3 часа реперфузии, значительно усиливая повреждение слизистой, при этом обработка ткани дихлорметиленбифосфонатом уменьшает повреждение слизистой [25, 48].

Поджелудочная железа и ишемия/реперфузия. Ишемия и реперфузия поджелудочной железы отличаются от патологического воздействия на другие органы желудочно-кишечного тракта в первую очередь тем, что не только приводят к развитию первичных повреждений, но и становятся причиной развития феномена колокализации, являющегося пусковым механизмом в развитии самостоятельной нозологии – острого панкреатита.

При ишемии поджелудочной железы отмечается явное перераспределение катепсина с его миграцией из лизосомальной фракции в зимогенную, что является подтверждением начала феномена колокализации [38]. Начало острого панкреатита также подтверждается и активацией панкреатических ферментов, причём феномен колокализации блокируется применением блокатора NO-синтазы N ω-nitro-L-arginine (NNA) в дозе 20 мг/кг. Вовлечённость системы оксида азота в повреждение поджелудочной железы при остром панкреатите подтверждается также и повышением концентрации стабильных метаболитов оксида азота после эпизода панкреатической ишемии, а назначение L-NAME приводит к значительному снижению активности панкреатических ферментов и в первую очередь липазы, после эпизода реперфузии [26].

Ишемия поджелудочной железы не является обособленным феноменом, изучаемым в отрыве от реальных нозологических форм. Её роль в развитии острого панкреатита очевидна и подтверждается многими исследованиями [18]. При остром панкреатите, вызванном внутрипротоковым введением таурахолата натрия, уже ко второй минуте происходит выраженный спазм сосудов на 79 +/- 2% ($P < 0.01$) сопровождающийся последующей вазодилатацией и венозным полнокровием, при этом данные коррелируют со скоростью объёмного кровотока, отражая сущность ишемического и реперфузионного поражения поджелудочной железы, причём фаза усиления перфузии является ни чем иным, как полнокровием в ответ на активацию воспалительной реакции [18].

При более детальном рассмотрении выяснилось, что митохондрии поджелудочной железы реагируют на угнетение окислительного фосфорилирования при ишемии отлично от большинства органов, так как в них происходит ослабление ацетилэфирных связей липидов [58].

Реактивные формы кислорода и азота – это группы взаимосвязанных молекул, являющихся сигнальными, однако повышение их концентрации вследствие ишемии может приводить к повреждению клетки. Патологическое действие реактивных форм кислорода и азота при остром панкреатите описано в работах (Sanfey et al., 1984; Tsai et al., 1998; Schulz et al., 1999) [62, 63, 81].

Изучение процессов альтеративного и репаративного воспаления и активации генома во время гипоксии привело к чёткому осознанию их глубинной взаимосвязи и даже появлению термина «гипоксическое воспаление», где центральным звеном является взаимодействие двух основных транскрипторных факторов Hif-1 и NF-kb, что приобретает особое значение для состояний с длительным снижением концентрации кислорода [73, 79, 88]. Уже более 15 лет известна способность NF-kb к активации транскрипции в условиях гипоксии в различных клетках по классическому цитокиновому пути [22, 51]. По всей вероятности, результирующая вектора про- или противовоспалительного эффекта обусловлена характером клеток вовлечённых в процесс, что, в свою очередь, наводит на мысль о возможной разнице в тканевой и органной реакции на гипоксическое воспаление, которое в одном случае заканчивается выбросом цитокинов, а в другом – активацией Hif-1 с последующей адаптивной реакцией [88].

Если рассматривать острую абдоминальную патологию, то изменение направления вектора результирующей взаимодействия двух ключевых факторов транскрипции NF-kb и Hif в сторону репаративных процессов, с одной стороны, и уменьшения альтерации с другой, является одной из основных задач, стоящих перед фармакокоррекцией ишемических повреждений. Подобного эффекта можно добиться при уменьшении активации IKK – апрегулятора активности NF-kb и моделирования адаптивного действия Hif [35]. С нашей точки зрения, действие эритропоэтина, являющегося аффектором Hif и уменьшающего выраженность ишемических повреждений, с чем большинство авторов связывают его прекондиционирующий эффект, до конца не может быть объяснено этим его свойством. Большой интерес представляет возможность влияния EPO на прямое уменьшение цитокиновой агрессии путём воздействия на экспрессию NF-kb. Исследование воздействия эритропоэтина на IKK апрегуляцию NF-kb, а как следствие, и повышения транскрипции Hif-1a MRNA с последующим повышением уровня самого Hif-1a позволит дополнить представление о взаимосвязи и взаиморегуляции двух транскрипторных путей и обосновать применение рекомбинантного эритропоэтина и его дериватов при т.н. остром ишемическом воспалении.

Исследование выполнено в рамках государственного задания на НИОКР (госконтракт № 4.913.2011).

Литература

1. Барабанова, Т.А. Особенности влияния низкоинтенсивного лазерного излучения и L-аргинина на механическую активность миокарда крыс Вистар с приобретённой дисфункцией эндотелия / Т.А. Барабанова // Нефрология : науч.-практ. журн. – 2005. – Т. 9, № 3. -–С. 88-92.

2. Биленко, М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения) / М.В. Биленко. – М. : Медицина, 1989. – 279 с .

3. Булгак, А.А. Вовлечение дисфункции сосудистого эндотелия в патогенез необратимых реперфузионных повреждений миокарда / А.А. Булгак, А.Г. Мрочек, А.В. Гурин // Новости мед.-биол. наук. – 2004. – № 3. – С. 40-45.

4. Власов, Т.Д. Системные нарушения микроциркуляции как следствие органной постишемической реперфузии / Т.Д. Власов // Патофизиология микроциркуляции : сб. науч. работ / под ред. Н.Н. Петрищева. – СПб., 1998. – С. 90-106.

5. Капелька, В.И. Эволюция концепций и метаболическая основа ишемической дисфункции миокарда / В.И. Капелька // Кардиология. – 2005. – № 9. – С. 55-61.

6. Крыжановский, Г.Н. Некоторые общебиологические закономерности и базовые механизмы развития патологических процессов / Г.Н. Крыжановский // Арх. патологии. – 2001. – № 6. – С. 44-49.

7. Лейдерман, И.Н. Синдром полиорганной недостаточности (ПОН). Метаболические основы (Лекция. Ч. 1) / И.Н. Лейдерман //Вестн. интенсив. терапии. – 1999. – № 2. – С. 24-28.

8. Лейдерман, И.Н. Синдром полиорганной недостаточности (ПОН). Метаболические основы (Лекция. Ч. 2) / И.Н.Лейдерман // Вестн. интенсив. терапии. – 1999. – № 3. – С. 32-37 (78).

9. Марков, Х.М. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия / Х.М. Марков // Кардиология. – 2005. – № 12. – С. 62-72.

10. Петрищев, Н. Н. Физиология и патофизиология эндотелия / Н.Н. Петрищев, Т.Д. Власов // Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы. Фармакол. коррекция. – СПб. : СПб ГМУ, 2003. – С. 4-38.

11. Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты / М.О. Самойлов, Д.Г. Семенов, Е.М. Тюлькова и др. – М. : Истоки, 2004. – 585 с.

12. Руднов, В.А. Сепсис Эволюция представлений, необходимость унификации терминологии и критериев / В.А. Руднов // Хирургия. – 2000. – № 4. – С.4-8.

13. Рыбакова, М.Г. Роль апоптоза в ишемическом повреждении миокарда / М.Г. Рыбакова, И.А. Кузнецова // Арх. патологии. – 2005. – № 6. – С. 23-25.

14. A hypoxiaresponsive element mediates a novel pathway of activation of the inducible nitric oxide synthase promoter / G. Melillo et al. // J Exp Med. – 1995. – Vol.182. – P. 1683-1693.

15. A novel potent inhibitor of inducible nitric oxide inhibitor, ONO-1714, reduces intestinal ischemiareperfusion injury in rats / Y. Naito // Nitric Oxide. – 2004. – Vol. 10. – P. 170-177.

16. Activation of hypoxia-inducible factor 1alpha: posttranscriptional regulation and conformational change by recruitment of the Arnt transcription factor / P.J. Kallio et al. // Proc Natl Acad Sci USA. – 1997. – Vol. 94. – P. 5667-5672.

17. Apoptosis is a major mode of cell death caused by ischaemia and ischaemia/reperfusion injury to the rat intestinal epithelium / H. Ikeda et al. // Gut. – 1998. – Vol. 42. – P. 530-537.

18. Arterial constriction, ischemia-reperfusion, and leukocyte adherence in acute pancreatitis / K. Kusterer et al. // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 1993. – Vol. 265. – P. G165-G171.

19. Asparagine hydroxylation of the HIF transactivation domain a hypoxic switch / D. Lando et al //Science (Wash DC). – 2002. – Vol. 295. – P. 858-861.

20. Bacterial translocation. In Splanchic Ischemia and Multiple Organ Failure / Wells, C.L. et al // Edward Arnold, London. – 2005. – P. 195-204.

21. Bruick, R.K. Expression of the gene encoding the proapoptotic Nip3 protein is induced by hypoxia / R.K. Bruick // Proc Natl Acad Sci USA. – 2000. – Vol. 97. – P. 9082-9087.

22. Cummins, E.P. Hypoxia-responsive transcription factors / E.P. Cummins, C.T. Taylor // Pflugers Arch. – 2005. – Vol. 450. – P. 363-371.

23. Cutting Edge: High-Mobility Group Box 1 Preconditioning Protects against Liver Ischemia-Reperfusion Injury / I. Kunihiko et al. // J. Immunol. – 2006. – Vol. 176. – P. 7154-7158.

24. Deitch, E.A. The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infection and multiple organ failure / E.A. Deitch //Arch Surg. – 1990. – Vol. 125. – P. 403-404.

25. Depletion of intestinal resident macrophages prevents ischaemia reperfusion injury in gut / Y. Chen et al. // Gut. – 2004. – Vol. 53. – P. 1772-1780.

26. Detection of nitric oxide production and its role in pancreatic ischemia-reperfusion in rats / S. Tanaka et al. // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 1996. – Vol. 271. – P. G405-G409.

27. Effect of ceramide on intracellular glutathione determines apoptotic or necrotic cell death of JB6 tumor cells / M.A. Davis et al. // Toxicol Sci. – 2000. – Vol. 53. – P. 48-55.

28. Effect of ischemia-reperfusion on lipid digestion and absorption in rat intestine / K. Fujimoto et al. // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 1991. – Vol. 260. – P. G595-G602.

29. Enterocyte respiration rates in feline small intestine exposed to graded ischemia. D. D. Henninger, D. N. Granger, and T. Y. Aw Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, Jan. – 1995. – Vol. 268. – P. G116-G120.

30. Exogenous nitric oxide can control SIRS and downregulate NFkappaB / F.S. Lozano // J Surg Res. – 2005. – Vol. 124. – P. 52-58.

31. FIH-1 is an asparaginyl hydroxylase enzyme that regulates the transcriptional activity of hypoxia-inducible factor/ D. Lando et al. // Genes Dev. – 2002.- –Vol. 16. – P. 1466-1471.

32. Fink, M.P. Intestinal epithelial hyperpermeability: update on the pathogenesis of gut mucosal barrier dysfunction in critical illness / M.P. Fink // Curr Opin Crit Care. – 2003. – Vol. 9. – P. 143-151.

33. Fondevila, C. Hepatic ischemia/ reperfusion injury; a fresh look/ C. Fondevila, R.W. Busuttil, J.W. Kupiec-Weglinski // Exp. Mol. Pathol. – 2003. – Vol. 74. – P. 86-93.

34. Granger, D.N. Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals / D.N. Granger, M.E. Hollwarth, D.A. Parks //Acta Physiol Scand (Suppl). – 1986. – Vol. 548. – P. 47-63.

35. Häcker, H. Regulation and function of IKK and IKK-related kinases / H. Häcker, M. Karin //Sci. STKE. – 2006. –Vol. 13. – P. 356-357.

36. Haglund, U. On the pathophysiology of intestinal ischemic injury: Clinical review / U. Haglund, G.B. Bulkley, D.N. Granger //Acta Chir Scand. – 1987. – Vol. 153. – P. 321-324.

37. Hindlimb Ischemia/Reperfusion-Induced Remote Injury to the Small Intestine: Role of Inducible Nitric-Oxide Synthase-Derived Nitric Oxide / K. Katada et al. // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2009. – Vol. 329. – P. 919-927.

38. Hirano, T. Possible Involvement of Nitric Oxide (NO) as a Free Radical in the Pathogenesis of Pancreatic Ischemia-Reperfusion Injuries in Rats / T. Hirano // Vascular and Endovascular Surgery. – 1998. – Vol. 32. – P. 353-360.

39. Histaminergic effect on apoptosis of rat small intestinal mucosa after ischemia-reperfusion / T. Yoshida et al. // Dig Dis Sci.- 2005. – Vol. 45. – P. 1138-1144.

40. Horn, K.D. Evolving strategies in the treatment of sepsis and systemic inflammatory response syndrome (SIRS) / K.D.Horn // QJM. – 1998. – Vol. 91. – P. 265-277.

41. Hypoxia induciblenuclear factors bind to an enhancer element located 3α to the human erythropoietin gene / G.L. Semenza et al. // Proc Natl Acad Sci USA. – 1991. – Vol. 88. – P. 5680-5684.

42. Hypoxia-inducible factor 1 transactivates the human leptin gene promoter / A. Grosfeld et al. // J Biol Chem. – 2002. – Vol. 277. – P. 42953-42957.

43. Hypoxia-inducible factor-1 mediates transcriptional activation of the heme oxygenase-1 gene in response to hypoxia / P.J. Lee et al. // J Biol Chem. – 1997. – Vol. 272. – P. 5375-5381.

44. Impairment of endoplasmic reticulum in liver as an early consequence of the systemic inflammatory response in rats / S. Nürnberger et al. // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2012. – Vol. 303. – P. G1373-G1383.

45. Induction of endothelial PAS domain protein-1 by hypoxia: characterization and comparison with hypoxia-inducible factor-1alpha / M.S. Wiesener // Blood. – 1998. – Vol. 92. – P. 2260-2268.

46. iNOS enhances intestinal apoptosis after ischemiareperfusion / B. Wu et al. // Free Radic Biol Med. – 2003. – Vol. 33. – P. 649-658.

47. Ischemia-reperfusion-induced mucosal dysfunction: role of neutrophils / H. Kurtel et al // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 1991. – Vol. 261. – P. G490-G496.

48. Ischemia-reperfusion-induced mucosal dysfunction: role of neutrophils / H. Kurtel et al. // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 1991. – Vol. 261. – P. G490-G496.

49. Jaeschke, H. Mechanisms of Liver Injury. II. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions / H. Jaeschke // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2006. – Vol.290. – P. G1083-G1088.

50. Kleinert, H. Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase / H. Kleinert, P.M. Schwarz, U. Fo¨rstermann // Biol Chem. – 2003. – Vol. 384. –P. 1343-1364.

51. Koong, A.C. Hypoxia causes the activation of nuclear factor κB through the phosphorylation of IκBα on tyrosine residues / A.C. Koong, E.Chen, A.J. Giaccia //Cancer Res. – 1994. – Vol. 54. – P. 1425-1430.

52. Kubes, P. Ischemia-reperfusion in feline small intestine: a role for nitric oxide / P. Kubes // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 1993. – Vol. 264. – P. G143-G149.

53. Lipid hydroperoxide-induced apoptosis in human colonic Caco-2 cells is associated with an early loss of cellular redox balance / T.G. Wang et al. // FASEB. – 2000. – Vol. 14. – P. 1567-1576.

54. Lok, C.N. Identification of a hypoxia response element in the transferrin receptor gene / C.N. Lok, P. Ponka // J Biol Chem. – 1999. – Vol. 274. – P. 24147-24152.

55. Lush, C.W. Regulation of intestinal nuclear factor-kappaB activity and E-selectin expression during sepsis: a role for peroxynitrite / C.W. Lush, G. Cepinskas, P.R. Kvietys // Gastroenterology. – 2002. – Vol.1 24. – P. 118-128.

56. Manganese activates caspase-9-dependent apoptosis in human bronchial epithelial cells / L. Zhang et al. // Human and Experimental Toxicology. – 2012. – Vol. 10. – P. 1177.

57. Mitochondrial Control of Cellular Life, Stress, and Death / G. Lorenzo et al. // Circ. Res. – 2012. – Vol. 111.– P. 1198-1207.

58. Mitochondrial Vulnerability and Lipid Metabolism: Brain and Pancreatic Mitochondria / K.Ozava et al. // J. Biochem. – 1969. – Vol. 66. – P. 361-367.

59. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog / R.B. Jennings et al.// Arch Pathol. – 1960. – Vol. 70. – P. 68-78.

60. Ng, C.S.H. Pulmonary ischaemia–reperfusion injury: role of apoptosis / C.S.H. Ng, S. Wan, A.P.C. Yim // Eur. Respir. J. – 2005. – Vol. 25. – P. 356-363.

61. Nystrom, P.O. The systemic inflammatory response syndrome: definitions and aetiology / P.O.Nystrom // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 1998. – Vol. 41. – P. 1-7.

62. Oxidative stress in acute pancreatitis / H.U. Schulz et al. // Hepatogastroenterology. – 1999. – Vol. 46. – P. 2736-2750.

63. Oxidative stress: an important phenomenon with pathogenetic significance in the progression of acute pancreatitis / K. Tsai et al. // Gut. – 1998. – V. 42. – P. 850-855.

64. Oxygen-regulated transferrin expression is mediated by hypoxia-inducible factor-1 / A. Rolfs et al. // J Biol Chem. – 1997. – 272. – P. 20055-20062.

65. p53 independent induction of PUMA mediates intestinal apoptosis in response to ischaemia–reperfusion / W. Bin et al. // Gut. – 2007. – Vol. 56. – P. 645-654.

66. Parks, D.A. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation / D.A. Parks, D.N. Granger // Am J Physiol. – 1986. – Vol. 250. – P. G749-G753.

67. Participation of Nitric Oxide in the Mucosal Injury of Rat Intestine Induced by Ischemia-Reperfusion / T. Kohei et al. // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1998. – Vol. 287. – P. 403.

68. Platelet activating factor promotes mucosal apoptosis via FasL mediating caspase-9 active pathway in rat small intestine after ischemia-reperfusion / B. Wu et al // FASEB. – 2003. – Vol. 17. – P. 1156-1158.

69. Posthypotensive generation of superoxide free radicals: Possible role in the pathogenesis of the intestinal mucosal damage / M.H. Schoenberg // Acta Chir Scand. – 1984. – Vol. 150. – P. 301-309.

70. Programmed cell death induced by ischemia-reperfusion in the rat intestinal mucosa / T. Noda // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 1998. – Vol. 274. – P. G270-G276.

71. Protection against Acute Kidney Injury via A_1 Adenosine Receptor-Mediated Akt Activation Reduces Liver Injury after Liver Ischemia and Reperfusion in Mice / S.W. Park et al. // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2010. – Vol. 333. – P. 736-747.

72. Protective strategies against ischemic injury of the liver/ N. Selzner, et al. //Gastroenterology. – 2003. – Vol. 125. – P. 917-936.

73. Red blood cells induce hypoxic lung inflammation / R. Kiefmann et al. // Blood. – 2008. – Vol. 111. – P. 5205-5214.

74. Redox regulation of signal transduction: tyrosine phosphorylation and calcium influx / F.J.T. Staal et al. // Proc Natl Acad Sci USA. – 1994. – Vol. 26. – P. 36193622.

75. Redox state is a central modulator of the balance between self-renewal and differentiation in a dividing glial precursor cell / J. Smith et al. // Proc Natl Acad Sci USA. – 2000. – Vol. 97. – P. 10032-10037.

76. Redox-regulated recruitment of the transcriptional coactivators CREB-binding protein and SRC-1 to hypoxia-inducible factor 1alpha / P. Carrero et al. //Mol Cell Biol. – 2000. – Vol. 20. – P. 402-415.

77. Regional differences in gut blood flow and mucosal damage in response to ischemia and reperfusion / F.W. Leung et al. // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 1992. – Vol. 263. – P. G301-G305.

78. Role of nitric oxide and peroxynitrite in gut barrier failure / D.A. Potoka et al. // World J Surg. – 2002. – Vol. 26. – P. 806-811.

79. Safronova, O. Transcriptome Remodeling in Hypoxic Inflammation / O. Safronova, I. Morita // Journal of Dental Research. – 2010. – Vol. 89. – P. 430-444.

80. Salceda, S. Hypoxia-inducible factor 1α (HIF-1α) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. Its stabilization by hypoxia depends on redox-induced changes / S. Salceda, J. Caro // J Biol Chem.– 1997. – Vol. 272. – P. 22642-22647.

81. Sanfey, H. The role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of acute pancreatitis / H.Sanfey, , G.B. Bulkley, J.L. Cameron // Ann. Surg. – 1984. – Vol. 200. – P. 405-413.

82. Schwabe, R.F. Mechanisms of Liver Injury. I. TNF-α-induced liver injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways / R.F. Schwabe, D.A. Brenner // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2006. – Vol. 290. – P. G583-G589.

83. Semenza, G.L. Hypoxia-inducible factor 1: master regulator of O2 homeostasis / G.L. Semenza // Curr Opin Genet Dev. – 1998. – Vol. 8. – P. 588-594.

84. Semenza, G.L. Involvement of hypoxia-inducible factor 1 in human cancer / G.L. Semenza // Intern Med. – 2002. – Vol. 41. – P. 79-83.

85. Semenza, G.L. Targeting HIF-1 for cancer therapy / G.L. Semenza // Nat Rev Cancer. – 2003. – Vol. 3. – P. 721-732.

86. Sun, Y. Redox regulation of transcriptional activators / Y. Sun, L.W. Oberley // Free Radic Biol Med. – 1996. – Vol. 21. – P. 335-348.

87. Suzuki, Y.J. Oxidants as stimulators of signal transduction / Y.J. Suzuki, H.J. Forman, A. Sevanian // Free Radic Biol Med. – 1997. – Vol. 22. – P. 269-285.

88. Taylor, C.T. Interdependent roles for hypoxia inducible factor and nuclear factor-κB in hypoxic inflammation / C.T. Taylor // J. Physiol. – 2008. – Vol. 586. – P. 4055-4059.

89. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion / A. Tsung et al.// J. Exp. Med. – 2005. – Vol. 201. – P. 1135-1143.

90. Transcriptional regulation of genes encoding glycolytic enzymes by hypoxia-inducible factor 1 / G.L. Semenza et al. // J Biol Chem. – 1994. – Vol. 269. – P. 23757-23763.

91. Transcriptional regulation of the rat vascular endothelial growth factor gene by hypoxia / A.P. Levy et al. // J Biol Chem. – 1995. – Vol. 270. – P. 13333-13340.

92. Udassin, R. Nitroxide radical attenuates ischaemia/reperfusion injury to the rat small intestine / R. Udassin, Y. Haskel, A. Samuni // Gut. – 1998. – Vol. 42. – P. 623-627.

93. Yellon, D.M. Myocardial reperfusion injury / D.M. Yellon, D.J. Hausenloy //N Engl J Med. – 2007. – Vol. 357. – P. 1121-1135.

GENOMIC AND EXTRAGENOMIC IMPLEMENTATION MECANISMS AT ISCHEMIC AND REPERFUSION DAMAGE IN ABDOMINAL ORGANS SURGERY

S.A. ALEHIN [1], P.M. NAZARENKO [1]
D.V. LOPATIN [1], V.V. ALEHINA [1]
L.V. IVANOVA [1], V.P. TROSHIN [2]
V.D. LUTSENKO [3]
S.L. SPERANSKIY [3]

[1)] Kursk State Medical University

[2)] Bryansk Pathologic Anatomy Institute

[3)] Belgorod National Research University

e-mail: s_alehin@mail.ru

Current outlook in ischemic and reperfusion tissue damage regulation, interaction between genomic and extragenomic mechanisms of regulation action of ischemia constituting the core of the problem were shown in this article.

Keywords: ischemic and reperfusion damage, ischemic inflammation.

УДК 615.225:617.735-007.23

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ ИШЕМИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ СЕТЧАТКИ

А.А. АРУСТАМОВА
М.В. ПОКРОВСКИЙ
А.С. ШАБЕЛЬНИКОВА
А.С. КАШУБА
В.И. ЯКУШЕВ

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: anny_87_@mail.ru

Принципиально новые возможности патогенетического лечения и профилактики ишемических состояний сетчатки открывает феномен фармакологического прекондиционирования. Выявление и применение фармакологических агентов, обладающих эффектом прекондиционирования, может явиться новым подходом в коррекции и профилактике ишемии сетчатки при различных системных заболеваниях.

Ключевые слова: ишемия сетчатки, фармакологическое прекондиционирование, никорандил, АТФ-зависимые калиевые каналы.

В последние годы отмечается рост ишемических заболеваний глаз, что связано с распространением таких системных заболеваний, как атеросклероз, гипертоническая болезнь, сахарный диабет. Ишемия сетчатки является ведущим звеном в патогенезе ряда сосудистых заболеваний глазного дна и может привести к инвалидизации. У пациентов с атеросклеротическими изменениями сердечно-сосудистой системы ишемия сетчатки развивается в 35% случаев; у пациентов с гипертонической болезнью – в 25% случаев [4].

Нестабильность и кратковременность эффекта при применении сосудорасширяющих препаратов в комплексе с другими лекарственными средствами и физиотерапевтическими методами лечения ишемии сетчатки привели к необходимости поиска более эффективных способов улучшения кровообращения в глазу [3]. Поэтому профилактика и коррекция ишемических заболеваний сетчатки является актуальной проблемой современной офтальмологии и фармакологии, которую можно решить с помощью фармакологического прекондиционирования. Суть фармакологического прекондиционирования состоит в активации эндогенных защитных механизмов, снижающих степень повреждения при последующем длительном ишемическом эпизоде [5].

Целью данного литературного обзора явилось изучение возможности использования фармакологического прекондиционирования при коррекции ишемических повреждений сетчатки.

Риск развития ишемических состояний глаза обусловлен анатомическими особенностями микроциркуляторного русла и в определенной мере зависит от степени развития коллатерального кровообращения [4, 8].

Можно выделить три патофизиологических звена в развитии сосудистых ишемических заболеваний глаза: нарушения центрального кровообращения (вызванные заболеваниями сердца, крупных сосудов и др.); нарушение органотканевого кровообращения (местное, регионарное, периферическое); нарушение кровообращения в сосудах микроциркуляторного русла [1, 9, 14].

В зонах ишемии и гипоксии начинают расти новые сосуды и рубцовая ткань по поверхности сетчатки и в глубь стекловидного тела, натягивая и сморщивая сетчатку, вызывая ее отслойку, приводящую к потере зрения. В настоящее время остановить этот процесс можно только хирургическим путем.

Оценивая данные литературы, касающиеся лечения ишемических заболеваний сетчатки, необходимо отметить, что в этой области продолжаются поиски более эффективных вазоактивных лекарственных средств, позволяющих улучшить гемодинамику глаза и сохранить зрительные функции, в связи с чем высок интерес к изучению фармакологического прекондиционирования сетчатки.

Прекондиционирование – феномен, когда предварительное воздействие потенциально вредным стимулом напряжения может увеличить клеточную переносимость к последующим стимулам напряжения [38].

Ишемическое прекондиционирование (ИПК) впервые было описано Murry и соавт. в 1986 г. [32]. Четыре коротких эпизода окклюзии коронарной артерии, перемежающиеся пятиминутными периодами реперфузии перед длительной (40 мин) окклюзией, уменьшали размер инфаркта миокарда на 70-80%. Исследования последних лет показали, что одного

эпизода преходящей ишемии необходимо и достаточно, чтобы вызвать прекондиционирование [34, 37, 41, 44, 45].

Теоретически, адаптация к ишемии может быть следствием как ишемического прекондиционирования, так и роста коллатерального кровотока. Факт, что ишемическое прекондиционирование не зависит от вовлечения коллатеральных кровеносных сосудов, подтверждается многочисленными исследованиями и тем, что во всех экспериментальных моделях без развитых коллатералей (крысы, свиньи, кролики) имеет место феномен ИПК [44].

Механизм ишемического прекондиционирования запускается через триггеры. В качестве триггеров рассматривают вещества, высвобождаемые в процессе ишемии (оксид азота, ацетилхолин, брадикинин, опиоиды, аденозин, норадренолин, свободные радикалы). В процесс, через вторичных биохимических «посредников» (мессенджеров), включаются сложные биохимические пути. Мессенджерами выступают внутриклеточные протеинкиназы, тирозинкиназы и митогенактивируемые протеинкиназы. Конечными эффекторными элементами, наиболее вероятно, являются АТФ-зависимые калиевые каналы (К+АТФ-каналы). Реализацию их защитного потенциала связывают с гиперполяризацией мембраны вследствие их открытия, активацией системы оксида азота, антиапоптическими механизмами [20, 23]. Каналы этого типа располагаются на плазматической мембране нервных клеток, на внутренней мембране митохондрий, широко представлены в эндотелии и гладкомышечных клетках сосудов. Все их изоформы способны принимать участие в реализации защитного эффекта прекондиционирования. Однако в настоящее время большинство исследований направлено на изучение роли митохондриального и плазмаллельного пула К+АТФ-каналов [10, 33]. В ряде исследований в качестве эффектора также рассматривается протеинкиназа С. Другие исследователи склонны рассматривать этот цитокин в качестве медиатора в каскаде передачи сигнала для открытия К+АТФ-каналов, которые выполняют роль дистального медиатора либо эффектора [16, 17, 18, 51].

В 1993 году был открыт феномен дистантного ишемического прекондиционирования, при котором кратковременные эпизоды ишемии одного органа (почки, брыжейки и др.) повышают толерантность других органов к последующим тяжелым ишемическим эпизодам [15]. Свидетельством естественного механизма реализации эффекта прекондиционирования является система многоуровневого иерархического дублирования, включающая нейрогенный, гуморальный и внутриклеточный компоненты, связанные с дыханием в митохондриях [35]. Последнее указывает на существование универсальной «фармакологической мишени» для запуска феномена прекондиционирования.

Исследовано влияние ишемического прямого и дистантного прекондиционирования на микроциркуляцию в печени при ее глубокой ишемии и реперфузии в условиях блокады К+АТФ-каналов глибенкламидом. Выявлено, что прямое и дистантное прекондиционирование оказывает положительное влияние на показатели объемной микроциркуляции в печени при ишемии и реперфузии [2].

Прекондиционирование фармакологическими средствами выглядит предпочтительнее, так как технологически удобнее и лишено потенциальной опасности ишемических эпизодов для патологически измененных тканей [40]. Это привело к необходимости поиска агента, выделяющегося в ответ на ишемию и способного при экзогенном введении инициировать процесс без ишемии.

Известные в настоящее время препараты по механизму реализации прекондиционирующего эффекта делятся на несколько групп.

Препараты, открывающие К+АТФ-каналы (ОКК). Фактически все препараты для клинического использования, которые описаны как ОКК (никорандил, диазоксид, миноксидил), среди прочих показаний к применению имеют артериальную гипертензию. ОКК активируют К+АТФ-каналы в гладкомышечных клетках сосудов и кардиомиоцитов, что ведет к входу в клетку ионов калия и гиперполяризации мембраны, а это, в свою очередь, уменьшает приток кальция и сокращает продолжительность потенциала действия. Как следствие, развивается отрицательный инотропный эффект и вазодилатация [20].

Суммированы доказательства того, что открытие митохондриальных К+АТФ каналов действует как ведущий механизм в феномене прекондиционирования, индуцированного фармакологически.

Пинасидил можно рассматривать как полноценную альтернативу ИПК. Результаты одного исследования показали, что пинасидил защищает легочную ткань в течение тепловой ишемии при трансплантации легкого. Таким образом, удается избежать метаболических расстройств, часто наблюдаемых в случае применения традиционных гиперкалиемических составов. Авторы этого исследования сообщали о значительном улучшении функции трансплантата и снижении гистологического повреждения при защите с пинасидилом.

Фармакологическое прекондиционирование пинасидилом в отличие от ИПК не сопровождается активацией нового белкового синтеза на уровне транскрипции [49].

Существует много экспериментальных доказательств того, что предышемическое назначение аденозина задерживает скорость истощения АТФ, отодвигает время начала ишемической контрактуры, уменьшает миокардиальный станнинг, увеличивает постишемическую миокардиальную энергетику. Аденозин уменьшает размер инфаркта миокарда, в том числе на пожилом сердце, что не характерно для ИПК [30]. Полезные эффекты аденозина, введенного до ишемии, есть следствие прямых эффектов аденозина, оказываемых на кардиомиоцит.

Левосимендан («Симдакс», «Orion Pharma», Finland) может быть одним из самых многообещающих средств фармакологического прекондиционирования. Как сенсибилизатор миофиламентов к кальцию препарат дает положительный инотропный эффект без значимого роста потребности миокарда в кислороде [29]. Это лекарственное средство было одобрено более чем в 30 странах для лечения острой и декомпенсированной хронической сердечной недостаточности и в настоящее время тестируется для периоперационного использования. Левосимендан, кроме того, открывает оба типа калиевых каналов (сарколеммальные К+АТФ каналов и митохондриальные К+АТФ каналов).

Препараты кальция могут использоваться для фармакологического прекондиционирования. В процессе кальциевого прекондиционирования задействованы К+АТФ каналы. Блокада кальциевых каналов верапамилом предотвращает развитие ИПК в эксперименте [50]. Вместе с тем использовать эту технологию в клинических условиях во время операций на сердце проблематично из-за инотропного влияния на миокард.

Есть предположения, что ингибиторы АПФ (ИАПФ) могут участвовать в формировании прекондиционирования. Вероятно, это связано с вмешательством препаратов этой группы в метаболизм брадикинина и блокадой деградации этого биогенного амина. Рост тканевых концентраций брадикинина, опознанного как триггер прекондиционирования, объясняет механизмы формирования защиты.

Брадикинин как средство прекондиционирования показал себя эффективным в экспериментальных исследованиях. В противоинфарктный механизм брадикинина вовлечены митохондриальные К+АТФ каналы [27]. Есть положительный опыт клинического использования препарата во время ангиопластики. Применение брадикинина (2,5 мкг/мин внутрикоронарно в течение 10 мин) вызывало прекондиционирование миокарда при отсутствии системных гемодинамических изменений, ослабляя выраженность ишемических проявлений после операции (динамика сегмента ST, региональная сократимость, частота приступов стенокардии) по сравнению с контрольной группой [21].

L-аргинин, прекурсор оксида азота, в экспериментальных исследованиях показал эффективность в плане усиления защиты миокарда ИПК, с уменьшением размеров инфаркта миокарда и сохранением функциональных возможностей миокарда в постишемическом периоде [42].

Дипиридамол (курантил) усиливает эффект ИПК и, возможно, сам способен активировать фармакологическое прекондиционирование. Механизм такого эффекта реализуется через активацию аденозиновых рецепторов. Являясь конкурентным ингибитором фермента аденозиндезаминазы, способствует аккумуляции аденозина непосредственно в миокарде [43]. Положительный эффект при использовании курантила возможен при условии низких доз, не вызывающих синдрома коронарного «обкрадывания».

В экспериментальных исследованиях показано, что системное использование глютамина индуцирует эффект отсроченного прекондиционирования сердца через повышение активности циклооксигеназы-2. Использование препарата в течение 3 дней до ишемии давало снижение объема некроза миокарда на 39% [48]. Клинических исследований эффектов прекондиционирования этого препарата не известно.

Эффекты фармакологического прекондиционирования на сетчатке лабораторных животных изучали при введении триметазидина в дозе 3 мг/кг массы тела животного внутрибрюшинно на модели ишемии сетчатки путем создания в течение 90 мин. повышенного внутриглазного давления. В данном исследовании показано, что триметазидин оказывает благоприятное воздействие на сетчатку, ингибируя процесс перекисного окисления липидов и нивелируя гистопатологические изменения, связанные с ишемией-реперфузией [19].

Изучено действие E-64d, искусственного селективного ингибитора кальпаина, на синтез кальпаина и кальпастатина в сетчатке глаза крыс после экспериментально вызванной ишемии-реперфузии (И/Р). И/Р вызывали повышением внутриглазного давления до 110 мм.рт.ст. в течение 1 часа. Толщину сетчатки и морфологические изменения определяли гистологически. Уровень синтеза m-кальпаина в сетчатке оценивали иммуногистохимически

и с помощью вестерн-блотинга. Установлено, что E-64d уменьшает повреждающее действие И/Р на сетчатку [13].

Исследовано влияние диборнола на морфофункциональное строение сетчатки крыс при моделировании ишемии мозга. Эксперименты проведены на 30 белых половозрелых крысах–самках линии Wistar. Животные были разделены на 3 группы. Крысам первой группы воспроизводили тотальную транзиторную ишемию головного мозга (ИГМ) по методу W.A. Pulsineli [36]. За 1 сутки до моделирования тотальной транзиторной ИГМ у наркотизированных крыс производили термокоагуляцию обеих вертебральных артерий на уровне первого шейного позвонка. ИГМ воспроизводили под эфирным наркозом путем пережатия общих сонных артерий в течение 30 мин. Состоятельность модели оценивали по побледнению видимой части сосудистой оболочки глаза, расширению зрачков, развитию гипервентиляции. Реперфузию проводили снятием окклюдеров, после чего рану ушивали. Крысам второй группы вводили диборнол в дозе 100 мг/кг в течение 7 дней. Материалом исследования служили сетчатки крыс, изъятые после их умерщвления эфирным наркозом по завершении экспериментов. Исследования показали, что введение диборнола оказывает положительный эффект на гемодинамику сетчатки, ограничивая тромбообразование и способствуя сохранности открытых функционирующих сосудов [12].

Опубликованы результаты исследований, показывающие, что интравитреальное введение эритропоэтина обладает защитным действием на ряд клеток сетчатки. В экспериментах показано улучшение ряда показателей жизнедеятельности слоя ганглиозных клеток в условиях гипоксии сетчатки. После интравитреального введения эритропоэтин предотвращал развитие ишемических осложнений у животных и, вероятно, скоро может найти свое применение в лечении таких серьезных заболеваний глаза, как тромбозы сосудов сетчатки и оптическая нейропатия [31].

Изучены протективные эффекты вальпроевой кислоты на модели ишемии-реперфузии, вызванной повреждением сетчатки крыс. Ишемия сетчатки была вызвана резким повышением внутриглазного давления. Крысы были выведены на 6, 12, 24, 48 ч и 7 дней после реперфузии. Глазные яблоки были энуклеированы для гистопатологического исследования сетчатки. Использовали ретроградную маркировку ганглиозных клеток сетчатки. Выживаемость ганглиозных клеток сетчатки была проанализирована путем вычисления плотности. Показано, что вальпроевая кислота защищает сетчатку от ишемического повреждения [24].

Доказано, что резвератрол оказывает протективное действие при ишемии сетчатки, подавляя матриксную металлопротеиназу-9 и индуцибельную NO-синтазу и индуцируя гемоксигеназу 1 [28].

При анализе литературных и экспериментальных данных по фармакологическому прекондиционированию сетчатки, а также при патентном поиске сведений о применении никорандила для коррекции ишемических состояний сетчатки нами не обнаружено, что указывает на целесообразность изучения прекондиционирующих свойств никорандила на модели ишемии глаза.

В настоящее время при поиске новых лекарственных средств предпочтение отдается, прежде всего, лекарственным веществам, удовлетворяющим «правилам пяти» Липински, которое требует, чтобы вещество имело молекулярную массу не более 500 Да, липофильность logP<5, в молекуле было не более пяти доноров водородной связи и не более 10 атомов азота и кислорода. Если два или более правил не будут соблюдены, то существует большой риск низкой биодоступности потенциального фармакологического агента [5].

С нашей точки зрения, наиболее перспективным прекондиционирующим агентом для коррекции и профилактики ишемических повреждений сетчатки является никорандил, который удовлетворяет «правилам пяти» Липински. Прекондиционирующее действие никорандила изучено на печени, поджелудочной железе, кишечнике, нижней конечности, изолированном кожном лоскуте.

Никорандил является антиангинальным средством, открывает К+АТФ-каналы не только прямым воздействием, но и опосредованно, через активацию пути NO - цГМФ-зависимой протеинкиназы, засчёт чего в итоге наблюдается вазодилатирующий эффект [22].

Фармакологическое прекондиционирование никорандилом может рассматриваться как доступный и универсальный инструмент ишемического повреждения мягких тканей в хирургии. Никорандил оказывает выраженный цитопротекторный эффект на модели изолированного кожного лоскута на питающей ножке у крыс, причем никорандил эффективен в минимальной дозе, не имеющей побочных эффектов, характерных для препарата в обычной дозе. Эффект прекондиционирования никорандилом на модели изолированного кожного лоскута на питающей ножке сохраняется при блокаде АТФ-зависимых калиевых каналов глибенкламидом [6].

Фармакологическое прекондиционирование никорандилом в дозе 4 мг/кг проявило выраженное эндотелио- и кардиопротективное действие на модели L-NAME-индуцированного дефицита NO. Морфологические исследования обнаружили снижение развития мембранозной гломерулопатии, гипертрофии кардиомиоцитов и их некроза, деструктивных изменений эндотелия сосудов и признаков гипертрофии их стенок в почках и миокарде [11].

Для исследования биохимических механизмов прекондиционирования используются молекулярно-генетические методы (полимеразная цепная реакция (ПЦР), а также иммуноферментный анализ (ИФА).

Из литературных данных известно, что уровень белка Hsp1b, также известного как Hsp27, будет увеличиваться после ишемического прекондиционирования, возможно, как следствие повышения экспрессии Hif1a (фактора, индуцируемого гипоксией 1 альфа) [39, 47, 26, 46]. Hmox1 (гемоксигеназа 1) является чувствительным детектором ишемии [39]. После ишемического прекондиционирования сетчатки крыс ПЦР-анализ показал значительное увеличение экспрессии Hmox1 на 40%, 130% и 87% на 1, 3 и 6 час соответственно. При проведении ПЦР не обнаружено индуцированных ишемическим прекондиционированием изменений в экспрессии Hspa1a (Hsp70) или Hspca (Hsp90) [25].

Для оценки функционального состояния сетчатки у лабораторных животных в настоящее время применяют электроретинографию. По окончании эксперимента глаза исследуют гистоморфологически на предмет обнаружения альтернативных изменений.

Учитывая данные литературы и экспериментальных исследований по фармакологическому прекондиционированию, можно предположить, что введение никорандила лабораторным крысам будет оказывать протективный эффект на сетчатке при ишемическом повреждении. Предполагаемый эффект можно подтвердить электроретинографическим, молекулярно-генетическими и гистоморфологическими методами.

Таким образом, анализ литературных данных указывает на актуальность изыскания новых, высокоэффективных средств для коррекции ишемических состояний глаза, поэтому перспективность изучения прекондиционирующих свойств никорандила на модели ишемии сетчатки очевидна. В этой связи необходимым условием является разработка комплекса методических подходов для объективной оценки фармакологической коррекции ишемических повреждений сетчатки.

Литература

1. Алексеев, О.В. Микроциркуляторный гемостаз / О.В. Алексеев // Гемостаз. – М. : Медицина, 1981. – С. 419-460.

2. Алехин, С.А. Фармакологический анализ влияния прямого и дистантного прекондиционирования на микроциркуляцию в печеночной паренхиме в условиях ее ишемии и реперфузии / С.А. Алехин, М.В. Покровский, Д.И. Колмыков и др. // Материалы IV фармакологов России «Инновации в современной фармакологии». – М. : Фолиум, 2012. – С. 9.

3. Елисеева, Т.О. Методы лечения ишемических состояний зрительного нерва и сетчатки / Т.О. Елисеева, А.В. Свирин // РМЖ «Клиническая офтальмология». – 2002. – № 3. – С. 106-111.

4. Кацнельсон, Л.А. Сосудистые заболевания глаз / Л.А. Кацнельсон, Т.И. Форофонова, А.Я. Бунин. – М. : Медицина, 1990. – С. 120-272.

5. Колесник, И.М. Влияние дистантного прекондиционирования на выживаемость ишемизированных тканей / И.М. Колесник, М.В. Покровский, В.А. Лазаренко и др. // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2010. – Т. 3, № 3. – С. 214-217.

6. Колесник, И.М. Фармакологическое прекондиционирование никорандилом и миноксидилом – возможность применения в хирургии / И.М. Колесник, Д.А. Ефременкова, М.В. Покровский // Вестник ВолГМУ. Приложение (Материалы IV Всерос. науч.-практ. семинара молодых ученых с междунар. участием «Современные проблемы медицинской химии. Направленный поиск новых лекарственных средств»). – Волгоград : ВолГМУ, 2012. – С. 148.

7. Кубиньи, Г.В поисках новых соединений-лидеров для создания лекарств / Г.В. Кубиньи // Российский химический журнал. – 2006. – Т. 1, № 2. – С. 5-17.

8. Либман, Е.С. Эпидемиологические аспекты инвалидности вследствие сосудистых поражений сетчатки / Е.С. Либман, Е.В. Шахова // Актуальные вопросы патологии глазного дна. – М. :Медицина, 1997. – С. 16-18.

9. Литвицкий, П.Ф. Патофизиология / П.Ф. Литвицкий. – М. : Медицина, 1995. – 751 с.

10. Самойленкова, Н.С. Роль АТФ-зависимых калиевых каналов в процессе гипоксического и ишемического прекондиционирования у крыс с фокальной ишемией мозга / Н.С. Самойленкова, С.А. Гаврилова, А.И. Дубина и др. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2007. – № 6(4). – С. 68-77.

11. Старосельцева, О.А. Использование фармакологического прекондиционирования никорандилом для коррекции эндотелиальной дисфункции на модели L-NAME-индуцированного

дефицита оксида азота (экспериментальное исследование) : автореф. дис. ... канд. мед. наук / О.А. Старосельцева. – Курск, 2012. – С. 18.

12. Цой, Ю.Р. Влияние диборнола на морфофункциональное строение сетчатки крыс при моделировании ишемии мозга / Ю.Р. Цой // Всероссийская 69-я итоговая научная студенческая конференция, посвященная 200-летию со дня рождения Н.И. Пирогова (Томск, 11-13 мая 2010 г.) : сб. статей / под ред. В.В. Новицкого, Л.М. Огородовой. – Томск : Сиб. гос. мед. ун-т, 2010. – С. 376-378.

13. Чен, З. Угнетение синтеза кальпаина с помощью ингибитора Е-64d в сетчатке глаза, подвергнутого ишемии/реперфузии / З. Чен // Молекулярная биология. – 2008. – Т. 42, № 2. – С. 258-264.

14. Чернух, А.М. Микроциркуляция / А.М. Чернух, П.Н. Александров, О.В. Алексеев. – М. : Медицина, 1975.– 456 с.

15. Botker, H.E. Remote ischaemic conditioning before hospital admission, as a complement to angioplasty, and effect on myocardial salvage in patients with acute myocardial infarction: a randomised trial / H.E. Botker, R. Kharbanda, M.R Schmidt // The Lancet. – 2010. –Vol. 375. – Iss. 9716. – P. 727-734.

16. Caiola, K. Use of Erythropoietin in Heart Failure Management The Annals of Pharmacotherapy. – 2004 – № 38(12). – P. 2145-2149.

17. Calvillo, L. Recombinant human erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury and promotes beneficial remodeling / L. Calvillo, R. Latini, J. Kajstura et al. // PNAS. – 2003. – P. 4802-4806.

18. Chong, Z.Z. Erythropoietin is a novel vascular protectant through activation of Akt l and mitochondrial modulation of cysteine proteases / Z.Z. Chong, J.Q. Kang, K. Maiese // Circ Res. – 2002. – № 106. – P. 2973-2979.

19. Demir, T. Trimetazidine for prevention of induced ischemia and reperfusion of guinea pig retina / T. Demir, B. Turgut, I. Ozercan / Clin Ophthalmol. – 2010. – Feb. № 2(4). – P. 21-26.

20. Gross, G.J. Mitochondrial KATP channels: triggers or distal effectors of ischemic or pharmacologic preconditioning? / Gross G.J., Fryer R.M. // Circ Res. – 2000. – № 87. – P. 431-433.

21. Horie, H. Angiographically documented coronary steal phenomenon evoked by the intracoronary infusion of bradykinin / H.Horie, T.Matsumoto, M.Takahashi et al. // Jpn Circ J. – 2001. – Feb. № 65(2). – P. 123-125.

22. Horinaka, S. Use of nicorandil in cardiovascular disease and its optimization / S. Horinaka // Drugs. – 2011. – № 71(9). – P. 1105-1119.

23. Javadov, S.A. Ischemic preconditioning inhibits opening of mitochondrial permeability transition pores in the reperfused rat heart/ S.A. Javadov, S. Clarke, M. Das // J Physiol - 2003. - №549(2). – pp. 513–4.

24. Jehle, T. Erythropoietin protects retinal ganglion cells and visual function after ocular ischemia and optic nerve compression / W.Meschede, R.Dersch // Ophthalmologe. – 2010. – Apr. № 107(4). – P. 347-353.

25. Kamphuis, W. Global gene expression profiling of ischemic preconditioning in the rat retina/ W. Kamphuis, F. Dijk, S. van Soest, A.A.B. Bergen // Molecular Vision. 2007; 13:1020-1030.

26. Li, Y. Retinal preconditioning and the induction of heat-shock protein / Y. Li, S. Roth, M. Laser et al. / Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2003. – № 44. – P. 1299-1304.

27. Liu, S.Q. Cardioprotective mechanisms activated in response to myocardial ischemia / S.Q.Liu, B.J.Tefft, D.Zhang et al. // Mol Cell Biomech. – 2011. – Dec. № 8(4). – P. 319-338.

28. Liu, X.Q. Resveratrol Mitigates Rat Retinal Ischemic Injury: The Roles of Matrix Metalloproteinase-9, Inducible Nitric Oxide, and Heme Oxygenase-1 / X.Q. Liu, B.J. Wu, W.H. Pan et al. / J Ocul Pharmacol Ther. – 2012. – Oct. № 17 [Epub ahead of print].

29. Malmberg, M. Intracoronary Levosimendan during Ischemia Prevents Myocardial Apoptosis / M. Malmberg, T. Vahasilta, A. Saraste // Front Physiol. – 2012. – № 3. – P. 17.

30. Modis, K. Adenosine and inosine exert cytoprotective effects in an in vitro model of liver ischemia-reperfusion injury / K. Modis, D. Gero, R. Stangl et al. // Int J Mol Med. – 2012. – Dec. [Epub ahead of print].

31. Mowat, F.M. Endogenous erythropoietin protects neuroretinal function in ischemic retinopathy / F.M. Mowat, F. Gonzalez, U.F. Luhmann et al. // Am J Pathol. – 2012. – Apr. № 180(4). – P. 1726-1739.

32. Murry, C.E. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium / C.E. Murry, R.B. Jennings, K.A. Reimer // Circulation. – 1986. – № 14. – P. 1124–1136.

33. Pain, T. Opening of mitochondrial K+ATP channels triggers the preconditioned state by generating free radicals/ T. Pain, X.-M. Yang, C.D. Critz et al. // Circ Res. – 2000. – № 87. – P. 460-466.

34. Post, H. Ischemic preconditioning. Experimental facts and clinical perspective / H. Post, G. Heusch // Minerva Cardioangiol. – 2002. – № 50(6.) – P. 569-605.

35. Preconditioning and postconditioning: underlying mechanisms and clinical application / D.J. Hausenloy, D.M. Yellon // Atherosclerosis. – 2009. – № 204(2). – P. 334-341.

36. Pulsinelli, W. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat / W.A. Pulsinelli, J.B. Brierley // Strok. – 1979. – Vol. 10, №3. – P. 267-272.

37. Raffiee, P. Activation of protein kinases in chronically hypoxic infant human and rabbit hearts: role in cardioprotection/ P. Raffiee, Y. Shi, X. Kong, et al. // Circulation. – 2002. – № 106. – P. 239-245.

38. Rezkalla, S.H. Preconditioning in humans / S.H. Rezkalla, R.A. Kloner // Heart Fail Rev. – 2007. – № . – P. 201-206.

39. Roth, S. Endogenous neuroprotection in the retina / S. Roth // Brain Res Bull. – 2004. – № 62. – P. 461-466.

40. Sommer, C. Neuronal plasticity after ischemic preconditioning and TIA-like preconditioning ischemic periods / C. Sommer // Acta Neuropathol. – 2009. – May. № 117(5). – P. 511-523.

41. Stenzel-Poore, M.P. Preconditioning reprograms the response to ischemic injury and primes the emergence of unique endogenous neuroprotective phenotypes: a speculative synthesis / M.P. Stenzel-Poore, S.L. Stevens, J.S. King et al. // Stroke. – 2007. – № 38. – P. 680-685.

42. Taha, M.O. L-arginine in the ischemic phase protects against liver ischemia-reperfusion injury / M.O. Taha, A. Caricati-Neto, R.M. Ferreira et al. // Acta Cir Bras. – 2012. – Sep. № 27(9). – P. 616-623.

43. Todosiichuk, V.V. Effect of dipyridamole on the phenomenon of ischemic preconditioning in patients with ischemic heart disease during paired bicycle ergometer tests / V.V. Todosiichuk, V.A. Kuznetsov // Kardiologiia. – 2005. – № 45(9). – P. 23-25.

44. Tramontano, A.F. Erythropoietin protects cardiac myocytes from hypoxia-induced apoptosis through an Akt-dependent pathway / A.F. Tramontano, R. Muniyappa, A.D. Black et al. // Biochem Biophys Res Commun. – 2003. – № 308. – P. 990-994.

45. Valen, G. Signal transduction through nuclear factor kappa B in ischemia-reperfusion and heart failure/ G. Valen // Basic Res Cardiol. – 2004. – № 99. – P. 1-7.

46. Whitlock, N.A. Heat shock protein 27 delays Ca2+-induced cell death in a caspase-dependent and -independent manner in rat retinal ganglion cells / N.A. Whitlock, K. Lindsey, N. Agarwal et al. // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2005. –№ 46. – P. 1085-1091.

47. Whitlock, N.A. Hsp27 upregulation by HIF-1 signaling offers protection against retinal ischemia in rats / N.A. Whitlock, N. Agarwal, J.X. Ma et al. // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2005. – № 46. – P. 1092-1098.

48. Yan, H. Effects of glutamine treatment on myocardial damage and cardiac function in rats after severe burn injury / H.Yan, Y.Zhang, L.Wang et al. // Int J Clin Exp Pathol. – 2012. – № 5(7). – P. 651-659.

49. Yu, T. Protective effects of pinacidil hyperpolarizing cardioplegia on myocardial ischemia reperfusion injury by mitochondrial KATP channels / T. Yu, X.Y. Fu, X.K. Liu et al. // Chin Med J. 2011. – Dec. № 124(24). – P. 4205-4210.

50. Yui, H. Comparative effects of verapamil, nicardipine, and nitroglycerin on myocardial ischemia/reperfusion injury / H.Yui, U.Imaizumi, H.Beppu et al. // Anesthesiol Res Pract. – 2011. – № 2. – P. 52.

51. Zhu, Y. Long-term tolerance to retinal ischemia by repetitive hypoxic preconditioning: role of HIF-1alpha and heme oxygenase-1 / Y .Zhu, Y. Zhang, B.A. Ojwang // Investig Ophthalmol Visual Sci. – 2007. – № 48. – P. 1735-1743.

PHARMACOLOGICAL PRECONDITIONING OF ISCHEMIC DAMAGE OF THE RETINA

A.A. ARUSTAMOVA
M.V. POKROVSKY
A.S. SHABELNIKOVA
A.S. KASHUBA
V.I. YAKUSHEV

Belgorod National Research University

e-mail: anny_87_@mail.ru

Fundamentally new opportunities for pathogenetic treatment and prevention of ischemic damage of the retina reveals phenomenon of pharmacological preconditioning. Identification and use of pharmacological agents with the effect of preconditioning may be a new approach in the correction and prevention of ischemia of retina in various systemic diseases.

Keywords: retinal ischemia, pharmacological preconditioning, nicorandil, ATP-dependent potassium channels.

УДК 615.322:615.038

КАРДИО- И ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА ПОЛИФЕНОЛОВ

Ж.С. ЛЕСОВАЯ
М.В. ПОКРОВСКИЙ

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: zhannalesovaya@yandex.ru

Многочисленными эпидемиологическими исследованиями показано, что повышенное потребление с пищей овощей и фруктов, богатых полифенольными соединениями, приводит к достоверному снижению преждевременной смертности от ряда заболеваний, прежде всего сердечно-сосудистых и онкологических. Вместе с тем, четкие доказательные механизмы, объясняющие данное утверждение, остаются невыясненными. Свидетельством того являются эпидемиологические исследования с разноречивыми результатами.

Ключевые слова: полифенолы, флавоноиды, катехины, эндотелий сосудов.

В настоящее время ведущей причиной заболеваемости и смертности в мире становятся кардиометаболические расстройства. Негативные привычки, неправильное питание, малоподвижный образ жизни способствуют развитию сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [20].

Целью данного обзора явилось обобщение последних исследований в области кардио- и эндотелиопротективных свойств различных групп полифенолов, содержащихся в пищевых продуктах, их биодоступности, механизма действия, а также перспективности их применения в лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы (ССС).

Многочисленные исследования показывают связь средиземноморской диеты с долголетием и высоким уровнем качества жизни. Действительно, благодаря обилию фруктов и овощей, умеренному потреблению вина средиземноморская диета обеспечивает поступление в организм большого количества полифенолов, предположительно необходимых биологически активных соединений, которые могут оказывать благотворное влияние на организм, в частности, на сердечно-сосудистую систему. Было установлено, что богатые полифенолами пищевые источники, такие как виноград-производные продукты, какао, чай, уменьшают среднее артериальное давление у больных с артериальной гипертензией [3, 5, 14, 21].

Ряд исследований доказывает, что употребление красного вина, содержащего большое количество полифенолов, вызывает стойкое улучшение функции эндотелия [7, 12].

Многочисленные исследования, проведенные за последние десять лет, подтверждают благотворное влияние полифенолов на здоровье, особенно на сердечно-сосудистую систему, в основном благодаря своим антиоксидантным свойствам [1, 4, 8, 12, 21].

Данные соединения обладают также сосудорасширяющим эффектом, могут улучшать липидный обмен и снижать уровень липопротеинов низкой плотности (ЛПНП). Они проявляют противовоспалительный эффект, могут изменять пути апоптоза клеток в эндотелии сосудов [15].

Последние патенты, касающиеся полифенолов винограда, отражают тенденцию к использованию натуральных биологически активных веществ (БАВ), с минимальным использованием тяжелых процессов их извлечения и органических растворителей. Использование натуральных растительных БАВ в клинических испытаниях самостоятельно или совместно с синтетическими препаратами получает все более широкое распространение [3].

Одной из важных задач многочисленных современных исследований является объяснение механизма защитного действия полифенолов на сосудистую стенку [1,2, 4, 5,9, 12, 14, 15, 18, 21, 22].

Так, один из механизмов благотворного влияния богатых полифенолами натуральных продуктов связан с их прямым воздействием на кровеносные сосуды, в частности, на эндотелиальные клетки.

Действительно, было показано, что полифенолы чая, винограда, ягод активируют эндотелиальные клетки, продуцирущие вазопротективные факторы, что проявляется в увеличении концентрации оксида азота (NO) в плазме и уровня экспрессии эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) [8, 16, 17].

Экспериментальные и клинические исследования также доказывают, что постоянное потребление богатых полифенолами натуральных продуктов способно улучшить

эндотелиальную дисфункцию и за счет уменьшения окислительного стресса, связанного с основными сердечно-сосудистыми заболеваниями, такими как гипертония [17].

Ежедневное потребление очищенной вытяжки антоцианов из кожицы красного винограда повышало общую концентрацию антиоксидантов в сыворотке крови крыс как в нормальных физиологических условиях, так и во время индукции окислительного стресса [10].

Некоторые исследования показывают, что экстракт винограда оказывает защитное действие на миокард при экспериментальных реперфузионных аритмиях, которые остаются одной из важных причин внезапной смерти [9, 13, 24].

Виноградные экстракты обладают мощным антиоксидантным свойствами in vitro. Но существует ряд исследований, свидетельствующих о том, что антиоксидантные свойства экстракта винограда проявляются неодинаково в условиях in vitro и in vivo [6, 22].

Так, в одном из экспериментов изучалось взаимодействие супероксид аниона с четырьмя различными полифенолами красного вина и этанолом. Скорости реакции были определены при 37°С и pH 7,4 с использованием методов конкурентных спиновых ловушек и электронной парамагнитной резонансной спектроскопии (ЭПР). Было установлено, что полифенолы могут оказывать эффект, только если содержание определенного чистого вещества достигает достаточно высокой концентрации в плазме крови. В концентрациях же, обнаруживающихся in vivo, «захват» супероксида полифенолами и этанолом является незначительным. Кроме того, инкубирование культивируемых клеток эндотелия с катехином, эпикатехином, галловой кислотой, кверцетином (5 мкмоль/л) или этанолом 0.05% (v/v) не вызывает существенного увеличения производства NO этими клетками. Таким образом, наблюдаемые антиатерогенные свойства флавоноидов, должно быть, вызваны и другим механизмом, помимо прямого «захвата» супероксид аниона и влияния на производство эндотелием NO [6].

Другим предметом широкого изучения являются полифенольные соединения чая [1, 11, 14, 18, 19, 21, 23].

Эпидемиологические исследования представляют убедительные данные о том, что потребление зеленого чая является компонентом профилактики сердечно-сосудистых заболеваний [11, 14, 21].

Ряд проведенных исследований имели целью определение конкретных компонентов флавоноид-содержащих напитков, обусловливающих эндотелиопротективные эффекты. Так, флавоноиды, содержащиеся в чае, могут быть разделены на два подкласса, флаван-3-олы (катехины) и флавонолы. Флаван-3-олы существуют в виде мономерных и полимерных форм. Мономеры флаван-3-олов, найденные в зеленом чае, включают, эпикатехин (ЭК), эпигаллокатехин (ЭГК), эпикатехингаллат (ЭКГ), и эпигаллокатехин галлат (ЭГКГ), тогда как полимерные формы включают теафлавины и теарубигины. Наиболее обильно содержание в чае флавонолов, включая кверцетин и кемпферол [1].

Так, изучение эндотелиопротективных эффектов эпикатехина (ЭК) выявило улучшение поток-опосредованной дилатации плечевой артерии и микроциркуляции на пальце, продолжительность которого наблюдалась в течение четырех часов после приема чистого ЭК [18].

Аналогичные результаты наблюдались также при применении ЭГКГ. Кроме того, в соответствии с результатами измерений концентрации ЭГКГ в плазме крови эффект не сохранялся в следующие две недели применения ЭГКГ дважды в день. Напротив, при применении чая эндотелиопротективный эффект наблюдался более продолжительно. Предположительно, более пролонгированное действие чая в сравнении с чистым ЭГКГ обусловлено за счет других компонентов чая [23].

Результаты других контролируемых исследований, проведенных у 340 испытуемых с документированным инфарктом миокарда, и 340 лиц контрольной группы показали, что в группе пациентов, употребляющих больше одной чашки чая в день, снижение риска сердечно-сосудистой патологии составило 44%. Потребление кофе не выявило достоверного снижения риска данных заболеваний [19].

Исследования механизма действия полифенолов чая показывают, что пигменты чая существенно тормозят окисление ЛПНП, индуцированное Cu2+, Fe2+ в эксперименте in vitro. Исследования in vivo, показали, что чай может предотвратить свертывание крови, способствуя растворению фибриногена, препятствует агрегации тромбоцитов, снижает уровень эндотелина, защищает ЛПНП-индуцированные повреждения в клетках эндотелия, и предотвращает атеросклероз коронарных артерий [4, 5].

Для определения молекулярного механизма регулирования гена ингибитора активатора плазминогена I-1 (PAI-1) полифенолами зеленого чая (ПЗЧ) эндотелиальные клетки аорты крупного рогатого скота инкубировались с ПЗЧ. PAI-1, как известно, играет ключевую роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, таких как атеросклероз и гипертония.

Повышенное содержание PAI-1 в плазме крови было определено при атеросклеротических поражениях сосудов, а также при ишемической болезни сердца. Экспрессия PAI-1 оценивалась методом иммуноблоттинга и иммуноферментного твердофазного анализа. При этом наблюдалось, что процесс секреции PAI-1 был значительно снижен и зависел от времени и дозы ПЗЧ. Подавление секреции PAI-1 заметно восстанавливало медикаментозно игибированную фосфатидилинозитол-3-киназу (PI3K). Кроме того, наблюдалось увеличение активации протеинкиназы Akt. Эти результаты свидетельствуют о том, что ПЗЧ препятствуют выходу PAI-1 из эндотелиальных клеток через PI3K/Akt пути, что может способствовать защите сердечно-сосудистой системы [11].

Другие исследования демонстрируют отсутствие положительного эффекта в лечении катехином взрослых мышей с развившимся атеросклерозом, связанным со старением сосудов, так как дислипидэмия вызывала необратимые нарушения сосудистой стенки. В частности, применение катехина увеличивало степень эндотелиальной дисфункции и усилило адгезию лейкоцитов в группе мышей старше 12 месяцев, в отличие от группы 9-месячных мышей, где, в результате такого же лечения, все сосудистые маркеры были нормализованы [2].

Выводы. В целом, наблюдения показывают, что богатые полифенолами натуральные продукты имеют потенциал для улучшения функционирования кровеносных сосудов и, следовательно, для защиты сосудистой системы, что свидетельствует об их фармакотерапевтической перспективе и предопределяет необходимость поиска и фармакологического изучения веществ из данной группы соединений. А также требуют дальнейшего изучения механизма их действия на различных экспериментальных моделях.

Литература

1. Erdman, J.W. Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop / J.W. Erdman, D. Balentine, L.Arab et al. // J. Flavonoids and Heart Health. – May 31-June 1. – 2005. – Washington. – D.C. J. Nutr. – Vol. 137. – P.718-737.

2. Gendron, M.E. Late chronic catechin antioxidant treatment is deleterious to the endothelial function in aging mice with established atherosclerosis / M.E. Gendron, J.F. Théorêt, A.M. Mamarbachi et al. // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2010. – Jun. Vol. 298(6). – P. 2062-2070.

3. Gollücke, A.P. Use of grape polyphenols for promoting human health: a review of patents / A.P. Gollücke, D.A. Ribeiro // Recent Pat Food Nutr Agric. – 2012. – Apr. Vol. 1, № 4(1). – P. 26-30.

4. Gresele, P. Resveratrol, at concentrations attainable with moderate wine consumption, stimulates human platelet nitric oxide production / P. Gresele, P. Pignatelli, G. Guglielmini et al. // J Nutr. – 2008. – Sep. Vol. 138(9). – P. 1602-1608.

5. Han, C. Studies on tea and health / C. Han // Wei Sheng Yan Jiu. – 2011. – Nov. Vol. 40(6). – P. 802-805.

6. Huisman, A. Wine polyphenols and ethanol do not significantly scavenge superoxide nor affect endothelial nitric oxide production / A. Huisman, A. Van De Wiel, T.J. Rabelink et al. // J Nutr Biochem. – 2004. – Jul. Vol. 15(7). – P. 426-32.

7. Idris Khodja, N. Grape-derived polyphenols improve aging-related endothelial dysfunction in rat mesenteric artery: role of oxidative stress and the angiotensin system / N. Idris Khodja, T. Chataigneau, C. Auger et al. // PLoS One. – 2012. – № 7(2). – P. 320-339.

8. Khoo, N.K. Dietary flavonoid quercetin stimulates vasorelaxation in aortic vessels / N.K. Khoo, C.R. White, L. Pozzo-Miller et al. // Free Radic Biol Med. 2010. – Aug. Vol. 1, № 49(3). – P. 339-347.

9. Liang, Y. Protective effect of grape seed proanthocyanidins extracts on reperfusion arrhythmia in rabbits / Y. Liang, J. Qiu, H.Q. Gao et al. // J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). – 2009. – Jun. № 55(3). – P. 223-230.

10. Lionetto, M.G. Effect of the daily ingestion of a purified anthocyanin extract from grape skin on rat serum antioxidant capacity / M.G. Lionetto, M.E. Giordano, A. Calisi et al. // Physiol Res. – 2011. – № 60(4). – P. 637-645.

11. Liu, J. Green tea polyphenols inhibit plasminogen activator inhibitor-1 expression and secretion in endothelial cells / J. Liu, C. Ying, Y. Meng et al. // Blood Coagul Fibrinolysis. – 2009. – Oct. № 20(7). – P. 552-557.

12. Mulvihill, E.E. Citrus flavonoids and the prevention of atherosclerosis / E.E. Mulvihill, M.W. Huff // Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets. – 2012. – Oct. № 1.

13. Oliboni, L.S. Hepatoprotective, cardioprotective, and renal-protective effects of organic and conventional grapevine leaf extracts on Wistar rat tissues / L.S. Oliboni, C. Dani, C. Funchal et al. // An Acad Bras Cienc. – 2011. – Dec. № 83(4). – P. 1403-1411.

14. Pasten, C. Polyphenols downregulate PAI-1 gene expression in cultured human coronary artery endothelial cells: molecular contributor to cardiovascular protection / C. Pasten, N.C. Olave, L. Zhou et al. // Thromb Res. – 2007. – № 121(1). – P. 59-65.

15. Quiñones, M. The polyphenols, naturally occurring compounds with beneficial effects on cardiovascular disease / M. Quiñones, M. Miguel, A. Aleixandre // Nutr Hosp. – 2012. – Jan-Feb. № 27(1). – P. 76-89.

16. Schini-Kerth, V.B. Polyphenol-induced endothelium-dependent relaxations role of NO and EDHF / V.B. Schini-Kerth, C. Auger, N. Etienne-Selloum et al. // Adv Pharmacol. – 2010. Vol. 60. – P. 133-175.

17. Schini-Kerth, V.B. Vascular protection by natural product-derived polyphenols: in vitro and in vivo evidence / V.B. Schini-Kerth, N. Etienne-Selloum, T. Chataigneau et al. // Planta Med. – 2011. – Jul. № 77(11). – P. 1161-1167.

18. Schroeter, H. Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans / H. Schroeter, C. Heiss, J. Balzer et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 2006. – Vol. 103. – P. 1024-1029.

19. Sesso, H.D. Coffee and tea intake and the risk of myocardial infarction / H.D. Sesso, J.M. Gaziano, J.F. Buring et al. // Am. J. Epidemiol. – 1999. – Vol. 149. – P.162-167.

20. Soory, M. Nutritional antioxidants and their applications in cardiometabolic diseases / M.Soory // Infect Disord Drug Targets. – 2012. – Nov. № 16.

21. Stoclet, J.C. Vascular protection by dietary polyphenols / J.C. Stoclet, T. Chataigneau, M. Ndiaye et al. // Eur J Pharmacol. – 2004. – Oct. Vol. 1, № 500(1-3). – P. 299-313.

22. Veskoukis, A.S. The antioxidant effects of a polyphenol-rich grape pomace extract in vitro do not correspond in vivo using exercise as an oxidant stimulus / A.S. Veskoukis, A. Kyparos, M.G. Nikolaidis et al. // Oxid Med Cell Longev. – 2012. – P. 1858-1867.

23. Widlansky, M. E. Acute EGCG supplementation reverses endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease / M.E.Widlansky, N.M. Hamburg, E. Anteret al. // J. Am. Coll. Nutr. – 2007. – Vol. 26. – P.95-101.

24. Zhao, G. The molecular mechanism of protective effects of grape seed proanthocyanidin extract on reperfusion arrhythmias in rats in vivo / G. Zhao, H. Gao, J. Qiu et al. // Biol Pharm Bull. – 2010. –№ 33(5). – P. 759-767.

CARDIO- AND ENDOTHELIOPROTECTIVE PROPERTIES OF POLYPHENOLS

ZH.S. LESOVAYA
M.V. POKROVSKIY

Belgorod National Research University

e-mail: zhannalesovaya@yandex.ru

Numerous epidemiological studies show that high dietary intake of vegetables and fruits, rich in polyphenol compounds leads to a significant reduction in the rate of premature mortality from a number of diseases, especially cardiovascular disease and cancer. However, clear evidence mechanisms that explain this statement remain undefined. Evidence of this are epidemiological studies with mixed results.

Keywords: polyphenols, flavonoids, catechins, vascular endothelium.

УДК 615.225.2

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ АЛЬФА-ЛИПОЕВОЙ (ТИОКТОВОЙ) КИСЛОТЫ

О.В. МОЛЧАНОВА
В.И. КОЧКАРОВ
М.В. ПОКРОВСКИЙ
Т.Г. ПОКРОВСКАЯ
М.В. КОРОКИН
О.С. ГУДЫРЕВ

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: kochkarov@bsu.edu.ru

Альфа-липоевая кислота (АЛК) является необходимым кофактором для многих митохондриальных ферментов в процессе анаболизма и катаболизма альфа-кетокислот и аминокислот. АЛК участвует в реакциях переноса ацильных групп, взаимодействует и восстанавливает эндогенный глутатион. АЛК способна захватывать свободные радикалы, регулировать связывание тяжёлых металлов. АЛК предупреждает сердечно-сосудистую патологию, снижает эндотелиальную дисфункцию. АЛК эффективна при хронических заболеваниях, связанных с оксидативным стрессом, который присутствует и при сахарном диабете. Была показана эффективность АЛК как при первом, так и при втором типе диабета в предупреждении и лечении различных патологических состояний, ассоциированных с диабетом, таких как полинейропатия. АЛК была одобрена для лечения алкогольной нейропатии и заболеваний печени. В различных экспериментальных исследованиях на животных была продемонстрирована эффективность АЛК в снижении лекарственной гепатотоксичности.

Ключевые слова: альфа-липоевая кислота, ко-фактор, антиоксидант, оксидативный стресс, диабет, свободные радикалы, эндотелиальная дисфункция, полинейропатия, лекарственная гепатотоксичность.

Бактериолог Irwin C. Gunsalus в 1948 г. при изучении аэробных бактерий обнаружил прекращение их роста в отсутствии некого соединения, которое вначале получило название пируват оксидантного фактора. Впоследствии в 1951 г. данное соединение было выделено в кристаллическом виде из экстракта говяжьей печени американским биохимиком Lester Reed, и установлена его структура как альфа-липоевая (α-ЛК) или тиоктовая кислота [15].

Основная функция липоевой кислоты (α-ЛК) – прямое участие в углеводном обмене, а именно, в аэробном метаболизме продукта гликолиза – пирувата. α-ЛК является коферментом в окислительном декарбоксилировании пировиноградной кислоты до ацетил-КоА и а-кетоглутаровой до сукцинил-КоА (в цикле Кребса) [1]. Облегчая, таким образом, превращение молочной кислоты в пировиноградную с последующим декарбоксилированием последней, α-ЛК способствует ликвидации метаболического ацидоза.

Липоевая кислота играет важную роль в липидном обмене. α-ЛК обладает положительным липотропным действием, облегчая перенос ацетата и жирных кислот из цитозоля в матрикс митохондрий для последующего окисления за счёт повышения выработки ко-энзима А (КоА) [4]. ЛК сдвигает спектр липидов крови в сторону ненасыщенных жирных кислот, понижает содержание холестерина и насыщенных жирных кислот в крови, предотвращая развитие атеросклероза.

Липоевая кислота может существовать в окисленной (-S-S-) и восстановленной (SH-)-формах, благодаря чему реализуются её коферментные и антиоксидантные функции. Восстановленная форма, дигидролипоевая кислота (ДГЛК) служит донором электронов для восстановления других антиоксидантов (витамина С, витамина Е и глутатиона), а в условиях массивного окисления мембран ДГЛК осуществляет рецикл витамина Е при его истощении. Альфа-липоевая кислота повышает интра- и экстрацеллюлярный уровни глутатиона в Т-клеточных культурах, эритроцитах человека, глиальных клетках и лимфоцитах периферической крови [8].

α-ЛК и ДГЛК захватывают свободные радикалы: эффективно нейтрализуют пероксильный и гидроксильный радикалы, а также радикал кислорода. Более того, альфа-липоевая кислота образует комплексы с марганцем, цинком, кадмием, свинцом, кобальтом, никелем и железом, выводит из тканей ртуть, медь и мышьяк [7, 16].

В настоящее время выпускается несколько препаратов, содержащих липоевую кислоту и различные её соли (этилендиаминовую, трометамоловую, меглюминовую). Использование

солей тиоктовой кислоты в растворах для в/в введения (имеющих нейтральную реакцию) позволяет уменьшить выраженность побочных явлений.

На данный момент появилась новая форма препарата – Тиоктацид БВ (таблетки 600 мг), основной особенностью которого является быстрое всасывание из желудочно-кишечного тракта. Пик его концентрации в плазме достигается через 25 минут после перорального приёма, что сопоставимо с внутривенным введением. Побочные эффекты при применении Тиоктацида БВ, как правило, отсутствуют; в редких случаях отмечаются аллергические реакции, диспепсические расстройства (тошнота, рвота), проходящие при снижении дозы или отмене препарата.

Все вышеперечисленные реакции лежат в основе протективного действия дигидролипоевой кислоты, обеспечивают её лечебный эффект и обусловливают широкий нозологический спектр использования препаратов α-липоевой кислоты.

Применение α-ЛК при заболеваниях печени началось в 50–60-е годы прошлого столетия [12, 14].

Основными биологическими свойствами α-ЛК, обусловливающими её применение в гепатологии, являются:

– декарбоксилирование α-кетокислот (энергообеспечение клетки и профилактика развития кетоацидоза);

– снижение концентрации жирных кислот, общего холестерина и его эфиров в плазме;

– антиоксидантный эффект (связывание свободных радикалов, свободного тканевого железа, восстановление глутатиона);

– подавление синтеза оксида азота гепатоцитами (профилактика и купирование реологических расстройств и сосудистых нарушений);

– радиопротекторное действие.

Благодаря свойствам α-липоевой кислоты восстанавливать запасы глутатиона, предотвращать повреждение митохондрий, высвобождение цитохрома и гибель клеток, обусловленную воздействием фактора некроза опухоли (TNF-α), назначение α-липоевой кислоты патогенетически обосновано при лечении токсических заболеваний печени. Предварительное назначение липоевой кислоты в дозе 75 мг/кг/сутки за 24 часа до в/в введения адриамицина крысам в эксперименте восстанавливало клеточную активность и, таким образом, значительно уменьшало гепатотоксичность адриамицина [13]. В другом наблюдении α-ЛК в дозе 100 мг/кг при пероральном применении предотвращала гибель крыс от смертельных доз ацетаминофена [6].

В случае повреждения печени медью альфа-липоевая кислота связывает Cu^{2+} в липопротеинах, ингибируя Cu-индуцированную пероксидацию липопротеинов низкой плотности [13]. α-ЛК также связывает Fe^{2+}, вытесняя белок или витамин С. Кадмий, мышьяк и ртуть имеют схожие механизмы повреждения клеток: ингибирование митохондриальных ферментов, подавление синтеза белка и продукции свободных радикалов. Все три металла имеют сильный аффинитет к сульфгидрил-содержащим лигандам, таким как α-ЛК и глутатион, значительно снижая уровень последнего. Назначение α-ЛК приводит к значительному изменению распределения этих металлов в ткани печени, повышая жизнеспособность клеток [13].

Индуцированные алкоголем поражения печени включают гепатоз, стеатогепатит, острый и хронический гепатит, цирроз печени. Повреждающее действие алкоголя на печень опосредуется различными механизмами, но все они, в конечном итоге, приводят к образованию огромного количества свободных радикалов, индуцирующих перекисное окисление липидов клеточных мембран. Механизм защитного действия α-ЛК при алкогольных поражениях печени связан со снижением концентрации токсических продуктов метаболизма этанола, увеличением соотношения НАДН/НАД, снижением пероксидации липидов, повышением синтеза глутатиона, приводящим к преобладанию активности антиоксидантных систем над процессами свободнорадикального окисления.

В клинических испытаниях, особенно интенсивно проводившихся в последние десятилетия прошлого века, использовались низкие дозы α-ЛК – не более 300 мг в сутки. Однако даже в этих дозировках была показана эффективность α-ЛК на всех стадиях алкогольной болезни печени. В настоящее время доказана безопасность более высоких доз альфа-липоевой кислоты – до 1200 мг в сутки. Клиническое наблюдение 61 пациента с алкогольным гепатитом (АГ), проведённое Ю.А. Кравчуком, показало эффективность применения α-ЛК (600 мг/сут) в комбинированной терапии АГ, проявляющуюся снижением выраженности жировой дистрофии гепатоцитов и индекса гистологической активности процесса [11].

Применение α-ЛК может быть рассмотрено также как препарата «первой линии» в составе комбинированной противовирусной терапии (препараты α-ИФН + рибавирин при

хроническом гепатите С – ХГ С); и с аналогами нуклеозидов – при хроническом гепатите В), а также в комбинации с гепатопротекторами в случае противопоказаний или неэффективности противовирусной терапии. Заслуживает внимание клиническое исследование, проведённое в Израиле, показавшее высокую эффективность антиоксидантов в монотерапии ХГ С [14]. Пятьдесят больных ХГ С получали ряд антиоксидантов per os ежедневно (глицирризин, силимарин, аскорбиновая кислота, альфа-липоевая кислота, L-глутатион и альфа-токоферол), а также глицирризин, аскорбиновую кислоту, L-глутатион и В-комплекс в/в два раза в неделю в течение 20 недель. Нормализация активности аминотрансфераз отмечалась у 44% пациентов, снижение вирусной нагрузки более чем на один логарифм – у 25%, улучшение гистологической картины (уменьшение ИГА более чем на 2 балла) – у 36,1% больных.

Кроме того, было доказано, что липоевая кислота, снижая содержание аммиака в крови, уменьшает проявления печеночной энцефалопатии у больных с гипераммониемией, обусловленной прямым портокавальным анастомозом. Положительный терапевтический эффект отмечен на 4–11-й день приёма липоевой кислоты в дозе 600 мг/сут. Благодаря липофильным свойствам α-ЛК может легко проникать через гематоэнцефалический барьер и нейтрализовать продукты перекисного окисления липидов в центральной нервной системе. В экспериментах на животных было показано, что α-ЛК и ДГЛК предотвращают гибель нейронов при экспериментальной ишемии и последующей реперфузии. Это объясняется тем, что α-ЛК значительно повышает концентрацию глутатиона в нервной ткани, тем самым защищая нейроны от токсичных перекисей. При инфекционном и токсическом поражении печени а-липоевая кислота подавляет синтез NO гепатоцитами, что спобствует улучшению периферического кровообращения [2].

Положительные результаты выявлены при применении α-ЛК при неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП**).** НАЖБП включает стеатоз печени, неалкогольный стеатогепатит, цирроз печени. Липоевая кислота участвует в процессах окисления жирных кислот в митохондриях, что, помимо энергообеспечения клетки, уменьшает содержание в ней субстратов для синтеза триглицеридов и, тем самым, предупреждает развитие жировой дистрофии печени.

НАЖБП часто сочетается с инсулинорезистентностью, сахарным диабетом и ожирением. Было показано, что альфа-липоевая кислота снижает накопление липидов в скелетных мышцах путём активации аденозин монофосфат протеинкиназы (AMPK). α-ЛК уменьшает стеатоз печени и экспрессию регуляторно связывающего стерол протеина-1с (SREBP-1c). α-ЛК повышает фосфорилирование AMPK в печени и культуре печеночных клеток, ингибирует ДНК-связанную активность и транскрипционную активность протеина 1 и печёночного Х-рецептора. Таким образом α-ЛК предотвращает развитие и уменьшает проявления жировой болезни печени у больных с инсулинорезистентностью [17].

Необходимо отметить также эффективность и безопасность препаратов α-липоевой кислоты при лечении диабетических полинейропатий [19].

В 1999 г. Диабетическим обществом врачей Германии было признано, что α-липоевая кислота является единственным средством с доказанной эффективностью в лечении диабетической нейропатии (ДН). До настоящего времени остается не установленным окончательно, покрываются ли потребности человеческого организма в α-липоевой кислоте за счет пищи, за счет продуцирования микроорганизмами кишечника или она синтезируется эндогенно.

Клиническое использование α-липоевой кислоты при ДН основано на множестве биохимических и физиологических эффектов этого вещества. α-липоевая кислота усиливает эндоневральный кровоток, предотвращая ингибирование NO-синтетазы, и таким образом предупреждает ишемическое повреждение нервной ткани; ускоряет процесс проведения импульса по нерву и нормализует уровни глутатиона [3, 9, 10]. Известно, что при оксидативном стрессе происходит активация фактора транскрипции NF -kB, который стимулирует выработку эндотелина-1 и тканевого эндотелиального фактора (важные составляющие патогенеза ДН). α-липоевая кислота предотвращает обусловленную свободными радикалами активацию транскрипционного фактора NF -kB, а значит, играет важную роль в предотвращении развития ДН благодаря своему защитному влиянию при эндотелиальной дисфункции [3, 10]. α-липоевая кислота вносит свой вклад также в предотвращение повреждения нервов при оксидативном стрессе, увеличивая уровень поглощения глюкозы в эндоневрии, повышая активность супероксиддисмутазы и супероксидкаталазы. Было показано, что назначение α-липоевой кислоты больным с СД II типа увеличивает уровень инсулинзависимой утилизации глюкозы и, таким образом, снижает периферическую резистентность к инсулину. Также обнаружено, что α-липоевая кислота обладает способностью ингибировать глюконеогенез в печени [10]. По приведенным и другим наблюдениям, у значительного большинства больных α-липоевая кислота снижает уровень

требуемой дозы инсулина и оральных гипогликемических препаратов [5, 10].

В 1990-е годы эффекты α-липоевой кислоты при периферической и кардиоваскулярной автономной нейропатии были изучены в ходе рандомизированных, двойных слепых, многоцентровых, плацебоконтролируемых исследований, посвященных эффективности и безопасности препарата.

Эффективность α-липоевой кислоты при периферической нейропатии впервые была оценена в ходе исследования ALADIN (Alpha-Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy) [10, 18]. Это трехнедельное исследование было проведено у 328 больных диабетом II типа с полинейропатией. α-липоевая кислота назначалась в форме внутривенных инфузий в трех разных дозовых уровнях (100, 600 и 1200 мг). Участники исследования были рандомизированы либо по этим трем группам, либо вошли в группу плацебо-контроля. Интенсивность и частота возникновения боли и других вариантов сенсорных нарушений оценивались с помощью анкет, заполнявшихся в начале и в ходе наблюдения. Порог вибрационной чувствительности определялся с помощью камертона; кроме этого, оценивалась тепловая чувствительность. Эффективность дозы α-липоевой кислоты 100 мг оказалась на уровне плацебо-контроля, в то время как эффект больших доз был более значительным по всем параметрам. Дозы α-липоевой кислоты 600 и 1200 мг приводили к ослаблению сенсорных нарушений любого происхождения, а также боли. При обеих этих дозах было отмечено значительное улучшение тепловой чувствительности и нормализация порога вибрационной чувствительности. Число больных, у которых был зарегистрирован ответ на применение α-липоевой кислоты, было максимальным (82,5%) в группе, получавшей ежедневно дозу в 600 мг [10]. Важным является тот факт, что эффективность дозы 1200 мг ежедневно не превосходила эффективности дозы 600 мг; однако при первом дозовом режиме в значительной степени повышенной оказалась частота гастроинтестинальных побочных эффектов. Доза 600 мг оказалась эффективной и хорошо переносилась, а частота вызываемых ею побочных эффектов не превышала уровня группы плацебо-контроля. Таким образом, результаты исследования ALADIN подтвердили эффективность краткосрочного парентерального применения α-липоевой кислоты при диабетической периферической нейропатии.

Исследование ALADIN II было проведено с целью оценки влияния длительного (2 года) орального применения α-липоевой кислоты на симптомы и электрофизиологические параметры периферической нейропатии при диабете I и II типа [10]. Участники были рандомизированы в группы, получавшие α-липоевую кислоту в дозах 600 или 1200 мг, или в группу плацебо-контроля. Анализ результатов показал большой разброс значений в данных разных центров, участвовавших в исследовании. Для проведения анализа результатов были приглашены независимые исследователи, которые отобрали данные лишь 65 больных. В обеих группах, получавших активную терапию, электрофизиологические параметры значительно улучшились по сравнению с данными группы, получавшей плацебо [10].

ALADIN III — плацебоконтролируемое исследование, проводившееся с участием 509 больных диабетом II типа с периферической полинейропатией. На основании опыта, приобретенного в ходе двух предыдущих испытаний, за первыми тремя неделями лечения дозой 600 мг внутривенно следовало назначение дозы 1800 мг перорально на 6 месяцев. Подобная терапия привела к значимому улучшению объективных симптомов нейропатии по сравнению с плацебо, но не оказала никакого заметного влияния на субъективные симптомы. Было найдено две причины этого: а) описание клинических проявлений часто проводилось людьми без высшего образования, что привело к значительным расхождениям в данных разных центров; б) значительное улучшение, зарегистрированное в плацебо-группе. Доля больных с положительным ответом в группе плацебо-контроля в исследовании ALADIN III превышала таковую в исследовании ALADIN. Авторы данного мультицентрового исследования установили, что ослабление объективных нарушений при нейропатии является более важным эффектом, нежели облегчение субъективных проявлений [10].

В исследовании ORPIL (Oral Pilot – оральное пилотное исследование) с участием 24 больных диабетом II типа с клинической нейропатией проводилась оценка эффективности и безопасности краткосрочного (3 нед) лечения высокими дозами (1800 мг/день) α-липоевой кислоты. И объективные признаки, и субъективные симптомы были достоверно ослаблены при сравнении с плацебо. Несмотря на это, частота возникновения побочных эффектов была одинаковой и в группе больных, получавших активную терапию, и в группе плацебо-контроля.

В исследовании DEKAN (Deutsche Kardiale Autonome Neuropathie) были изучены эффекты α-липоевой кислоты у 73 больных с диабетом II типа и кардиоваскулярной автономной нейропатией. α-липоевая кислота назначалась ежедневно в дозе 800 мг в течение 4 мес. Учет кардиоваскулярной формы ДАН производился с помощью мониторинга изменений наиболее чувствительного параметра — вариабельности ЧСС. Лечение α-липоевой кислотой привело к достоверному улучшению состояния больных. Спектральный анализ показал

увеличение вариабельности сердечного ритма по сравнению с исходными данными. Кроме того, впервые была отмечена положительная динамика интервала QT [10].

Выводы, сделанные в результате многоцентровых исследований эффективности α-липоевой кислоты при лечении ДН, заключаются в следующем. Краткосрочная (3-недельная) внутривенная терапия α-липоевой кислотой ослабляет субъективные симптомы так же хорошо, как и объективные проявления нейропатии.

Результаты исследования ORPIL позволяют предположить, что благоприятное воздействие парентерально вводимой дозы 600 мг/день α-липоевой кислоты аналогично 3-недельному пероральному ее приему в высоких дозах (1800 мг/день). Длительное пероральное применение α-липоевой кислоты приводит к значительному снижению симптомов нейропатии. Длительное пероральное применение α-липоевой кислоты облегчает клинические проявления и ослабляет объективные нарушения, связанные с кардиоваскулярной нейропатией. α-липоевая кислота является эффективным и безопасным средством при длительном применении [10].

Таким образом, альфа-липоевая кислота, являясь естественным антиоксидантом, оказывает влияние на клеточный метаболизм на различных уровнях. Высокая эффективность, хорошая переносимость, отсутствие или малая выраженность побочных эффектов являются факторами, определяющими её выбор в лечении больных с хроническими заболеваниями печени, сахарным диабетом, при различных интоксикациях, поражениях периферической нервной системы.

Литература

1. Березов, Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – М. : Медицина, 1990. – 528 с.
2. Козачок, Н.Н. Применение липоевой кислоты (берлитиона) в клинической практике / Н.Н. Козачок, М.Н. Селюк // Мистецтво лікування. – 2003. – № 5. – С. 75-77.
3. Состояние эндогенных протекторных систем у больных инсулинзависимым сахарным диабетом с полинейропатией: эффект антиоксидантной терапии / И.А. Строков, Е.Б. Манухина, Л.Ю. Бахтина [и др.] // Бюл. эксп. биол.и мед. — 2000. — Т. 130, № 10.— С. 437-440.
4. Шульпекова, Ю.О. Применение тиоктовой кислоты в гастроэнтерологии / Ю.О. Шульпекова, В.Т. Ивашкин // РМЖ. – 2000. – Т. 8, № 15, 16.
5. Эффективность внутривенного введения трометамоловой соли тиоктовой (α-липоевой) кислоты при диабетической невропатии / И.А. Строков, Н.А. Козлова, Ю.В. Мозолевский [и др.] // Журн. неврол. и психиатр. – 1999. – Т. 99, № 6. – С. 18-22.
6. Abdel-Zaher, A.O. The potential protective role of alpha-lipoic acid against acetaminophen-induced hepatic and renal damage / A.O. Abdel-Zaher, R.H. Abdel-Hady, M.M. Mahmoud [et al.] // Toxicology. – 2008. – Jan 20. – № 243(3). – P. 261-270.
7. Gregus, Z. Effects of lipoic acid on biliary excretion of glutatione and metals / Z. Gregus, A. Stein [et al.] // Toxicol Appl Pharmacol. – 1992. – № 114. – P. 88-96.
8. Han, D. Lipoic acid increases de novo synthesis of cellular glutathione by improving cystine utilization / D. Han, G. Haddelman, L. Marcocci [at al.] // Biofactors. – 1997. – № 6. – P. 321-338.
9. In vivo effect of lipoic acid on lipid peroxidation in patients with diabetic neuropathy / L. Androne, N.A. Gavan, I.A. Veresiu, R. Orasan // In vivo. — 2000. — Vol. 14. — P. 327-330.
10. Kempler, P. Neuropathies. Pathomechanism, clinical presentation, diagnosis, therapy / Ed. by P. Kemple. — Budapest : Springer, 2002. — 208 p.
11. Kravchuk, J.A Device laboratory and postmortem parallels in alcoholic hepatitis during combined therapy using thioctic (alpha-lipoic) acid / J.A. Kravchuk, S.N. Mekhtiev, J.P. Uspenskii [et al.] // Klin Med. – 2004. – № 82(6). – P. 55-57.
12. Loginov, A.S. Treatment of chronic liver disease with lipoic acid / A.S. Loginov, Z.S. Isakova, M.S. Bakumenko, I.I. Iutanova // Klin Med (Mosk). – 1967. – Aug. – № 45(8). – P. 58-61.
13. Lyn Patrick. Mercury toxicity and antioxidants: part I: role of glutathione and alpha-lipoic acid in the treatment of mercury toxicity / Alternative Medicine Review. – 2002. – Vol. 7. – № 6. – P. 456-471.
14. Melhem, A. Treatment of chronic hepatitis C virus infection via antioxidants: results of a phase I clinical trial / A. Melhem, M. Stern, O. Shibolet [et al.] // J Clin Gastroenterol. – 2005. – Sep. – № 39(8). – P. 737-742.
15. O'Kane, D.J. Pyruvic acid metabolism: a factor required for oxidation by streptococcus faecalis / D.J. O'Kane, I.C. Gunsalus // J. Bacteriol. – 1948. – № 56. – P. 499-506.
16. Ou, P. Thioctic (lipoic) acid: a therapeutic metal-chelating antioxidant? / P. Ou, H. Tristschler [et al.] // Biochem Pharm. – 1995. – № 50. – P. 123-126.
17. Park, K.G. Alpha-lipoic acid decreases hepatic lipogenesis through adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK)-dependent and AMPK-independent pathways / K.G. Park, A.K. Min, E.H. Koh [et al.] // Hepatology. – 2008. – Nov. – № 48(5). – P. 1477-1486.
18. Treatment of symptomatic peripheral neuropathy with the anti-oxidant α-lipoic acid / D. Ziegler, M. Hanefeld, K.J. Ruhnau, F.A. Gries and the ALADIN Study Group // Diabetol. — 1995. — Vol. 38. — P. 1425-1433.

19. Van Dan, P.S. Oxidative stress and antioxidant treatment in diabetic neuropathy / P.S. Van Dan, D. Bravenboer // Neuroscience Res. Communicat. — 1997. — Vol. 21, № 1. — P. 41-48.

ALPHA-LIPOIC (THIOCTIC) ACID PHARMACOLOGICAL EFFECTS

O.V. MOLCHANOVA
V.I. KOCHKAROV
M.V. POKROVSKIY
T.G. POKROVSKAYA
M.V. KOROKIN
O.S. GUDYREV

Belgorod National Research University

e-mail: kochkarov@bsu.edu.ru

Alpha-lipoic acid (ALA) is an essential cofactor for several mitochondrial enzyme complexes in energy production and the catabolism of alpha-keto acids and amino acids. ALA is involved in acyl-group transfer reactions, interacts with and recycles endogenous glutathione. ALA exhibits the ability to scavenge free radicals, regulate the detoxification of heavy metals. ALA prevents a cardiovascular disease, reduces an endothelial dysfunction. ALA treats chronic diseases associated with an oxidative stress, which is presented in the diabetic state too. ALA was shown to be beneficial in cases of the 1st and the 2nd types of diabetes, preventing and treating various pathologies associated with such disease as the polyneuropathy. ALA is approved as a drug for the treatment of alcoholic polyneuropathies and liver diseases. The efficiency of ALA in reducing drug hepatotoxicity was also demonstrated by different researches of experimental animals.

Keywords: alpha-lipoic acid, cofactor, antioxidant, oxidative stress, diabetes, free radicals, endothelial dysfunction, polyneuropathy, drug hepatotoxicity.

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616-01/09

БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ИОННОГО КАНАЛА TRPA1 ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

Е.А. БЕСХМЕЛЬНИЦЫНА
М.В. ПОКРОВСКИЙ
М.В. КОРОКИН
В.И. ЯКУШЕВ
О.С. ГУДЫРЕВ

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: evgeny_b89@mail.ru

Ионный канал TRPA1 является мишенью для действия таких веществ, как горчичное масло и чеснок. Не исключается роль TRPA1 в реализации температурной (холодовой) и болевой чувствительности, боли воспаления, а также в слухе. TRPA1 также является мишенью для таких внешних раздражителей, как акролеин (входит в состав слезоточивого газа и оказывает токсическое и воспалительное действие), выхлопные газы и побочные продукты метаболизма химиотерапевтических препаратов. Нокаут гена TRPA1 у мышей не оказывает влияния на холодовую чувствительность или функцию слухового аппарата, что позволяет предположить отсутствие его влияния на первоначальную идентификацию холода и звука, но в то же время у таких мышей отмечается снижение чувствительности к брадикинину, выражающееся в уменьшении болевого синдрома. Последние данные свидетельствуют о том, что TRPA1 является хемосенсором и активируется как экзогенными, так и эндогенными химически активными веществами, которые образуются в условиях воспаления или при повреждении тканей. Таким образом, TRPA1 является важным звеном в цепи передачи ноцицептивной информации при воздействии эндогенных и экзогенных болевых агентов.

Ключевые слова: ионный канал TRP, TRPA1, боль, ноцицепция, воспаление, формалин, анальгезия, нейропатия, HC-030 031, AP-18.

Первый ионный канал TRP (Transient Receptor Potential) был выделен у дрозофилы. В дальнейшем сходные по структуре белки были обнаружены и у некоторых других биологических видов, включая дрожжи, C. elegans и млекопитающих. У млекопитающих надсемейство ионных каналов TRP подразделяется на 6 семейств с широким спектром физиологических функций: TRPV (Transient Receptor Potential Vanilloid), TRPM (Transient Receptor Potential Melastatin), TRPP (Transient Receptor Potential Polycystic), TRPC (Transient Receptor Potential Cation Channel, subfamily C), TRPML (Transient Receptor Potential Mucolipin) и TRPA (Transient Receptor Potential Ankyrin) [11]. В отличие от других ионных каналов семейства TRP, TRPA1 имеет длинный N-конец, содержащий цистеин и состоящий из 18 повторяющихся анкириновых доменов.

Экспрессия TRPA1 в большей степени выражена в ноцицепторах, в особенности в сенсорных нейронах малого диаметра, локализующихся в задних корешках спинного мозга, тройничном, нодозном и яремном ганглиях [17, 38], а по некоторым данным, ионный канал был также обнаружен в кератиноцитах и некоторых эпителиальных клетках [7, 20]. Однако функции, которые TRPA1 выполняет в организме, достоверно не установлены, так как если одна часть авторов утверждает об увеличении экспрессии TRPA1 при таких состояниях, как

воспаление и нейропатия [15, 37], то другая утверждает, что экспрессия остается на прежнем уровне, а иногда даже снижается [9, 30].

Сегодня в литературе все чаще начинают появляться данные о возможности применения селективных ингибиторов TRPA1 с целью купирования болевого синдрома. Первыми такими препаратами, проявляющими активность в дозе ниже 1 мкмоль, стали HC-030 03 и AP-18[25], они легли в основу большинства фармакологических исследований антагонистов TRPA1 in vivo. Позже появились и другие соединения, такие как CHEM-5861528 и A-967079 [36]. Несмотря на многочисленные результаты исследований, свидетельствующих о возможности применения TRPA1 как мишени для действия фармакологических препаратов с целью обезболивания, применение данных веществ у человека затруднительно. Причиной этого являются межвидовые расхождения в структуре TRPA1 рецепторов, о чем сообщается группами исследователей Amgen и Abbott [10]. В своих исследованиях они заметили, что те вещества, которые у человека проявляли свойства антагонистов, у крыс были либо неактивны, либо проявляли агонистические свойства. В связи с этим, доклиническое исследование антагонистов TRPA1 на животных становится весьма проблематичным. Однако, несмотря на это, по-прежнему сохраняется интерес к данной группе препаратов, и идет активный поиск новых, более сильных ингибиторов канала TRPA1.

Физиологическое значение TRPA1 неоднозначно. Предполагалось, что TRPA1 выступают в качестве холодовых рецепторов. Но при известном факте возрастания экспрессии TRPA1 под воздействием холода точный механизм реализации этой функции каналом TRPA1 неизвестен. Предположение о механочувствительности канала TRPA1 и его роли в трансформации звуковых волн в нервные сигналы в ухе не подтверждались экспериментами с нокаутом соответствующего гена [21]. Однако выявленная в улитке экспрессия TRPA1 при применении метода цитологической гибридизации [2] не исключает роль TRPA1 в реализации функции слуха.

В различных исследованиях было установлено, что активация TRPA1 происходит в результате ковалентного связывания с N-концевым цистеином различных химически активных веществ. К их числу относятся горчичное масло и тетрагидроканнабинол, коричный альдегид, аллицин и акролеин [3]. Однако по-прежнему не детализирован механизм, реализующий активацию канала при опосредованном воздействии связанного цистеина. В этой связи высказано предположение о ситуационной дислокации TRPA1 к плазматической мембране [29]. Это позволяет сделать выводы об избирательной чувствительности TRPA1 в отношении повреждающих химически активных веществ при его активации нетрадиционным путем.

Большое значение канала TRPA1 в хемочувствительности документируется результатами экспериментов как с нокаутом гена TRPA1, так и с применением фармакологических ингибиторов канала TRPA1. В результате, наступает снижение чувствительности к различным химически активным повреждающим веществам, таким как аллилизотиоцианат (AITC, называемый горчичным маслом) [3, 14, 21], коричный альдегид, формалин [23], перекись водорода, изоцианаты и слезоточивый газ [6].

Наиболее изученным из этих веществ является AITC. Давно известно, что нокаут гена TRPA1 устраняет Ca-опосредованный ответ в сенсорных нейронах задних корешков и тройничного нерва, обусловленный действием горчичного масла [3, 21]. Фармакологическая блокада с использованием HC-030031, являющегося селективным антагонистом TRPA1, уменьшает выраженность болевого поведения у крыс, обусловленного действием горчичного масла [25, 14]. Эти данные, предположительно, свидетельствуют о том, что горчичное масло является селективным агонистом TRPA1. Аналогичное болевое поведение выявлено в моделях боли с применением коричного альдегида и антагониста TRPA1 AP-18 [27].

Формальдегид, будучи активным составляющим формалина, выступает в качестве частично обратимого коагулятора ДНК и белка и является одним из классических индукторов болевого поведения в экспериментах по изучению боли. Однако механизмы, с помощью которых формалин вызывает боль, были не ясны. По результатам недавних исследований установлено, что у животных с недостаточностью функционирующего TRPA1, либо при введении им HC-030031, или при нокауте соответствующего гена болевое поведение в ответ на инъекцию формалина не развивается [25]. Также установлено, что в изолированном препарате подкожного нерва в условиях как фармакологической блокады, так и нокаута гена в ответ на воздействие формалином или капсаицином возбуждение нейронов отсутствует. Это свидетельствует о том, что формалин также является селективным агонистом TRPA1 при воздействии на изолированные клетки в концентрации до 0,01% [19, 25]. Однако, как и в случае с AITC, более высокие концентрации формалина обладают альтеративными свойствами независимо от TRPA1.

Акролеин является одним из основных вредных продуктов горения и, следовательно, важным компонентом вдыхаемого дыма. Это ненасыщенный альдегид, воздействие которого на

альфа- и бета-рецепторы сопровождается активацией С-волокон, иннервирующих легкие. Нокаут гена TRPA1 у мышей ведёт к устранению вызванного акролеином притока кальция в культивируемые нейроны. Кроме того, было установлено, что введение вещества HC-030031 морским свинкам предупреждает кровоизлияния в трахею, вызванные сигаретным дымом. Значимость канала TRPA1 в условиях воздействия акролеина свидетельствует о роли данного канала в реализации некоторых функций дыхательной системы, не имеющих прямого отношения к болевой чувствительности.

Ответ на воздействие других вредных химических веществ, таких как хлор [5], 2-пентаналь [3], коричный альдегид [27], аллицин, слезоточивый газ [6], метилизоцианат и гексаметилендиизоцианат (HDI) [42], также реализуется при участии канала TRPA1. Есть высокая вероятность того, что антагонисты TRPA1 могут иметь анальгетические свойства при болях, вызванных любым из этих реактивных химических веществ.

Наряду с большим многообразием экзогенных химических веществ, активирующих канал TRPA1, существуют и его эндогенные активаторы, такие как 4-гидроксиноненал (4-HNE) [23, 33, 34], 4-гидроксиоксононенал (4-ONE) [33], перекись водорода [5], простагландины [31, 32] и оксид азота [26]. Механизмы болевого действия указанных эндогенных активаторов канала TRPA1 опосредованы либо продуктами перекисного окисления в условиях воспаления, либо повышением притока кальция в подгруппах сенсорных нейронов, реагирующих на другие активаторы TRPA1 [31, 32]. В частности, 4-HNE-индуцированная болевая реакция опосредована TRPA1, о чем свидетельствует снижение чувствительности животных к 4-HNE после нокаута гена TRPA1 [34] и резкое увеличение активности канала TRPA1 после введения 4-HNE [23, 34]. Точно так же А- и J-серии простагландинов активируют TRPA1 в гетерологичных экспрессионных системах. Эти ответы блокируются неспецифическим антагонистом каналов TRP рутением красным, а также HC-030 031 [32]. При этом введение агониста TRPA1 15-дельта-PGJ2 in vivo вызывает боль [12]. Скорее всего, именно эти эндогенные агонисты TRPA1 определяют роль канала в патологических условиях.

В дополнение к лигандам, активирующим TRPA1 ковалентно, есть ряд агонистов TRPA1, которые активируют канал цистеин-независимым путем. Важнейшим из них является кальций, резко повышающий активность TRPA1 [35]. При этом функционирование TRPA1 может быть связано с целым рядом других каналов и сигнальных путей, модулирующих уровень внутриклеточного кальция. Внутриклеточное подщелачивание также усиливает активность TRPA1 и увеличивает функциональность канала при повреждении тканей [13]. Кроме того, по данным недавних исследований установлено, что внутриклеточный цинк с EC50 в дозировке 2 мкмоль является агонистом TRPA1 [16].

К числу экзогенных нековалентных агонистов относят ментол, оказывающий видозависимое воздействия на канал, ицилин и 2-аминоэтилдифенилборинат (2-APB). Более значимым с клинической точки зрения выступает то обстоятельство, что целый ряд соединений, являющихся анальгетиками, тем не менее, активируют TRPA1. Например, пропофол и этомидат вызывают жгучую боль при инъекции [24], а летучие анестетики, такие как изофлюран [24] и местные анестетики, включая лидокаин [22], активируют TRPA1 в культуре клеток.

Чувствительность TRPA1 как к повреждающим, так и к раздражающим химическим веществам и его неспецифичность позволяет предположить, что TRPA1 в естественных условиях выполняет роль общего «рецептора раздражения».

К настоящему времени имеется много данных, свидетельствующих о важной роли сенсорных нейронов в формировании и поддержании боли воспаления. Это, в первую очередь, связано с экспрессией TRPA1 в сенсорных нейронах и неспецифической чувствительностью канала. Именно поэтому уникальность канала TRPA1 состоит в его модулирующих возможностях в отношении воспаления и боли воспалительного характера [8], что позволяет предположить ключевую роль канала TRPA1 в медиации нейрогенного воспаления.

В литературе имеются данные, согласующиеся с этой гипотезой. Так, в ряде исследований по изучению воздействия аллилизотиоцианата на различные ткани [3, 21] показано, что активация TRPA1 вызывает отеки, вторичную гипералгезию, изменения механочувствительности, которые могут быть предотвращены путем предварительной фармакологической блокады [28]. Таким образом, активация TRPA1 может вызвать кожную, висцеральную и мышечную боли, и поэтому антагонисты TRPA1 предположительно могут быть эффективными против этих типов боли.

Вероятно, боль воспаления особенно хорошо подходит для купирования антагонистами TRPA1. Считается, что TRPA1 способствует развитию воспалительной реакции в связи с тем, что принимает участие как в нервной (прямой) активации, так и в активации иммунных клеток (косвенной). Стимуляция TRPA1 способствует повышению возбудимости сенсорных нейронов. Такая активация нейронов индуцирует высвобождение целого ряда нейропептидов и

нейромедиаторов, способствующих привлечению иммунных клеток к зоне активации. Иммунные клетки, в свою очередь, выделяют многочисленные сигнальные молекулы, в том числе агонисты TRPA1, которые также активируют нейрон [4, 32]. Повреждение тканей, часто сопровождающее активацию TRPA1, приводит к перекисному окислению липидов и продукции дополнительных активаторов TRPA1, таких как 4-ONE и 4-HNE [23, 34]. Таким образом, TRPA1 можно расценивать в качестве ключевого регуляторного посредника, способствующего поддержанию воспалительной реакции.

В этой связи, при экспериментах in vivo было показано, что ингибирование канала TRPA1 или нокаут гена приводит к уменьшению боли воспаления в ряде моделей на животных. Например, опираясь на результаты двух независимых линий исследования с нокаутом TRPA1, можно сделать вывод, что функционирование TRPA1 требуется для брадикинин-индуцированной тепловой гипералгезии и аллодинии [21], что документируется более низким притоком кальция в сенсорные нейроны мыши с нокаутом гена TRPA1-/- в ответ на воздействие брадикинина. Таким образом, несмотря на то, что действие брадикинина опосредуется через собственные рецепторы и он непосредственно не действует на TRPA1, для развития брадикининовых эффектов необходимо наличие функционирующих TRPA1. Эти результаты показывают, что TRPA1 может играть важную роль в поддержании боли воспаления.

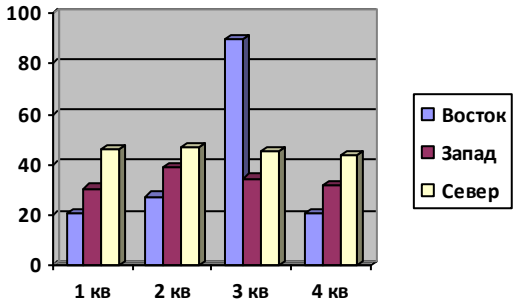
Эксперименты с фармакологическими антагонистами TRPA1 также свидетельствуют в пользу этой гипотезы. Инъекция грызунам адъюванта Фрейнда (CFA) приводит к воспалительной реакции и повышению чувствительности к тепловым и механическим воздействиям. При этом антагонисты TRPA1 [14, 27] значительно сокращают вызванную адьювантом Фрейнда гиперчувствительность к механическим раздражителям. У мышей с TRPA1-/- такого снижения гиперчувствительности после введения антагонистов TRPA1 не происходит [27].

Использование антагонистов TRPA1 демонстрирует более значимый анальгезирующий эффект, чем нокаут гена. Нокауты гена TRPA1 оказались неэффективны в снижении механической гиперчувствительности при воспалении, в то время как введение HC-030 031 или AP-18 привело к сокращению механической гиперчувствительности, обусловленной адьювантом Фрейнда [14, 27].

Несовпадение результатов исследований при нокауте гена и при фармакологическом ингибировании диктует необходимость поиска новых моделей и методик для исследования функции канала TRP в естественных условиях.

Значение TRPA1 в формировании болевой чувствительности при нейропатии, в том числе и диабетической, изучено недостаточно. Выявлено несоответствие результатов сравнительных исследований по нокауту гена TRPA1 и фармакологической блокаде канала TRPA1 с применением HC-030031 [14]. Здесь же отмечено уменьшение холодовой чувствительности после перевязки спинномозгового нерва на фоне введения нуклеотидов, направленных против TRPA1, тогда как механическая гиперчувствительность при этом не изменялась. В некоторых исследованиях на стрептозоциновой модели сахарного диабета было показано значительное уменьшение механической гиперчувствительности в ответ на использование Chembridge-5861528 (антагонист TRPA1, структурно сходный с HC-030031). При этом продолжительное предварительное введение Chembridge-5861528 также способствовало предотвращению развития механической аллодинии, что свидетельствует о роли TRPA1 в патогенезе диабетической нейропатии [36] и диктует необходимость дальнейших исследований в данном направлении.

Биологическая роль канала TRPA1 в холодовой чувствительности длительное время была спорной. Предполагалось, что TRPA1 является холодовым рецептором, с порогом температурной чувствительности ниже 15°C. Позднее в одной из работ in vitro, при сравнительном исследовании холодовой и AITC-чувствительности нейронов тройничного нерва однозначность данной точки зрения была подвергнута сомнению [17]. Сравнительные исследования групп Julius и Basbaum не выявили достоверных различий в относительных показателях содержания холодовых рецепторов у мышей с недостаточностью функционирующих TRPA1 и мышей дикого типа, что не подтверждало роли TRPA1 в холодовой чувствительности [3]. Однако в опытах на TRPA1-/ - животных Corey и Woolf labs обнаружили дефицит холодовой рецепции, который был более очевиден у самок [21]. Более поздние исследования



изолированных нейронов тройничного нерва, взятых от мышей, лишенных функционирующего TRPA1, показали, что холодовая активация TRPA1 отсутствует как в рекомбинантной экспрессионной системе, так и в некоторых холодовых рецепторах. Кроме того, в поведенческом исследовании TRPA1-дефицитных мышей было отмечено изменение ответа на холод [68].

Независимо от этого, не представляется возможным преуменьшить значимость TRPA1 в реализации чувствительности к острым холодовым воздействиям. Это документируется снижением холодовой чувствительности при ряде патологических состояний и при введении антагонистов TRPA1. Например, в болевой модели с использованием адьюванта Фрейнда применение AP-18 привело к уменьшению холодового ответа [27]. Показано, что снижение холодовой чувствительности возможно при фармакологическом ингибировании функционирующих TRPA1 антисмысловыми олигонуклеотидами [18]. В недавно проведенных исследованиях было установлено, что клиохинол-индуцированная холодовая аллодиния у мышей зависит от наличия функционирующих TRPA1 [1].

Для определения роли TRPA1 в холодовой чувствительности в нормальных и патологических условиях необходимо проведение дополнительных работ. Кроме того, это может иметь важное значение для определения отношений между TRPA1 и TRPM8, известным холодовым рецептором.

Литература

1. Andersson, D.A. Clioquinol and pyrithione activate TRPA1 by increasing intracellular Zn2+ / D.A. Andersson, C. Gentry, S. Moss et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2009. – Vol. 106(20). – P. 8374-8379.
2. Asai, Y.A quantitative analysis of the spatiotemporal pattern of transient receptor potential gene expression in the developing mouse cochlea / Y. Asai, J.R. Holt, G.S. Geleoc // J. Assoc. Res. Otolaryngol. – 2010. – Vol. 11(1). – P. 27-37.
3. Bautista, D.M. TRPA1 mediates the inflammatory actions of environmental irritants and proalgesic agents / D.M. Bautista, S.E. Jordt, T. Nikai et al. // Cell. – 2006. – Vol. 124. – P. 1269-1282.
4. Bessac, B.F. TRP channels: TRPA1 and TRPV1 in airway chemosensation and reflex control / B.F. Bessac, S.E. Jordt // Physiology (Bethesda). – 2008. – Vol. 23. – P. 360-370.
5. Bessac, B.F. TRPA1 is a major oxidant sensor in murine airway sensory neurons / B.F. Bessac, M. Sivula, von C.A. Hehn et al. // J. Clin. Invest. – 2008. – Vol. 118(5). – P. 899-910.
6. Bessac, B.F. Transient receptor potential ankyrin 1 antagonists block the noxious effects of toxic industrial isocyanates and tear gases / B.F. Bessac, M. Sivula, C.A. von Hehn et al. // FASEB J. – 2009. – Vol. 23(4). – P. 1102-1114.
7. Biro, T. An «ice-cold» TR(i)P to skin biology: the role of TRPA1 in human epidermal keratinocytes. / T. Biro, L. Kovacs // J. Invest. Dermatol. – 2009. – Vol. 129(9). – P. 2096-2099.
8. Caceres, A.I. A sensory neuronal ion channel essential for airway inflammation and hyperreactivity in asthma / A.I. Caceres, M. Brackmann, M.D. Elia et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2009. – Vol. 106(22). – P. 9099-9104.
9. Caspani, O. The contribution of TRPM8 and TRPA1 channels to cold allodynia and neuropathic pain / O. Caspani, S. Zurborg, D. Labuz, P.A. Heppenstall // PLoS One. – 2009. –№ 4(10). – P. 7383.
10. Chen, J. Molecular determinants of species-specific activation or blockade of TRPA1 channels / J. Chen, X.F. Zhang, M.E. Kort et al. // J. Neurosci. – 2008. – Vol. 28(19). – P. 5063-5071.
11. Clapham, D.E. TRP channels as cellular sensors / D.E. Clapham // Nature. – 2003. – Vol. 426(6966). – P. 517-524.
12. Cruz-Orengo, L. Cutaneous nociception evoked by 15-delta PGJ2 via activation of ion channel TRPA1 / L.A. Cruz-Orengo Dhaka, R.J. Heuermann, T.J. Young et al. // Mol. Pain. – 2008. – Vol. 4. – P. 30.
13. Dhaka, A. TRPV1 is activated by both acidic and basic pH / A. Dhaka, V. Uzzell, A.E. Dubin et al. // J. Neurosci. – 2009. – Vol. 29(1). – P. 153-158.
14. Eid, S.R. HC-030031, a TRPA1 selective antagonist, attenuates inflammatory- and neuropathy-induced mechanical hypersensitivity / S.R. Eid, E.D. Crown, E.L. Moore et al. // Mol. Pain. – 2008. – Vol. 4. – P. 48.
15. Frederick, J. Increased TRPA1, TRPM8, and TRPV2 expression in dorsal root ganglia by nerve injury. / J. Frederick, M.E. Buck, D.J. Matson // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2007. – Vol. 358(4). – P. 1058-1064.
16. Hu, H. Zinc activates damage-sensing TRPA1 ion channels / H. Hu, M. Bandell, M.J. Petrus et al. // Nat. Chem. Biol. – 2009. – Vol. 5(3). – P. 183-190.
17. Jordt, S.E Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1 / S.E. Jordt, D.M. Bautista, H.H. Chuang et al. // Nature. – 2004. – Vol. 427(6971). – P. 260-265.
18. Katsura, H. Antisense knock down of TRPA1, but not TRPM8, alleviates cold hyperalgesia after spinal nerve ligation in rats / H. Katsura, K. Obata, T. Mizushima et al. // Exp. Neurol. – 2006. – Vol. 200(1). – P.112-123.
19. Kerstein, P.C. Pharmacological blockade of TRPA1 inhibits mechanical firing in nociceptors / P.C. Kerstein, D. del Camino, M.M. Moran et al. // Mol. Pain. – 2009. – Vol. 5. – P. 19.

20. Kwan, K.Y. Glazer J.M.; Corey, D.P. C.L. TRPA1 modulates mechanotransduction in cutaneous sensory neurons. / K.Y. Kwan, J.M. Glazer, D.P. Corey et al. // J. Neurosci. – 2009. – Vol. 29(15). – P. 4808-4819.
21. Kwan, K.Y.; Allchorne, A.J.; Vollrath, M.A. TRPA1 Contributes to Cold, Mechanical, and Chemical Nociception but Is Not Essential for Hair-Cell Transduction / K.Y. Kwan, A.J. Allchorne, M.A. Vollrath et al. // Neuron. – 2006. – Vol. 50. – P. 277-289.
22. Leffler, A. The vanilloid receptor TRPV1 is activated and sensitized by local anesthetics in rodent sensory neurons / A. Leffler, M.J. Fischer, D. Rehner et al. // J. Clin. Invest. – 2008. – Vol. 118(2). – P. 763-776.
23. Macpherson, L.J. An ion channel essential for sensing chemical damage / L.J. Macpherson, B. Xiao, K.Y. Kwan et al. // J. Neurosci. – 2007. – Vol. 27(42). – P. 11412-11415.
24. Matta, J.A. General anesthetics activate a nociceptive ion channel to enhance pain and inflammation / J.A. Matta, P.M. Cornett, R.L. Miyares et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2008. – Vol. 105(25). – P. 8784-8789.
25. McNamara, C.R. TRPA1 mediates formalin-induced pain / C.R. McNamara, Mandel- J. Brehm, D.M Bautista et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2007. – Vol. 104(33). – P. 13525-13530.
26. Miyamoto, T. TRPV1 and TRPA1 mediate peripheral nitric oxide-induced nociception in mice / T. Miyamoto, A.E. Dubin, M.J. Petrus, A. Patapoutian // PLoS One. – 2009. – № 4(10). – P. 7596.
27. Petrus, M. A role of TRPA1 in mechanical hyperalgesia is revealed by pharmacological inhibition / M. Petrus, A.M. Peier, M. Bandell et al. // Mol. Pain. – 2007. – Vol. 3. – P. 40.
28. Ro, J.Y. Activation of TRPV1 and TRPA1 leads to muscle nociception and mechanical hyperalgesia / J.Y. Ro, J.S. Lee, Y. Zhang et al. // Pain. – 2009. – Vol. 144(3). – P. 270-277.
29. Schmidt, M. Nociceptive Signals Induce Trafficking of TRPA1 to the Plasma Membrane / M. Schmidt, A.E. Dubin, M.J. Petrus et al. // Neuron. – 2009. – Vol. 64(64). – P. 498-509.
30. Staaf, S. Differential regulation of TRP channels in a rat model of neuropathic pain / S. Staaf, S. Oerther, G. Lucas et al. // Pain. – 2009. – Vol. 144(1-2). – P. 187-199.
31. Takahashi, N. Molecular characterization of TRPA1 channel activation by cysteine-reactive inflammatory mediators / N. Takahashi, Y. Mizuno, D. Kozai et al. // Channels (Austin). – 2008. – Vol. 2(4). – P.231-237.
32. Taylor-Clark, T.E. Prostaglandin-induced activation of nociceptive neurons via direct interaction with transient receptor potential A1 (TRPA1) / T.E. Taylor-Clark, B.J. Undem, D.W. Macglashan et al. // Mol. Pharmacol. – 2008. – Vol. 73(2). – P. 274-281.
33. Taylor-Clark, T.E. Relative contributions of TRPA1 and TRPV1 channels in the activation of vagal bronchopulmonary C-fibres by the endogenous autacoid 4-oxononenal / T.E. Taylor-Clark, M.A. McAlexander, C. Nassenstein et al. // J. Physiol. – 2008. – Vol. 586(14). – P. 3447-3459.
34. Trevisani, M. 4-Hydroxynonenal, an endogenous aldehyde, causes pain and neurogenic inflammation through activation of the irritant receptor TRPA1 / M. Trevisani, J. Siemens, S. Materazzi et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2007. – Vol. 104(33). – P. 13519-13524.
35. Wang, Y.Y. The nociceptor ion channel TRPA1 is potentiated and inactivated by permeating calcium ions / Y.Y. Wang, R.B. Chang, H.N. Waters et al. // J. Biol. Chem. – 2008. – Vol. 283(47). – P. 32691-32703.
36. Wei, H Attenuation of mechanical hypersensitivity by an antagonist of the TRPA1 ion channel in diabetic animals / H. Wei, M.M. Hamalainen, M. Saarnilehto et al. // Anesthesiology. – 2009. – Vol. 111(1). – P. 147-154.
37. Yang, J. Transient receptor potential ankyrin-1 participates in visceral hyperalgesia following experimental colitis. / J. Yang, Y. Li et al. // Neurosci. Lett. – 2008. – Vol. 440(3). – P. 237-241.
38. Yu, S. TRPA1 in bradykinin-induced mechanical hypersensitivity of vagal C fibers in guinea pig esophagus / S. Yu, A. Ouyang / Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2009. – Vol. 296(2). – P. 255-265.

THE BIOLOGICAL ROLE OF THE TRPA1 CHANNEL IN THE VARIOUS PATHOLOGICAL CONDITIONS

E.A. BESKHMELNITSYNA
M.V. POKROVSKIY
M.V. KOROKIN
V.I. YAKUSHEV
O.S. GUDYREV

Belgorod National Research University

e-mail: evgeny_b89@mail.ru

Ion channel TRPA1 is a target for the action of the irritants such as mustard oil and garlic. Not excluded the role of TRPA1 in the implementation of the thermal (cold), nociception, inflammatory pain and in the hearing. TRPA1 is also a target for such environmental irritants as an acrolein (which is part of the tear gas and has a toxic and inflammatory effect), exhaust gases and byproducts of the metabolism of the chemotherapy drugs. TRPA1 knockout mice don't display affect of the cold sensitivity or the auditory function, which suggests the absence of the TRPA1 ion channel effect on the initial identification of cold and sound, but at the same time, the mice there is a decrease of sensitivity to bradykinin, which expresses in the reduction of pain. Recent data suggest that TRPA1 is a chemosensor activated by the exogenous and endogenous reactive chemicals that are produced in inflammation or tissue damage. Thus, TRPA1 is an important link in the chain of transmission of nociceptive information in the action of endogenous and exogenous irritants.

Keywords: TRP channel, TRPA1, pain, nociception, inflammation, formalin, analgesic, neuropathy, HC-030 031, AP-18.

УДК 615.22-008.331.1

АРГИНАЗА – НОВАЯ МИШЕНЬ ДЛЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

В.И. ЯКУШЕВ [1]
М.В. ПОКРОВСКИЙ [1]
М.В. КОРОКИН [1]
Т.Г. ПОКРОВСКАЯ [1]
В.А. КУЛИКОВСКАЯ [1]
И.Н. ЕРШОВ [1]
Е.А. БЕСХМЕЛЬНИЦЫНА [1]
А.А. АРУСТАМОВА [1]
Л.В. КОТЕЛЬНИКОВА [2]

[1] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

[2] Курский государственный медицинский Университет

e-mail: vladi-yakus@yandex.ru

Аргиназа катализирует гидролиз L-аргинина, субстрата для синтеза оксида азота, до L-орнитина и мочевины. В организме человека обнаружены две изоформы аргиназы. Аргиназа I локализуется в цитоплазме клеток и экспрессируется преимущественно в печени. Аргиназа II – это митохондриальный белок, который экспрессируется в почках, простате, сосудистой стенке. Аргиназа II гидролизирует L-аргинин, снижая тем самым синтез оксида азота, приводит к развитию эндотелиальной дисфункции и возникновению целого ряда кардиваскулярной патологии.

Ключевые слова: L-аргинин, аргиназа I, аргиназа II, эндотелиальная дисфункция, диабет, гипертензия, эндотелиальная синтаза оксида азота.

Современные исследования доказали, что дисфункция эндотелия является обязательным компонентом патогенеза практически всех сердечно-сосудистых заболеваний, включая атеросклероз, гипертонию, ишемическую болезнь сердца (ИБС), хроническую сердечную недостаточность. ИБС и артериальная гипертензия (АГ) являются одними из основных факторов, повышающих инвалидизацию и смертность за счет таких осложнений, как инфаркт миокарда, сердечная недостаточность и инсульт [1].

Эндотелиальная дисфункция — это дисбаланс между сосудорасширяющими и сосудосуживающими медиаторами, который, как правило, характеризуется уменьшением выработки вазодилататоров [2, 4, 6].

Целью данного литературного обзора явилась оценка роли аргиназы в патогенезе эндотелиальной дисфункции целого ряда кардиоваскулярных заболеваний.

Ключевым звеном в патогенезе эндотелиальной дисфункции (ЭД) является дефицит эндогенного оксида азота (NO) [3, 4]. В физиологических условиях синтез NO осуществляется из L-аргинина под действием фермента эндотелиальной NO-синтазы. L-аргинин – это катионная полузаменимая аминокислота, вовлеченная в многочисленные физиологические процессы [2, 3, 4]. Аргинин служит необходимым предшественником для синтеза белков и многих биологически важных молекул, таких как орнитин, пролин, полиамины, креатин и агматин. Однако главная роль аргинина в организме человека — быть субстратом для синтеза NO [2, 3, 5]. Действие NO разнонаправлено и включает в себя: вазодилатирующее действие; антиатеросклеротическое действие (тормозит клеточную пролиферацию); антитромботическое действие; антиадгезивное действие (препятствует адгезии циркулирующих тромбоцитов и лейкоцитов к эндотелию); регулирует расслабление стенки кишечника, желудка, эрекцию, дилатацию трахеи, опорожнение мочевого пузыря и некоторые другие висцеральные функции [2, 5, 6, 9]. Пониженная биодоступность NO является общим механизмом, вовлечённым в патогенез различных сосудистых расстройств (в том числе гипертензии, атеросклероза, диабета и ишемически-реперфузионного повреждения) [3, 18, 23]. Интересно, что клинические и экспериментальные исследования, проведенные в течение последнего десятилетия, показывают, что приём L-аргинина восстанавливает синтез NO и сосудистую функцию при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях. Это наводит на предположение о том, что пониженная доступность L-аргинина лежит в основе данных сосудистых патологий [3, 5, 13, 32]. Факт о том, что L-аргинин влияет на генерацию NO, четко подкрепляется фенотипом редкого генетического дефицита L-аргинина у людей [25]. Несмотря на то, что точная причина снижения доступности L-аргинина остается неизвестной, новые доказательства наводят на предположение о том, что в этот процесс может вовлекаться катаболизм L-аргинина со стороны аргиназы.

Аргиназа является двуядерным марганцевым металлоферментом, который катализирует гидролиз L-аргинина до L-орнитина и мочевины. В организме млекопитающих обнаружены два типа этого фермента, кодирующиеся различными генами. Аргиназа I локализуется в цитоплазме клеток и экспрессируется преимущественно в печени, но также обнаружена в эритроцитах, в ткани молочной железы в период лактации. Аргиназа II – это митохондриальный белок, который широко распространён в тканях. В большей степени его экспрессия осуществляется в почках и простате, в меньшей степени – в печени [28, 33]. Недавно проведенные исследования зарегистрировали наличие аргиназы в сосудистой сети. В частности, было обнаружено, что культивируемые клетки гладких мышц аорты крыс демонстрируют существенную активность аргиназы, при этом большая часть L-аргинина поглощалась для производства мочевины, нежели для производства NO, а также что ингибирование аргиназы или дополнительное введение культуральных сред с L-аргинином приводило к увеличению синтеза NO. Совсем недавно было показано, что ингибирование аргиназы стимулирует синтез NO в эндотелиальных клетках [10]. Кроме того, гиперэкспрессия аргиназы I или аргиназы II подавляет генерацию NO в эндотелиальных клетках. Это связано с существенным снижением внутриклеточного содержания L-аргинина [24]. Интересно, что существенная экспрессия аргиназы в эндотелиальных клетках микрососудов противодействует опосредованной NO-дилатации, что наводит на предположение о том, что аргиназа содействует вазоконстрикторной функции [19, 36].

Генетические исследования также подтверждают роль аргиназы в регуляции доступности L-аргинина. Нокаут гена, кодирующего аргиназу I у мышей, приводит к тяжелой гиперуремии и гибели в течение 10-12 дней после рождения [11, 17. При этом нокаут гена аргиназы II не вызывает гиперуремии и не влияет на жизнеспособность мышей. У мышей с нокаутом гена аргиназы II отмечается нулевое содержанием аргиназы II и приблизительно двукратное увеличение концентрации L-аргинина в плазме [29, 30]. Так или иначе, в отличие от животного с дефицитом аргиназы I, фенотип животного с удаленной аргиназой II не отличим от фенотипа мышей дикого типа. Данные открытия предполагают, что обе изоформы аргиназы играют важную роль в регуляции концентраций циркулирующего L-аргинина, однако они осуществляют различные биологические действия.

Эндотелиальная дисфункция, опосредованная аргиназой, также была обнаружена и в кровеносных сосудах стареющих животных [7]. Ингибирование аргиназы приводит к существенно более интенсивной дилатации предварительно суженных изолированных аортных колец старых крыс (в сравнении с молодыми крысами), что связано с повышенной степенью экспрессии аргиназ I и II. Кроме того L-аргинин приводит к существенной дилатации предварительно суженных колец молодых животных (в то время, как дилатация отсутствовала у старых крыс). Как бы то ни было, фармакологическое ингибирование аргиназы полностью восстанавливает вазодилатацию на L-аргинин в сосудах старых животных таким образом, что эффект аналогичен эффекту, наблюдаемому в аортных кольцах молодых животных. Совсем недавно нокдаун экспрессии аргиназы I с использованием антисенсорного олигонуклеотидного подхода также продемонстрировал восстановление синтеза NO в сосудистой сети старых животных [34]. Также было показано, что аргиназа противодействует опосредованной NO-дилатации коронарных артериол после ишемии с последующей реперфузией [11]. Ишемия-реперфузия коронарных сосудов ингибирует синтез NO артериолами и эндотелийзависимую вазодилатации, что связано с четким повышением степени сосудистой экспрессии аргиназы и ее активности. Кроме того, ингибирование аргиназы или дополнительное введение L-аргинина восстанавливает синтез NO и вазодилатационную функцию после ишемии-реперфузии. Это наводит на предположение о важной патофизиологической роли аргиназы при данном условии. Интересно, что высокие концентрации глюкозы повышают сосудистую активность аргиназы и что аргиназа также может способствовать эндотелиальной дисфункции при ожирении и диабете [14]. Уровень экспрессии аргиназы II повышается под действием оксидантного стресса, так как потенциальные, чувствительные к окислению восстановлению реактивные элементы были идентифицированы в промоторной области аргиназы II [22]. Кроме того, активность и экспрессия аргиназы I повышены в эндотелиальных клетках коронарных артериол у свиней с реноваскулярной гипертензией [36]. Коронарные артериолы данных гипертензивных животных демонстрируют пониженную степень продукции NO и опосредованную оксидом азота дилатацию на аденозин, которые частично восстанавливаются при ингибировании аргиназы или при инкубации с L-аргинином [36]. Кроме того, активность аргиназы в аорте и экспрессия аргиназы I и II повышены у спонтанно гипертензивных крыс. Это связано с ослабленными вазодилатационными реакциями на ацетилхолин [12]. Знаменательно, что постоянное пероральное лечение неселективным ингибитором аргиназы, а-дифторметилорнитином, улучшает вазодилатационную реакцию на ацетилхолин и препятствует развитию гипертензии у крыс. Наряду с ролью аргиназы в стимуляции

эндотелиальной дисфункции у людей также сообщалось о повышенной экспрессии аргиназы II и пониженной степени синтеза NO в эндотелиальных клетках пациентов с легочной гипертензией [35].

Наконец, роль аргиназы в модуляции синтеза NO не ограничивается лишь эндотелием сосудов. Совсем недавно было обнаружено, что пещеристые (кавернозные) тела больных сахарным диабетом с эректильной дисфункцией демонстрируют более высокую степень активности аргиназы, пониженную степень синтеза NO и сниженную релаксацию гладких мышц [8]. Интересно, что фармакологическое ингибирование активности аргиназы корректирует дефицит синтеза NO и релаксации в диабетической ткани. Повышенная экспрессия аргиназы также способствует сниженному синтезу NO и заживлению ран при диабете. Это наводит на предположение о том, что аргиназа может способствовать многочисленным клиническим осложнениям, связанным с диабетом [21]. Совсем недавно экспрессия аргиназы II была идентифицирована в кардиальных миоцитах. Было обнаружено, что она снижает объем синтеза NO в миокарде [22]. Кроме того, на модели компенсированной гипертрофии левого желудочка степень экспрессии аргиназы была снижена, что облегчало синтез NO [22]. Весьма провокационным является размышление о том, что повышенная активность аргиназы может привести к декомпенсированной форме сердечной недостаточности.

Накапливающиеся доказательства наводят на предположение о том, что аргиназа может также способствовать пролиферации клеток гладких мышц сосудов и внеклеточному матричному отложению, генерируя биологически важные молекулы. В то время как один продукт аргиназы – мочевина – быстро выделяется через почки, другой продукт аргиназы – L-орнитин – подвергается процессу дальнейшего метаболизма со стороны декарбоксилазы орнитина до полиамина, путресцина, который формирует последующие полиамины, спермин и спермидин [31]. Полиамины играют существенную роль в митогенной реакции клеток. Пролиферации клеток гладких мышц сосудов предшествуют повышения активности декарбоксилазы орнитина и синтеза полиаминов, а ингибирование формирования полиаминов ингибирует рост клеток гладких мышц. L-орнитин также преобразуется аминотрансферазой орнитина до пирролин-5-карбоксилата, который в дальнейшем метабодизируется до L-пролина, являющегося важным для синтеза большого количества структурных белков (в том числе и коллагена) [31].

Несколько линий доказательств подкрепляют роль аргиназы в процессе роста клеток гладких мышц. В пролиферационных клетках имеет место повышенная степень экспрессии аргиназы и образование полиаминов [12]. Кроме того, стабильная гиперэкспрессия аргиназы I в клетках гладких мышц аорты крыс связана с повышенным объёмом производства полиаминов и более высокими скоростями пролиферации клеток. Фармакологическое ингибирование активности аргиназы снижает объем производства полиаминов и ингибирует рост клеток гладких мышц. Способность аргиназы напрямую стимулировать пролиферацию клеток гладких мышц методом повышения степени синтеза полиаминов также может усиливаться опосредованным аргиназой угнетением синтеза NO, которая является ингибитором роста клеток гладких мышц. Гиперплазия интимы в маточных артериях предклимактерическом периоде связана с повышенной активностью аргиназы в эндотелиальных клетках и слое гладких мышц [26]. Интересно, что аргиназа также была идентифицирована в качестве потенциального гена-кандидата, влияющего на восприимчивость к атеросклеротичеекому повреждению [31].

Опосредованное аргиназой ухудшение синтеза NO также было обнаружено и при других патологических состояниях: при астме, муковисцидозе, гломерулонефрите, псориазе, артрите и серповидно-клеточной (дрепаноцитарной) анемии [26, 27, 28].

Таким образом, аргиназа является перспективной фармакологической мишенью в коррекции эндотелиальной дисфункции и целого ряда кардиоваскулярных заболеваний. В качестве потенциальных ингибиторов аргиназы могут быть использованы следующие вещества: L-орнитин, L-лизин, L-валин, L-лейцин, L-изолейцин, L-норвалин, L-пролин, L-цитруллин, гидроксиламин и, возможно, некоторые другие [10, 15].

Литература

1. Бокарев, И. Н. Артериальная гипертония – болезнь или фактор риска? / И.Н. Бокарев // Клинич. медицина. – 2004. – №9. – С. 69-71.

2. Покровская, Т.Г. Использование L-аргинина в профилактике нарушений функции эндотелия в условиях ингибирования эндотелиальной и индуцибельной NO-синтаз / Т.Г. Покровская, В.И. Кочкаров, М.В. Покровский и др. // Аллергология и иммунология. – 2008. – Т. 9, № 3. – С. 328.

3. Покровская, Т.Г. Роль фармакологической коррекции метаболического пути L-аргинин/NO при моделировании дефицита оксида азота / Т.Г. Покровская // Кубанский науч. мед. вестн. – 2008. – № 4. – С. 122-125.

4. Покровская, Т.Г. Эндотелиопротективное действие L-аргинина при фармакологическом способе моделирования дефицита оксида азота / Т.Г. Покровская, В.И. Кочкаров, Л.М. Даниленко и др. // Научные ведомости Белгородского гос. ун-та. – 2006. – № 3 (23), вып. 4. – С. 43-51.

5. Покровский, М.В. Эндотелиопротективные эффекты L-аргинина при экспериментальном моделировании дефицита оксида азота / М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, В.И. Кочкаров, Е.Б. Артюшкова // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2008. – Т. 71, № 2. – С. 29-31.

6. Солонин, Д.Л. Роль оксида азота в регуляции растяжимости артериальных сосудов у нормо- и гипертензивных крыс / Д.Л. Сонин, А.В. Сыренский, М.М. Галагудза и др. // Артериальная гипертензия. – 2002. – № 6. – С. 57-64.

7. Berkowitz, D. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels / D. Berkowitz, R. White et al // Circulation. – 2003. – Vol. 108. – P. 2000-2006.

8. Bivalacqua, T. Increased expression of arginase II in human diabetic corpus cavernosum in diabetic-associated erectile dysfunction / T. Bivalacqua, W. Hellstrom, P. Kadowitz et al // Biochem Biophys Res Commun. – 2001. – Vol. 283. – P. 923-927.

9. Böger, R.H. The pharmacodynamics of L-arginine / R.H. Böger // J. Nutr. – 2007. – Vol. 137. – P. 1650-1655.

10. Chicoine, L.G. Arginase inhibition increases nitric oxide production in bovine pulmonary arterial endothelial cells / L.G. Chicoine, M.L. Paffet, T.L. Young et al // Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. – 2004. – Vol. 287. – P. 60-68.

11. Crombez, E.A. Hyperargininemia due to liver arginase deficiency / E.A. Crombez, S.D. Cederbaum // Mol Genet Metabol. – 2005. – Vol. 84.– P. 243-251.

12. Demougeot, C. Arginase inhibition reduced endothelial dysfunction and blood pressure rising in spontaneously hypertensive rats / C. Demougeot, A. Prigent-Tesssier, C. Marie et al // J Hypertens. – 2005. – Vol. 23.– P. 971-978.

13. Drexler, H. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholestrolemic patients by L-arginine / H. Drexler, A.M. Zeiher, K. Meinzer // Lancet. – 1991. – Vol. 67. – P. 1301-1308.

14. Durante, W. Arginase induces endothelial dysfunction and hypertension in obese Zucker rats / W. Durante, F.K. Johnson, R.A. Johnson et al // Diabetes. – 2005. – Vol. 54. – P. 120-124.

15. Hein, T.W. Ischemia-reperfusion selectively impairs nitric oxide-mediated dilation in coronary arterioles: counteracting role of arginase / T.W. Hein, C. Zhang, W. Wang et al // FASEB J. – 2003. – Vol. 17. – P. 2328-2330.

16. Ignarro, L.J. Role of arginine-nitric oxide pathway in the regulation of vascular smooth muscle cell proliferation / L.J. Ignarro, G.M. Buga, L.H. Wei et al // Proc Natl Acad Sci USA. – 2001. – Vol. 98. – P. 4202-4208.

17. Iyer, R. K. Mouse model for human arginase deficiency / R. K. Iyer, P. K. Yoo, RM. Kern et al // Mol Cell Biol. - 2002. – Vol. 22.– P. 4491–4498.

18. John, S, Schmeider R. E. Potential mechanisms of impaired endothelial function in arterial hypertension and hypercholesterolemia / S. John, R.E. Schmeider // Curr Hypertens Rep. – 2003. – Vol. 5. – P. 199-207.

19. Johnson, F.K. Arginase inhibition restores arteriolar endothelial function in Dahl rats with salt-induced hypertension / F.K. Johnson, R.A. Johnson, K.J. Peyton et al // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. – 2005. – Vol. 288. – P. 1057-1062.

20. Jung, A.S. Modulation of contractility by myocyte-derived arginase in normal and hypertrophied feline myocardium / A.S. Jung, R.M. Wilson, S.R. Houser et al // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2005. – Vol. 34. – P. 298-305.

21. Kampfer, H. Expression and activity of arginase isozymes during normal and diabetic-impaired skin repair / H. Kampfer, J. Pfeilschifter, S. Frank // J Invest Dermatol. – 2003. – Vol. 121. – P. 1544-1551.

22. Kawamoto, S.Complete nucleotide sequence of cDNA and deduced amino acid sequence of the rat liver arginase / S. Kawamoto, Y. Amaya, K. Murakami et al // Amaya J Biol Chem. – 1987. – Vol. 262. – P. 6280-6283.

23. Lefer, A. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischemia-reperfusion / A. Lefer, D.J. Lefer // Cardiovas Res. – 1996. – Vol. 32. – P. 743-751.

24. Li, H. Regulatory role of arginase I and II in nitric oxide, polyamine, and proline synthesis in endothelial cells / H. Li, C.J. Meininger, J.R. Hawker et al // Am J Physiol Endocrinol Metab. – 2001. – Vol. 280. – P. 75-82.

25. Loscalzo, J. An experiment in nature: genetic L-arginine deficiency and NO insufficiency / J. Loscalzo // J Clin Invest. – 2001. – Vol. 108. – P. 663-664.

26. Loyaga-Rendon, R. Accumulated endogenous nitric oxide synthase inhibitors, enhanced arginase activity, attenuated dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity and intimal hyperplasia in premenopausal human uterine arteries / R. Loyaga-Rendon, S. Sakamoto, M. Beppu et al // Atherosclerosis. – 2005. – Vol. 178. – P. 231-239.

27. Meurs, H. Arginase and asthma: novel insights into nitric oxide homeostasis and airway hyperresponsiveness / H. Meurs, H. Maarsingh, J. Zaagsma // TIPS. – 2003. – Vol. 24. – P. 450-454.

28. Morris, C.R. Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and limited substrate availability in sickle cell disease / C.R. Morris, G.J. Kato, M. Poljakovic et al // JAMA. – 2005. – Vol. 294. – P. 81-90.

29. Morris, S.M. Human type II arginase: sequence analysis and tissue-specific expression Gene / S.M. Morris, D. Bhamidipati, D. Kepka-Lenhart // Mol Genet Metabol. – 1997. – Vol. 193. – P. 157-161.

30. Shi, O. Generation of a mouse model for arginase II deficiency by targeted disruption of the arginase II gene / O. Shi, S.M. Morris, H. Zoghbi et al // Mol Cell Biol. – 2001. – Vol. 21. – P. 811-813.

31. Teupser, D. Identification of macrophage arginase I as a new candidate gene of atherosclerosis resistance / D. Teupser, R. Burkhardt, W. Wilfert, I. Haffner et al // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2006. – Vol. 26. – P. 365-371.

32. Tousoulis, D. L-Arginine in cardiovascular disease: dream or reality? / D. Tousoulis, C. Antoniades, C .Tentolouris // Vasc Med. – 2002. – Vol. 7. – P. 203-211.

33. Vockley, J.G. Cloning and characterization of the human type II arginase gene / J.G. Genomics, C.P. Jenkinson, H. Shukla et al // Vockley. – 1996. – Vol. 2. – P. 118-123.

34. White, A.R. Knockdown of arginase I restores NO signaling in the vasculature of old rats / A.R. White, S. Ryoo, D. Li et al // Hypertension. – 2007. – Vol. 19. – P. 57-62.

35. Xu, W. Increased arginase II and decreased NO synthesis in endothelial cells of patients with pulmonary artery hypertension / W. Xu, T. Kaneko, S. Zheng et al // FASEB J. – 2004. – Vol. 18. – P. 1746-1748.

36. Zhang, C. Constitutive expression of arginase in microvascular endothelial cells counteracts nitric oxide-mediated vasodilatory function / C. Zhang, T.W. Hein, W. Wang et al // FASEB J. – 2001. – Vol. 15. – P. 1264-1266.

ARGINASE IS A NEW TARGET FOR PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF THE ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

V.I. YAKUSHEV [1]
M.V. POKROVSKY [1]
M.V. KOROKIN [1]
T.G. POKROVSKAYA [1]
V.A. KULIKOVSKAYA [1]
I.N. ERSHOV [1]
E.A. BESHMELNITSYNA [1]
A.A. ARUSTAMOVA [1]
L.V. KOTELNIKOVA [2]

[1] Belgorod National Research University

[2] Kursk State Medical University

e-mail: vladi-yakus@yandex.ru

Arginase catalyzes the hydrolysis of the substrate for nitric oxide synthesis L-arginine to L-ornithine and urea. In the human organism two isoforms of arginase were found. Arginase I localizes in the cytoplasm of cells and predominantly expresses in the liver. Arginase II is a mitochondrial protein that expresses in the kidney, prostate and vascular wall. Arginase II hydrolyzes L-arginine, thereby reducing the synthesis of the nitric oxide and leading to the development of the endothelial dysfunction and the emergence of a number of the cardiovascular pathology.

Keywords: L-arginine, arginase I, arginase II, endothelial dysfunction, diabetes, hypertension, endothelial nitric oxide synthase.

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

УДК 116.2; 617.7-089

АДЕКВАТНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА В ЦЕЛЯХ ПРОФИЛАКТИКИ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ЕГО АТРОФИИ

А.И. БЕРЕЗНИКОВ
Н.Г. ФИЛИППЕНКО

Курский государственный медицинский университет

e-mail: FilippenkoNG@kursksmu.net

Предлагается система правил нечеткого вывода для выделения четырех стадий невритов зрительного нерва. Полученная система решающих правил обеспечивает уверенность в принимаемых решениях не хуже 0,9 в зависимости от количества собираемой информации. Лечение, подобранное в зависимости от стадии и тяжести патологии, значительно эффективнее традиционного.

Ключевые слова: нечеткие модели, диагностика стадий, лечение невритов зрительного нерва.

Введение: Атрофия зрительного нерва развивается как следствие многих заболеваний, когда имеются воспаление, отек, сдавление, повреждение, дегенерация волокон зрительного нерва или сосудов, питающих его. Часто атрофия зрительного нерва развивается при поражении центральной нервной системы, опухолях, сифилисе, абсцессах головного мозга, энцефалитах, рассеянном склерозе, травмах черепа, интоксикациях, алкогольных отравлениях метиловым спиртом и др. Атрофии зрительного нерва могут предшествовать невриты, застойный диск, гипертоническая болезнь и атеросклеротические изменения сосудов. Нередко атрофия зрительного нерва наблюдается при отравлении хинином, авитаминозах, голодании, башнеобразном черепе, при лечении в прошлом плазмоцидом. Атрофия зрительного нерва может развиваться и при таких заболеваниях, как непроходимость центральной артерии сетчатки и артерий, питающих зрительный нерв, при увеитах, пигментной дегенерации сетчатки. Лечение атрофии зрительных нервов – весьма сложная и трудная проблема из-за крайне ограниченной способности к регенерации нервной ткани. Все зависит от того, насколько распространен дегенеративный процесс в волокнах нерва и сохранилась ли их жизнеспособность. В связи с этим ранняя диагностика и адекватное лечение, соответствующее тяжести поражения, патологий, приводящих к атрофии, является эффективным способом предотвращения возникновения частичной атрофии зрительного нерва (ЧАЗН) и стойкого снижения зрительных функций.

Цель: разработать методики дифференциальной диагностики стадий невритов, выделяемых в зависимости от изменения зрительных функций, и схемы лечения, зависящие от стадии поражения.

Материалы и методы: в лечении ЧАЗН воспалительного генеза целесообразно переходить к дифференциальной диагностике стадий невритов, выделяемых в зависимости от изменения зрительных функций, которых можно различить четыре, обозначая их римскими цифрами [1, 10].

Такое разделение стадий может производиться по характерным изменениям функций и виду увеличенного глазного дна с использованием следующей системы признаков: X1 – изменение остроты зрения; X2 – изменение границ поля зрения; X3 – наличие скотом; X4 – степень гиперемии диска зрительного нерва; X5 – площадь сглаженности границ диска зрительного нерва [2, 12].

Хорошей информативностью при разделении стадий ЧАЗН обладают признаки, получаемые при электрофизиологических исследованиях (X6 – порог возникновения электрофосфена, X7 – критическая частота исчезновения электрофосфена и по показателям электроэнцефалографии – по величине зрительно вызванных потенциалов (ЗВП) признак X8) [2, 9, 14].

Анализ полученного признакового пространства показал, что для части признаков могут быть построены функции принадлежностей по выделенным стадиям, а для части признаков целесообразно ставить в соответствии номеру его градации уверенность в определении стадии ЧАЗН [7, 11].

По данным разведочного анализа, согласованного с экспертным мнением, по каждому из введенных признаков были получены следующие частные решающие правила.

1. По признаку X1 были построены квадратичные функции принадлежностей к стадиям первой $\mu_1(X1)$, второй $\mu_2(X1)$, третьей и четвертой $\mu_T(X1)$ с носителем по шкале X1, определяемым остротой зрения выраженным в относительных единицах.
2. По признаку X2 вводятся следующие градации:
   0 – сужение на 15-20 градусов по одному меридиану;
   1 – сужение на 20-30 градусов по нескольким меридианам;
   2 – концентрическое сужение до 10 градусов;
   3 – поле зрения не определяется.
3. По признаку X3 вводятся следующие градации:
   0 – отсутствие скотом;
   1 – относительная скотома;
   2 – абсолютная скотома.
4. По признаку X4 вводятся следующие градации:
   1 – ДЗН розовый ;
   2 – гиперэмия половины ДЗН;
   3 – гиперэмия всего ДЗН ;
   4 – ДЗН гиперэмирован, выбухает, воронка заполнена эксудатом.
5. По признаку X5, характеризующему площадь сглаженности границ ДЗН, вводится следующая система градаций:
   1 – границы четкие;
   2 – сглаженность границы ДЗН в одном секторе;
   3 – сглаженность границы ДЗН в двух секторах ;
   4 – границы ДЗН не дифференцируются.
6. По признаку X6 функция принадлежностей определяется на носителе X6, определяющем порог возникновения электрофосфена.
7. По признаку X7 определены графики функций принадлежностей $\mu_1(X7)$, $\mu_2(X7)$ и $\mu_T(X7)$ с носителем X7, определяющим критическую частоту исчезновения электрофосфена.
8. По признаку X8 определены графики функций принадлежностей $\mu_1(X8)$ и $\mu_T(X8)$ с носителем X8, определяемым величиной зрительно вызванного потенциала (ЗВП) в милливольтах.

При отсутствии какого-либо из диагностических признаков соответствующие функции принадлежностей принимаются равными нулю. При использовании нечетких диагностических правил достигаются следующие максимальные значения уверенностей в принимаемых решениях.

По группе визуально наблюдаемых признаков X_1 – X_5 – $КУ_{1T\,max} = 0{,}93$, по группе инструментальных признаков X_6 – X_8 – $КУ_{1T\max} = 0{,}748$. Общая уверенность в отнесении обследуемого к классу неврит достигает величины 0,98. Для начальной стадии по группе визуально наблюдаемых признаков $КУ_{2T\,max} = 0{,}86$, по группе инструментальных признаков X_6 – X_8 – величины 0,748. Общая уверенность достигает величины 0,96. Для класса неврит (третья или четвертая стадия) по группе визуально наблюдаемых признаков $КУ_{TT\,max} = 0{,}75$, а общая уверенность вместе с группой признаков X_6 – X_8 – величины 0,93.

Для класса неврит, третья стадия уверенность в принимаемых решениях достигает величины 0,75, а для класса четвертая стадия – 0,975.

Правильная постановка диагноза во многом определяет тактику лечения и, соответственно, успех лечения. В связи с этим мы применили вышеописанную методику в практической деятельности ОБУЗ «Микрохирургия глаза» г. Курска.

Результаты: за период с 2000 года в нашей клинике было пролечено 74 пациента (85 глаз) с атрофией различного генеза. Среди больных невритом зрительного нерва 49 женщин и 25 мужчин. До 20 лет и старше 60 лет диагноза неврита зрительного нерва в период 2007-2010 гг. не встречается. Наибольшее количество больных – 35 человек – приходится на возраст от 20 лет до 29 лет включительно, 17 больных – в возрасте от 30 до 39 лет, 18 больных – в возрасте от 40 до 49 лет, и 4 больных в возрасте 50-69 лет.

Частота встречаемости ретробульбарного неврита превышает встречаемость интрабульбарного неврита. В исследуемой группе 55 больным был выставлен диагноз ретробульбарного неврита и лишь 19 больным – интрабульбарного неврита зрительного нерва. При анализе жалоб больных при поступлении установлено, что наиболее частой из них (100% больных) является резкое снижение остроты зрения в течение нескольких дней. При этом острота зрения при поступлении составляла от 0,02 до 0,5 (в среднем – 0,23) При поступлении больные также предъявляли жалобы на появление темного «пятна» перед глазами. У 44 больных данное темное «пятно» предшествовало снижению остроты зрения, у 12 человек появилось после начала снижения остроты зрения. Объективно наличие скотомы выявлено при периметрии у 67 человек. Нарушение цветоощущения установлено у 59 больных. Боли при взгляде вверх явились причиной жалоб 14 больных.

Все пациенты были разделены на две группы. Пациентам первой группы была проведена стандартная терапия, включающая введение антибиотиков (гентамицин, линкомицин, цефазолин) внутримышечно, ретробульбарно дексаметазона, витаминов группы В внутримышечно, эмоксипина под кожу виска. Также всем пациентам давались антигистаминные препараты и мочегонные (фуросемид). В эту группу вошло 36 пациентов (42 глаза).

Вторую группу составили пациенты 38 человека (43 глаза). Всем этим пациентам проводилась дифференцированная, в зависимости от стадии, терапия. При первой стадии это введение антибиотиков (гентамицин, линкомицин, цефазолин) внутримышечно, ретробульбарно дексаметазона, витаминов группы В внутримышечно, эмоксипина под кожу виска, антигистаминные препараты и диуретики внутрь. При лечении пациентов с невритами второй стадии кроме антибиотиков вводился метронидазол (метрогил) внутривенно, витамины группы В внутримышечно, антигистаминные препараты и диуретики внутрь. Также пациентам была проведена катетеризация ретробульбарного пространства с последующим проведением курса терапии, включающей введение дексаметазона эмоксипина и антибиотиков ретробульбарно по разработанной нами методике [3, 8]. При лечении пациентов с невритами третьей стадии к вышеприведенному лечению добавлялась субтеноновая имплантация коллагеновой губки (СИКГ) пропитанной пролонгированным стероидом-кеналогом. В лечении пациентов с четвертой стадией добавлялась декомпрессия зрительного нерва – оперативное вмешательство, выполняемое под общим наркозом.

Продолжительность курса терапии в обеих группах составила 12 дней.

Математическую обработку полученных данных проводили методами вариационной статистики с использованием программы «Microsoft Excel».

Результаты лечения представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Результаты лечения пациентов первой группы (традиционное лечение)

Стадия	*Улучшение, %*	*Результат*			
		Острота зрения		*Поле зрения*	
		До лечения	*После лечения*	*До лечения*	*После лечения*
Первая	82	0,55±0,06	0,82±0,04	371±16,4	476±15
Вторая	66	0,28±0,04	0,33±0.05	245±14,8	348±12,5
Третья	51	0,06±0,05	0,19±0,04	166±15,6	236,8±11,7
Четвертая	26	0,01±0,003	0,02±0,01	108±11,1	146±13,6

Примечание: $p<0,01$ в сравнении с показателями до лечения. Случаев ухудшения не было.

Полученные результаты указывают на то, что эффективность лечения пациентов с невритами зависит от исходных функциональных данных. Так, наихудший эффект получен при лечении невритов четвертой стадии. Результаты лечения пациентов с невритами первой стадии в обеих группах примерно одинаков, так как схемы лечения идентичны. Однако при лечении

пациентов других стадий эффективность дифференцированного лечения значительно выше. Случаев ухудшения у исследуемых больных не было.

Таблица 2

Результаты лечения пациентов второй группы (дифференцированное лечение)

Стадия	*Улучшение, %*	*Результат*			
		Острота зрения		*Поле зрения*	
		До лечения	*После лечения*	*До лечения*	*После лечения*
Первая	88	0,52±0,04	0,82±0,04	321±18,4	471±22
Вторая	75	0,21±0,02	0,46±0.03	230±14,1	350±18,5
Третья	68	0,05±0,05	0,27±0,06	159±11,6	287,8±11,1
Четвертая	46	0,01±0,003	0,12±0,08	108±13,9	188±13,3

Примечание: $p<0,01$ в сравнении с показателями до лечения. Случаев ухудшения не было.

Выводы: Полученная система решающих правил обеспечивает уверенность в принимаемых решениях не хуже 0,9 в зависимости от количества собираемой информации в условиях пересекающейся структуры классов, что позволяет поставить точный диагноз и определить необходимый объем лечения.

Длительное многократное введение фармакопрепаратов к зрительному нерву через имплантированный в ретробульбарное пространство катетер является эффективным методом лечения воспалительных заболеваний зрительного нерва различного генеза.

Большинство пациентов с невритом зрительного нерва при сочетанном воздействии фармакопрепаратов и оперативных методик существенно повысили свои функциональные показатели, что уменьшает угрозу прогрессирования частичной атрофии зрительного нерва.

Наименее эффективно лечение четвертой стадии невритов зрительного нерва в связи с тяжестью поражения.

Литература

1. Абрамов, В.Г. О состоянии в отдаленные сроки зрительных функций у лиц с нормализовавшимся офтальмотонусом, оперированных по поводу открытоугольной далекозашедшей глаукомы / В.Г. Абрамов, А.С. Жердецкий, Г.М. Сирота // Физиология и патология внутриглазного давления / под ред. А.П. Нестерова. – М., 1990. – С. 61-66.

2. Алфёров, Н.Н. [Гутник И.Н., Рабичев И.Э.] // 2-й Международный симпозиум по рефракционной хирургии, имплантации ИОЛ и комплексному лечению атрофии зрительного нерва : тезисы докладов. – М., 1991. – С. 206.

3. Баранов, В.И. Биоуправляемая электростимуляция атрофий зрительного нерва / В.И. Баранов, Ф.А. Пятакович // Человек и его здоровье : сб. трудов. – Курск, 1999. – Вып. 2. – С. 194.

4. Басинский, С.И. Метод лечения частичных атрофий зрительного нерва, вызванных оптохиазмальным арахноидитом / С.И. Басинский, Э.А. Михальский // 7-й съезд офтальмологов России : тезисы докладов. – М., 2000. – С. 172.

5. Дубовская, Л.А. [Фильчикова Л.И., Полянский В.Б. и др.] // 2-й Международный симпозиум по рефракционной хирургии, имплантации ИОЛ и комплексному лечению атрофии зрительного нерва : тезисы докладов. – М., 1991. – С. 189.

6. Каменских, Т.Г. Клинико-функциональные результаты комплексной терапии частичной атрофии зрительного нерва: Автореф. дисс. канд.мед.наук.- М., 1997.

7. Кореневский, Н.А. Проектирование нечётких решающих сетей, настраиваемых по структуре данных для задач медицинской диагностики / Н.А. Кореневский // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2005. – Т. 4, №1. – С. 12-20.

8. Кроль, Д.С., Березников А.И. и др. Способ лечения атрофии зрительного нерва. Пат. 2008859 РФ.

9. Лысков, Е.Б. Электрофизиологическая диагностика при синдроме частичной атрофии зрительных нервов / Е.Б. Лысков, А.В. Никольский // Вестник офтальмологии. – 1990. – №2 – С. 22-27.

10. Нестеров, А.П. Глаукома / А.П. Нестеров. – М., 1995. – 256 с.

11. Полянский, В.Б. [Рудерман Г.Л., Компанич Е.Б. и др.] // Сенсерные системы. – 1992 – Т.6, №2. – С. 67-77.

12. Серова, Н.К. [Елесеева Н.М., Гнездецкий В.В. и др.] // 2-й Международный симпозиум по рефракционной хирургии, имплантации ИОЛ и комплексному лечению атрофии зрительного нерва : тезисы докладов. – М., 1991. – С. 222.

13. Фильчикова, Л.И. [Мосин И.М., Крюковских О.Н. и др.] // Вестник офтальмологии. – 1994. – №3 – С. 29-32.

14. Шпак, А.А. Зрительно вызванные потенциалы у больных с атрофией зрительного нерва при проведении лечебной магнитостимуляции / А.А. Шпак, Л.Ф. Линник, Н.Д. Шигине // Офтальмохирургия. – 1992. – №2. – С. 52-58.

ADEQUATE TREATMENT OF INFLAMMATORY DISEASES OF OPTIC NERVE FOR PREVENTION OF ITS ATROPHY

A.I. BEREZNIKOV
N.G. FILIPPENKO

Kursk State Medical University

e-mail: FilippenkoNG@kursksmu.net

A system of rules of fuzzy inference to select the four stages of nevritis of the optic nerve. The resulting system of decision rules provides confidence in the decisions made are not worse than 0.9, depending on the amount of information collected in the intersecting structures of classes.

Keywords: fuzzy model, diagnosis of stages, tritment of nevritis of the optic nerve.

УДК: 617.7-089

ИЗМЕНЕНИЕ МЕТОДИК КОМПЕНСАЦИИ ВНУТРИГЛАЗНОГО ДАВЛЕНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ АТРОФИИ ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА ПРИ ГЛАУКОМЕ ЗА ПОСЛЕДНИЕ ДЕСЯТЬ ЛЕТ ПО ДАННЫМ КЛИНИКИ

А.И. БЕРЕЗНИКОВ
Н.Г. ФИЛИППЕНКО

Курский государственный медицинский университет

e-mail: FilippenkoNG@kursksmu.net

Проведен сравнительный анализ тактики компенсации внутриглазного давления и лечения атрофии зрительного нерва при глаукоме за 10 лет. Больных с компенсацией внутриглазного давления после проведения консервативной терапии в 2010 году выявлено почти в 2 раза больше по сравнению с 2001 годом, в то время, как к хирургическому лечению стали прибегать реже. К 2010 году число хирургических операций сократилось в 1,5 раза по сравнению с 2001 годом.

На настоящем этапе в терапии глаукоматозной атрофии зрительного нерва наравне с применением новых препаратов все шире используются различные оперативные вмешательства.

Ключевые слова: глаукома, компенсация внутриглазного давления, лечение атрофии зрительного нерва.

Глаукома является одним из наиболее распространенных и тяжелых заболеваний органа зрения. По данным ВОЗ (2002 г.), глаукома является одной из основных причин слепоты и слабовидения (12%), уступая по данному показателю лишь катаракте (47%). Количество больных первичной глаукомой, ослепших на оба глаза, достигло 4,5 млн человек, что послужило поводом для включения данной патологии в список приоритетных глазных заболеваний ВОЗ [5]. По данным различных авторов, она приводит к развитию необратимой слепоты в 5-33% случаев[1, 2, 3].

Несмотря на очевидный прогресс в офтальмологии, лечение глаукомы остается сложной и до конца не изученной проблемой. Существует два основных подхода к компенсации внутриглазного давления (ВГД) – это консервативное, медикаментозное лечение и хирургическое снижение офтальмотонуса. В лечении атрофии зрительного нерва применяются медикаментозная терапия, физиотерапевтические воздействия и оперативные вмешательства.

У всех методик имеются положительные и отрицательные стороны [2, 3, 4, 7, 12].

Цель исследования: проследить динамику изменения методик в лечении впервые выявленной глаукомы за последние 10 лет по данным клиники КОКБ МГ.

Задачи исследования:

1. Провести анализ сроков выявления глаукомы в 2001, 2006, 2010 годах по данным КОКБ МГ.

2. Проанализировать эффективность лечения глаукомы (компенсация ВГД и лечение глаукоматозной атрофии зрительного нерва) различными способами: консервативным и хирургическим.

3. Сравнить приоритеты в лечении глаукомы за 2001, 2006, 2010 годы.

Материалы и методы.

Проведен ретроспективный анализ 172 историй болезни за 2001, 2006, 2010 годы включительно на базе Курской областной клинической больницы микрохирургии глаза.

Среди обследованных за 2001 год мужчины составляют 50,9%, женщины 49,1%, за 2006 год мужчины – 48,9%,женщины – 51,1%, за 2010 мужчины – 56,4%, женщины – 43,6%. Из них за 2001 год I стадия глаукомы установлена у 9,8% больных, II стадия – у 30%, III стадия – у 51%, IV стадия – у 9,8%.

За 2006 год I стадия глаукомы установлена у 17,7% больных, II стадия – у 55,5%, III стадия – у 22,2%, IV стадия – у 4,4%.

За 2010 год I стадия глаукомы установлена у 20,5% больных, II стадия – у 57,5%, III стадия – у 19,8%, IV стадия – у 2,2%.

Возраст больных за период 2001, 2006, 2010 гг. колеблется в пределах от 50 до 86 лет. Средний возраст пациентов в исследуемых годах составляет 68 лет.

Результаты исследования.

За 2001 год были проведены следующие виды лечения:

– консервативная терапия составила 35,3%, была представлена препаратами группы β-адреноблокаторов (окупрес, арутимол), миотиками (пилокарпин).

Компенсация ВГД препаратами группы β-адреноблокаторов составила 33,3% случаев, пилокарпином 2%;

– хирургическое лечение составило 64,7%, заключалось в проведении следующих видов операций: глубокая склерэктомия (ГСЭ), непроникающая глубокая склерэктомия (НГСЭ). 58,3% выполненных операций пришлось на ГСЭ; 6,4% – на НГСЭ.

Лечение атрофии зрительного нерва состояло в назначении пирацетама внутримышечно, витаминов группы В внутримышечно, эмоксипина под конъюнктиву и под кожу в области сосцевидного отростка в 72% случаев. В 28% – применялась катетеризация ретробульбарного пространства с последующей прямой элетрофармакостимуляцией – введением в катетер пирацетама, эмоксипина, трентала, дексаметазона и электростимуляция синусоидальным модулированным током по электроду, вводимому через катетер.

За 2006 год были проведены следующие виды лечения:

– консервативная терапия составила 48,8%, была представлена препаратами группы β-адреноблокаторов (окупрес, арутимол), простагландинами F2-альфа (ксалатан, траватан), комбинированными препаратами (фотил: тимолол 0,5%+пилокарпин 4%).

Компенсация ВГД препаратами группы β-адреноблокаторов составила 29% случаев, окупрес+траватан – 8,88% случаев, фотил – 6,66% случаев, ксалатан – 4,22% случаев;

– хирургическое лечение составило 51,12%. 20% выполненных операций пришлось на ГСЭ; 31,12% – на НГСЭ.

Лечение атрофии зрительного нерва состояло в назначении пирацетама внутримышечно, кортексина суббульбарно и внутримышечно, витаминов группы В внутримышечно, эмоксипина под конъюнктиву и под кожу в области сосцевидного отростка в 67% случаев. В 22% – применялась катетеризация ретробульбарного пространства с последующей прямой элетрофармакостимуляцией – введением в катетер пирацетама, эмоксипина, трентала, дексаметазона и электростимуляцией синусоидальным модулированным током по электроду, вводимому через катетер. В 11% применялось оперативное введение в субтеноново пространство коллагеновой губки, пропитанной эмоксипином или кортексином.

За 2010 год были проведены следующие виды лечения:

– консервативная терапия составила 61,5%, была представлена препаратами группы β-адреноблокаторов (окупрес, арутимол, окумед, бетоптик), простагландинами F2-альфа (ксалатан, траватан), ингибиторами карбоангидразы (азопт).

Компенсация ВГД препаратами группы β-адреноблокаторов составила 31,27% случаев, простагландинами F2-альфа – 20% случаев, окумед+ксалатан – 5,13% случаев, окумед+азопт – 5,13% случаев;

– хирургическое лечение составило 38,5%. 33,4% выполненных операций пришлось на ГСЭ; 5,13% – на НГСЭ. Лечение атрофии зрительного нерва состояло в назначении пирацетама внутримышечно, кортексина суббульбарно и внутримышечно, витаминов группы В внутримышечно, эмоксипина под конъюнктиву и под кожу в области сосцевидного отростка в 53% случаев. В 20% – применялась катетеризация ретробульбарного пространства с последующей прямой элетрофармакостимуляцией – введением в катетер пирацетама, эмоксипина, трентала, дексаметазона и электростимуляцией синусоидальным модулированным током по электроду, вводимому через катетер. В 21% случаев применялось оперативное введение в субтеноново пространство коллагеновой губки, пропитанной эмоксипином или кортексином. В 5% проводилась вазореконструктивная операция – перевязка поверхностной височной артерии, 1% пришелся на проведение оперативной декомпрессии зрительного нерва.

Выводы:

1. Таким образом, в 2001 году больший процент впервые выявленной глаукомы приходится на III и IV стадию болезни, что составило 51% и 9,8%, когда функции глаза были значительно снижены. В дальнейшем эта тенденция изменилась и в 2010 году преимущество составили больные с I и II стадией болезни – 20,5% и 57,5% соответственно, а процент больных с III и IV стадией снизился и составил 19,8% и 2,2%.

2. Компенсация внутриглазного давления после проведения консервативной терапии у больных с впервые выявленной глаукомой на базе КОКБ МГ к 2010 году составила 61,5%, что в 1,8% больше по сравнению с 2001 годом. В то время, как к хирургическому лечению стали прибегать реже, что связано с внедрением в практику лечения новых эффективных препаратов простагландинов или их аналогов и комбинированных препаратов. К 2010 году число хирургических операций (38,5%) сократилось в 1,5 раза по сравнению с 2001 годом.

3. На настоящем этапе в терапии глаукоматозной атрофии зрительного нерва наравне с применением новых препаратов все шире используются различные оперативные вмешательства.

Литература

1. Алексеев, В.Н. К вопросу о методиках определения давления цели / В.Н. Алексеев, Т.Г. Лобова // III Всероссийская школа офтальмолога : материалы. – 2004. – С. 16-21.
2. Балалин, С.В. Определение целевого давления у больных первичной глаукомой с позиции толерантного ВГД / С.В. Балалин // 8-й съезд офтальмологов России : тез. докл. – М., 2005. – С. 149.
3. Водовозов, А.М. Толерантное и интолерантное давление при глаукоме / А.М. Водовозов. – Волгоград : БИ, 1991. – С. 160.
4. Волков, В.В. Глаукома при псевдонормальном давлении / В.В. Волков. – М. : Медицина, 2001. – С. 352.
5. Волков, В.В. Типичные для открытоугольной глаукомы структурно-функциональные нарушения в глазу – основа для построения её современной классификации / В.В. Волков // Вестник офтальмологии. – 2005. – № 5. – С. 35-38.
6. Егоров, Е.А. Офтальмофармакология / Е.А. Егоров, Ю.С. Астахов, Т.В. Ставицкая. – М. : Гэотар-Мед. – 2004. – С. 463.
7. Казачкова, Л.Е. Лечение больных первичной открытоугольной глаукомой с использованием патогенетически ориентированной комплексной немедикаментозной терапевтической программы : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Л.Е. Казачкова. – Красноярск, 2002. – С. 14-24.
8. Клиническая фармакология средств, используемых при глаукоме (для врачей – офтальмологов, провизоров-информаторов) / Н.А. Коновалова, Э.А. Ортенберг, Н.С. Курзаева и др. – Тюмень : Академия, 2002. – 28 с.
9. Козина, Е.В., Клинико-психологическая характеристика больных первичной открытоугольной глаукомой с нормальным и повышенным внутриглазным давлением / Е.В. Козина, В.Е. Вятскин // Межрегиональная конференция офтальмологов, посвященная 40-летию детской глазной службы Красноярского края : сб. статей. – Красноярск : Красноярский писатель, 2003. – С. 146-147.
10. Морозов, В.И. Фармакотерапия глазных болезней / В.И. Морозов, А.А. Яковлев. – М. : Медицина, 1998. – 336 с.
11. Нестеров, А.П. Глаукома / А.П. Нестеров. – М. : Медицина, 1995.
12. Хадикова, Э.В. О способе определения индивидуально-переносимого внутриглазного давления у больных глаукомой / Э.В. Хадикова, Т.Е. Егорова // Клиническая офтальмология. – 2004. – Т. 5, №2. – С. 51-53.
13. Шмырева, В.Ф., К определению индивидуально-переносимого внутриглазного давления (давления цели) при первичной глаукоме / В.Ф. Шмырева, О.А. Шмелева-Демир, Ю.В. Мазурова // Вестник офтальмологии. – 2003. – № 6. – С. 3-6.

CHANGE OF TREATMENT METHODS OF INTRAOCULAR PRESSURE AND ATROPHY OF THE OPTIC NERVE IN GLAUCOMA IN THE LAST TEN YEARS IN THE CLINIC

A.I. BEREZNIKOV
N.G. FILIPPENKO

Kursk State Medical University

e-mail: FilippenkoNG@kursksmu.net

The comparative analysis of tactics of compensation of intraocular pressure and treatment of an atrophy of an optic nerve at glaucoma in 10 years is carried out. There were 2 times more patients with compensation of intraocular pressure after carrying out the conservative therapy in 2010 in comparison with 2001. While, the surgical treatment was used less often. By 2010 the number of surgeries was reduced in 1,5 times in comparison with 2001.

At the present stage in therapy of a glaukoma atrophy of an optic nerve with application of new preparations various operative interventions are more widely used.

Keywords: glaucoma, compensation of intraocular pressure, treatment of an atrophy of an optic nerve.

УДК 616-097:616.37-002

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У ПАЦИЕНТОК С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

М.И. БОЕВА
А.А. КОНОПЛЯ

Курский государственный медицинский университет

e-mail: kanabis@nm.ru

Выявлены нарушения уровня цитокинов, компонентов системы комплемента, продуктов перекисного окисления липидов в вагинально-цервикальном смыве у пациенток с папилломавирусной инфекцией. Определена эффективность применения комплексного стандартного лечения в коррекции выявленных иммунометаболических нарушений у пациенток с папилломавирусной инфекцией с включением генферона и лонгидазы.

Ключевые слова: иммунный статус, метаболический статус, папилломавирусная инфекция, генферон, лонгидаза.

Папилломавирусная инфекция (ПВИ) является наиболее часто встречающейся вирусной инфекцией, передаваемой половым путем. Однако данные о частоте ПВИ урогенитального тракта в России недостаточно полны и основаны на статистике отдельных медицинских учреждений или врачей, занимающихся этой патологией [1, 2].

ПВИ чрезвычайно сложна для диагностики, особенно ее латентная форма, при которой, несмотря на наличие вирусов, морфологических изменений в ткани не наблюдается. Кроме того, вирус папилломы человека рассматривается как этиологический фактор в развитии рака шейки матки. Наиболее онкогенные вирусы папилломы человека (16 и 18 тип) идентифицируются методом ПЦР задолго до появления первых цитологических, и уж тем более клинических признаков заболевания, что предоставляет возможность начать лечение на ранних стадиях заболевания и предотвратить его развитие [4, 7].

Роль иммунной системы в развитии неоплазии исследовалась многими авторами. Но до настоящего времени недостаточно изучены иммунологические механизмы, способствующие персистенции вируса папилломы человека в организме человека или его элиминации. На сегодняшний день окончательно не определена роль защитных иммунологических механизмов в исходе папилломавирусной инфекции, особенно на местном уровне [4, 8, 9].

В связи с этим поиск эффективных фармакологических комбинаций, действующих на иммунометаболические расстройства при ХСО, является актуальной и своевременной задачей [6, 10].

Цель исследования – установление нарушений на основе показателей иммунного и оксидантного статуса на местном уровне у пациенток с папилломавирусной инфекцией и коррекция выявленных нарушений с использованием генферона и лонгидазы.

Материалы и методы.

В работе представлены данные обследования и лечения на базе ОБУЗ «Курский областной перинатальный центр» 42 пациентки с верифицированным диагнозом: папилломавирусная инфекция, основанном на данных комплекса клинико-инструментальных и лабораторных методов обследования. Группу контроля составили 24 здоровые женщины, средний возраст которых – 30,8±2,8 лет.

Все пациентки амбулаторно получали комплексное традиционное лечение, включающее изопринозин по 2 драже 3 раза в день – 3 курса по 10 дней с интервалом 1 месяц. Кроме этого, 17 пациентов дополнительно получали препараты «Генферон» (свечи вагинальные 500000 МЕ через 12 часов №10) и «Лонгидаза» (3 000 МЕ – внутримышечно через 48 часов № 7).

Лабораторные методы исследования проводились по общепринятым методикам при поступлении больных в стационар. При оценке результатов за основу брались физиологические нормы, соответствующие международной системе единиц (СИ) в клинических исследованиях [5]. Содержание в вагинально-цервикальном смыве ФНОα, ИЛ-1α, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-1Ra, неоптерина, ИЛ-2, C_3, C_4, C_{5a}-компонентов системы комплемента и стабильных метаболитов оксида азота (CMNO) определялось с помощью тест-систем (ООО «Протеиновый контур», г.Санкт-Петербург) методом твердофазного иммуноферментного анализа. Выраженность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию в вагинально-цервикальном смыве малонового диальдегида (МДА) и ацилгидроперекисей (АГП). Кроме того, определяли

активность каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), общую антиокислительную активность (ОАА) [5].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя непараметрические методы [3].

Результаты и их обсуждение.

У больных с ПВИ при первичном обращении в вагинально-цервикальном смыве выявлено повышение уровня провоспалительных (ФНОα, ИЛ-8) и противовоспалительных (ИЛ-4, РАИЛ) цитокинов, снижение содержания ИЛ-2 и неоптерина (табл. 1).

Таблица 1

Изменение иммунометаболических показателей на местном уровне у больных с ПВИ до и после лечения

Показатель	Единицы измерения	1	2	3	4
		Здоровые	До лечения	Стандартное лечение	Стандартное лечение + генферон + лонгидаза
ФНОα	пг/мл	1,85±0,18	3,16±0,17^{*1}	2,86±0,13^{1,2}	2,22±0,12$^{1-3}$
ИЛ-1α	пг/мл	58,4±5,03	52,4±2,6	24,8±2,6^{1,2}	36,2±2,3$^{1-3}$
ИЛ-8	пг/мл	19,6±2,48	32,4±3,3^{*1}	26,2±1,36^{1,2}	20,1±1,22^{*2,3}
ИЛ-2	пг/мл	14,2±1,11	8,2±0,9^{*1}	9,1±0,8^{1}	11,8±0,9$^{1-3}$
ИЛ-10	пг/мл	12,1±0,93	16,20±1,3^{*1}	19,6±1,7^{1,2}	15,8±1,5^{1,3}
ИЛ-1Ra	пг/мл	167,2±18,62	254,0±26,0^{*1}	494,0±10,7^{1,2}	254,5±11,4$^{1-3}$
C_3	мг/дл	1,5±0,16	3,6±0,2^{*1}	2,3±0,24^{1,2}	2,1±0,21^{1,2}
C_4	мг/дл	2,2±0,07	1,8±0,11^{*1}	4,2±0,31^{1,2}	2,1±0,11^{2,3}
C_{5a}	нг/мл	24,2±2,29	15,0±1,0^{*1}	23,6±2,9^{*2}	22,6±2,3^{*2}
МДА	мкмоль/л	0,66±0,07	1,86±0,17^{*1}	0,91±0,21^{*1,2}	0,69±0,09^{*2,3}
АГП	усл. ед.	0,05±0,04	0,18±0,06^{*1}	0,17±0,05^{*1}	0,11±0,02^{*1-3}
Каталаза	мккат/л	7,16±0,35	12,7±0,67^{*1}	11,4±0,27^{*1}	13,9±0,81^{*1-3}
СОД	усл. ед.	7,9±0,32	13,6±0,47^{*1}	11,4±0,37^{1}	10,1±0,54^{1}
ОАА	%	15,6±0,76	11,1±0,46^{*1}	16,2±0,54^{2}	14,9±0,89^{2}
CM_{NO}	мкмоль/л	2,04±0,15	1,56±0,18^{1}	1,67±0,11^{1}	2,42±0,13^{2,3}
Неоптерин	пг/мл	0,27±0,10	0,12±0,03^{*1}	0,24±0,03^{2}	0,21±0,02^{2}

Кроме того, у данной категории пациентов на местном уровне повышена концентрация C_3-компонента системы комплемента при снижении C_4 и C_{5a}-компонентов, что свидетельствует о разнонаправленных изменениях в активности системы комплемента (табл. 1).

В вагинально-цервикальном смыве у женщин с ПВИ выявлено повышение продуктов ПОЛ (МДА и АГП), активности каталазы, СОД и снижение уровня стабильных метаболитов оксида азота и ОАА (табл. 1).

Стандартная фармакотерапия у пациенток с ПВИ позволила нормализовать в вагинально-цервикальном смыве уровень С5а-компонента системы комплемента, неоптерина и ОАА и частично корригировать концентрацию ФНОα, ИЛ-8, МДА (табл. 1). Также стандартная терапия у данной категории женщин приводит к повышению уровня противовоспалительных цитокинов – ИЛ-10 и ИЛ-1Ra, C_4-компонента системы комплемента (табл. 1).

Таким образом, некоторые исследованные показатели иммунного статуса корригируются в сторону показателей здоровых доноров, но при этом многие не достигают таковых и остаются на том же уровне, что и до стандартного лечения. Трудности коррекции с помощью стандартной терапии нарушенных показателей иммунно-метаболического статуса связаны с особенностями инфекции и состоянием вторичного иммунодефицита.

Использование дополнительно к стандартной фармакотерапии генферона и лонгидазы позволило дополнительно нормализовать в вагинально-цервикальном смыве уровень ИЛ-8, МДА, C_4-компонента системы комплемента и корригировать практически до уровня нормы концентрацию противовоспалительных цитокинов и ИЛ-2 (табл. 1).

Улучшение показателей иммунного и оксидантного статусов совпадало с клиническим эффектом препаратов (табл. 2). У больных с ПВИ ацетобелый эпителий, атипическая зона трансформации, дис- и гиперкератоз после традиционного лечения наблюдался в каждой из групп у 6,3% пациенток, а после применения генферона и лонгидазы – у 12,5%; «немой» йоднегативный эпителий и плоскоклеточная метаплазия после традиционного лечения встречались в 18,8%, после генферона и лонгидазы – в 12,5% случаев. Койлоцитоз и пролиферация эпителия наблюдалась у 18,8% женщин после стандартного лечения и у 6,3% пациенток в группе после лечения генфероном и лонгидазой. ПЦР с ДНК папилломавирусов

человека 16 и 18 серотипов была положительной после стандартного лечения в 18,8%, после генфероном и лонгидазой по 12,5% случаев (табл. 2).

Таблица 2

Оценка клинической эффективности проводимого лечения у больных с ПВИ (%)

Критерии	Стандартное лечение	Стандартное лечение + генферон + лонгидаза
Ацетобелый эпителий	6,3	12,5
«Немой» йоднегативный эпителий	18,8	12,5
Атипическая зона трансформации	6,3	12,5
Койлоцитоз	18,8	6,3
Дискератоз	6,3	12,5
Гиперкератоз	6,3	12,5
Пролиферация эпителия	18,8	6,3
Плоскоклеточная метаплазия	18,8	12,5
Цервикальная интраэпителиальная неоплазия (sin)	—	—
Полимеразная цепная реакция с ДНК папилломавирусов человека 16 и 18 серотипов	18,8	12,5
Среднее	13,2	11,1
Сумма	119,2	100,1

На основании исследований можно сделать вывод, что по иммуномодулирующей, антиоксидантной и клинической эффективности у больных с ПВИ примененная фармакологическая схема, включающая лонгидазу и генферон, оказалась достаточно эффективной, что необходимо учитывать при разработке способов комплексного лечения данной категории пациенток.

Литература

1. Долгополова, И.А. Папилломавирусная инфекция – клиника, диагностика, лечение / И.А. Долгополова // Педиатрическая фармакология. – 2007. – Т. 4, № 1. – С. 56-60.

2. Караулов, А.В. Колонизационная резистентность слизистых цервикального канала как неотъемлемая составляющая местного иммунитета / А.В. Караулов, М.С. Афанасьев, В.А. Алешкин и др. // Иммунология. – 2011 – Т.32, № 1, С. 11-15.

3. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1980. – 243 с.

4. Лукашов, М.И. Особенности иммунного статуса пациентов с генитальным герпесом в сочетании с папилломавирусной инфекцией / М.И. Лукашов, Т.В. Бибичева, Т.П. Исаенко, Т.К. Тарасова // Человек и его здоровье : Курский науч.-практ. вестн. – 2010. – № 1. – С. 81-85.

5. Меньшиков, В.В. Лабораторные методы исследования в клинике / В.В. Меньшиков. – М. : Медицина, 1987. – 365 с.

6. Олина, А.А. Местный иммунитет и локальная иммунотерапия эктопии шейки матки / А.А. Олина, В.М. Падруль // Журналъ акушерства «Женскихъ болъзней». – 2006. – №4. – С. 71-75.

7. Роговская, С.И. Папилломавирусная инфекция гениталий: роль интерферонов в патогенезе и лечении / С.И. Роговская // Гинекология. – 2003. – Т. 5, № 5. – С. 195-198.

8. Сергеева, С.Л. Иммуномодулирующая терапия при папилломавирусной инфекции шейки матки / С.Л. Сергеева, А.И. Конопля, А.А. Конопля и др. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2006. – Т. 5, № 6. С. 85-88.

9. Хараева, З.Ф. Маркеры апоптической активности при герпетической инфекции / З.Ф. Хараева, Б.Т. Аппаева // Цитокины и воспаление. – 2008. – Т. 7, № 3. – С. 34-35.

10. Munoz, N. Chapter 1: HPV in etiology of human cancer / N. Munoz, X. Castellsaque, A.B. de Gonzalez, L. Gissmann // Vaccine. – 2006. – V. 2-24. – P. 3-10.

PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF IMMUNE AND METABOLIC DISTURBANCES AT PATIENTS WITH INFECTION OF VIRAL PAPILLOMA

M.I. BOEVA
A.A. KONOPLYA

Kursk State Medical University

e-mail: kanabis@nm.ru

Disturbances of level of cytokines, components of system of a complement, products of lipid peroxidations in vaginal cervical washout at patients with infection of viral papilloma are taped. Efficiency of application of complex standard treatment in correction of taped immune and metabolic disturbances at patients with infection of viral papilloma with including of genferon and longidaza is defined.

Keywords: immune status, metabolic status, infection of viral papilloma, genferon, longidaza.

УДК 616.8-08-039.71:615.217-057.875

ВОПРОСЫ РЕАБИЛИТАЦИИ СТУДЕНТОВ С НИЗКИМ УРОВНЕМ СОМАТИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ И ПОВЫШЕНИЯ СПОРТИВНОЙ ФОРМЫ СПОРТСМЕНОВ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСНОГО ПРИМЕНЕНИЯ КАРНИЦЕТИНА И ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

А.П. ГРИГОРЕНКО
Ж.Ю. ЧЕФРАНОВА
В.Н. ИРХИН

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: a_grigorenko@bsu.edu.ru

Проведено обследование и реабилитация 30 студентов, занимающихся спортом (легкой и тяжелой атлетикой) и не занимающихся спортом, с низким уровнем соматического здоровья и признаками нейроциркуляторной астении в возрасте от 18 до 28 лет. Обследование включало: эргоспирометрию, исследование вариабильности ритма сердца, электроэнцефалографию, эхоэнцефалографию. Функциональное исследование проведено до начала реабилитационных мероприятий и через 1 месяц после проведенных реабилитационных мероприятий. В комплекс реабилитационных мероприятий для студентов, не занимающихся спортом, включена оздоровительная тренировка и прием препарата «карницетин» в течение 1 месяца, а для студентов, занимающихся спортом, – профессиональная тренировка и прием препарата карницетин также в течение 1 месяца. В результате проведенных реабилитационных мероприятий у студентов значительно повысился уровень соматического здоровья, особенно при приеме карницетина в сочетании с физической нагрузкой.

Ключевые слова: уровень соматического здоровья, карницетин, оздоровительно-профилактические мероприятия, оценка соматического здоровья.

Введение. Последние десятилетия в России и многих странах мира характеризуются неуклонным ухудшением здоровья детей, подростков и молодежи. Наиболее значительный прирост всех нарушений состояния здоровья отмечен в 7, 10 лет и в период от 12 до 17 лет. [3, 4, 5]. При этом считается, что отрицательное влияние внутришкольной среды, и прежде всего перегрузок в начальной школе, составляет 12%, а в старшей – 21%. Физиологическая цена школьных перегрузок хорошо известна – развитие астенических состояний, ухудшение зрения, формирование хронических соматических заболеваний [1, 2]. Аналогичная ситуация характерна и для студентов младших курсов высших учебных заведений.

По данным ВОЗ, на детей в возрасте до 5 лет, составляющих только 10% населения планеты, приходится свыше 40% глобального бремени болезней, обусловленных средовыми факторами [3, 4, 5]. Все чаще встречается дисфункция вегетативной нервной системы являющаяся предрасполагающим фактором в развитии многих неврологических расстройств, в том числе сосудистых заболеваний головного мозга [6, 7].

Цель исследования – повышение уровня соматического здоровья у студентов путем оптимизации оздоровительно-диагностических мероприятий.

Мы считаем, что в основе манифестации большинства хронических неинфекционных заболеваний лежит нарушение процессов аэробного энергообразования в организме, поэтому, используя принципы, предложенные B.N. Ames [8], мы попытались путем применения препарата карницетин у студентов на фоне оптимальных физических нагрузок повысить уровень соматического здоровья.

Международное непатентованное название препарата – ацетилкарнитин. Лекарственная форма – капсулы. Состав капсулы: активное вещество – ацетилкарнитина гидрохлорид (карницетин) 0.295 г – соответствует 0,25 г ацетилкарнитина Фармакотерапевтическая группа: метаболическое средство. Клинические свойства карницетина:

– восполняет энергетические потребности мозговой ткани в условиях гипоксии;

– тормозит патологический метаболический каскад;

– стимулирует синтез жирных кислот, фосфолипидов и др., вследствие чего уменьшает цитотоксическое влияние гипоксии на мозговую ткань, препятствует формированию и увеличению зоны инфаркта,

– активизирует репаративные процессы в очаге поражения,

– оказывает холиномиметическое действие на ЦНС и периферическую нервную систему, выполняя роль холинергического медиатора,

– способствует восстановлению ауторегуляции церебральной гемодинамики и увеличению кровоснабжения участка поражения

Материалы и методы: Проведено обследование и реабилитация 30 студентов в возрасте от 18 до 28 лет. Было выделено 3 группы. 1-ю группу составили спортсмены, занимающиеся легкой атлетикой (10 человек), во 2-ю группу вошли спортсмены, занимающиеся тяжелой атлетикой (10 человек), 3-ю группу составили студенты, не занимающиеся спортом, с признаками синдрома нейроциркуляторной астении (НЦА) и вегето-сосудистой дистонии (ВСД) (10 человек).

Все пациенты принимали карницетин по 2 капсулы 3 раза в сутки в течение одного месяца.

Всем пациентам до и после курса терапии было проведено:

1. Общее клиническое обследование – сбор анамнеза, осмотр с измерением массы тела, роста и определения индекса Кетле, определение уровня соматического здоровья по методике Г.Л Апанасенко (1993), наблюдение за динамикой состояния в течение лечения.

2. Инструментальные методы исследования:

– Определение эргометрических показателей МПК (максимальное потребление кислорода при максимальной или субмаксимальной нагрузке) и ПАНО (порог анаэробного обмена) методом эргоспирометрии на аппарате Shiller CS-200. Проба проводилась по международному протоколу R.Bruce. Учитывались толерантность к физической нагрузке, патологическая реакция АД на нагрузку, изменение восстановительного периода (как проявление синдрома НЦА). Единицы измерения (мл/кг/мин).

– Исследование вариабельности ритма сердца на аппарате ВНС-спектр компании «Нейрософт», г. Иваново. Проводилось в покое и с проведением ортостатической пробы. Учитывались показатели общей мощности спектра нейрогуморальной регуляции сердечного ритма (TP), кардиореспираторная синхронизация (KRS), коэффициент 30/15 (отражает адаптационные резервы во время проведения ортостатической пробы).

– Реоэнцефалография проводилась на аппарате «Рео-спектр» компании Нейрософт, г.Иваново. Учитывался тип кровенаполнения сосудов головного мозга.

– У всех больных была проведена многоканальная запись ЭЭГ (16 каналов) на электроэнцефалографе «Нейрон – Спектр 4» (фирмы Нейрософт, г.Иваново), при биполярных и референциальных отведениях с ипсилатеральным ушным и вертексным электродом. Электроды устанавливали по международной схеме 10-20 в затылочных (O1, O2), теменных (P3,P4), центральных (C3,C4), лобных (F3,F4) и височных (F7, F8, T3,T4) зонах. Чувствительность электроэнцефалографа составляет 7мкВ/мм, полоса частот 0,5-60 Гц.

Запись проводилась в состоянии спокойного бодрствования с закрытыми глазами с выполнением функциональных проб: ЭЭГ – реакция усвоения ритма световых мельканий частотой 6,8,10,12,16,20 Гц, а также гипервентиляция в течение 3 минут. Для количественной оценки ЭЭГ в фоне и при функциональных нагрузках проводили обработку с помощью компьютерной программы, позволяющей оценить мощность основных ритмов ЭЭГ и их распределение по поверхности головы (картирование ЭЭГ), методом быстрого преобразования Фурье. Анализ проводили в следующих частотных диапазонах: дельта-ритм (1-4 Гц), тета-ритм (4-7 Гц), альфа-ритм (8-13 Гц), бета-ритм (13-24 Гц).

Длина эпохи составляла 30 секунд. Спектральный анализ проводили по 4-секундным эпохам. Определяли спектральные мощности ритмов в лобных, теменных, височных, затылочных областях обоих полушарий головного мозга (в мВ/Гц/1/2).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных статистических программ BIOSTAT 4.03 Primer for Windows.

Результаты.

При проведении эргоспирометрии были получены следующие результаты:

– в 1-й группе – увеличение показателей МПК на 5% и ПАНО на 7% после курса проведения карницетина;

– во 2-й группе – увеличение показателей МПК на 8,5% и ПАНО на 4,5% после проведения курса карницетина;

– в 3-й группе – увеличение показателей МПК на 10% и ПАНО на 14,8% после проведения курса карницетина.

На представленной табл. 1 отражена динамика эргоспирометрических показателей в трех исследуемых группах.

Таблица 1

Динамика эргоспирометрических показателей в исследуемых группах на фоне применения препарата карницетин

1 группа	*До приема препарата*	*После приема препарата*
МПК	55,87 ± 2,72 мл/кг/мин	58,5 ± 2,45 мл/кг/мин
ПАНО	52,92 ± 2,49 мл/кг/мин	56,5 ± 2,69 мл/кг/мин
Нагрузка	5-6 ступеней	6-7 ступеней
Восстановительный период (ЧСС, АД)	В пределах нормы	В пределах нормы
Реакция АД на нагрузку	В пределах нормы	В пределах нормы
2 группа	*До приема препарата*	*После приема препарата*
МПК	41,47 ± 1,56 мл/кг/мин	44,97 ± 2,83мл/кг/мин
ПАНО	40,37 ± 2,35 мл/кг/мин	42,1 ± 1,96 мл/кг/мин
Нагрузка	5 ступеней	5-6 ступеней
Восстановительный период (ЧСС, АД)	В пределах нормы	В пределах нормы
Реакция АД на нагрузку	Гипертоническая у 30%	Гипертоническая у 10%
3 группа	*До приема препарата*	*После приема препарата*
МПК	33,63 ± 2,12 мл/кг/мин	37,01 ± 2,44 мл/кг/мин
ПАНО	29,47 ± 1,98 мл/кг/мин	33,76 ± 2,18 мл/кг/мин
Нагрузка	4 ступени	4-5 ступеней
Восстановительный период (ЧСС, АД)	Замедленный по ЧСС и АД у 60%	Замедленный по ЧСС и АД у 30%
Реакция АД на нагрузку	Гипертоническая у 60%	Гипертоническая у 20%

При исследовании вариабильности ритма сердца (ВРС) получены следующие результаты. Во всех трех группах прослеживается положительная динамика показателей, характеризующих вегетативное обеспечение деятельности на основе оценки ВРС после окончания приема препарата карницетин. В 1-й группе показатель общей мощности спектра нейрогуморальной регуляции сердечного ритма увеличился в среднем на 50%, показатель кардиореспираторной синхронизации – на 14%, коэффициент 30/15 – на 7% от исходного. Во 2-й группе показатель общей мощности спектра нейрогуморальной регуляции сердечного ритма увеличился в среднем на 55%, показатель кардиореспираторной синхронизации – на 71%, коэффициент 30/15 – на 26% от исходного. В 3-й группе показатель общей мощности спектра нейрогуморальной регуляции сердечного ритма увеличился в среднем на 117%, показатель кардиореспираторной синхронизации – на 76%, коэффициент 30/15 –на 22% от исходного (табл. 2).

Таблица 2

Динамика вариабельности ритма сердца на фоне применения препарата карницетин в 3 исследуемых группах

1 группа	*До приема препарата*	*После приема препарата*
TP	4291 ± 97,3 мс^2	6473 ± 88,4 мс^2
KRS	7,04 ± 0,41	8,4 ± 0,43
Коэффициент 30/15	1,4 ± 0,11	1,5 ± 0,16
2 группа	*До приема препарата*	*После приема препарата*
TP	2022 ± 65,9 мс^2	3149 ± 63,2 мс^2
KRS	7,3 ± 0,26	12,5 ± 0,38
Коэффициент 30/15	1,3 ± 0,07	1,64 ± 0,11
3 группа	*До приема препарата*	*После приема препарата*
TP	1301 ± 29,9 мс^2	2833 ± 49,7 мс^2
KRS	6,4 ± 0,19	11,3 ± 0,28
Коэффициент 30/15	1,2 ± 0,06	1,47 ± 0,075

Примечание: TP – общая мощность спектра нейрогуморальной регуляции сердечного ритма; KRS – кардиореспираторная синхронизация (показатель синхронной работы центров, регулирующих ритм сердца и дыхательного центра); коэффициент 30/15 – отражает адаптационные резервы во время проведения ортостатической пробы.

При проведении электроэнцефалографии были получены следующие результаты.

В 1-й и 2-й группах мощность ритмов до и после приема препарата существенно не изменилась и изначально характеризовалась нормальным распределением с преобладанием

мощности α-ритма в затылочных областях головного мозга и менее значительной, по сравнению с ним, мощностью Δ- и θ-ритмов.

В 3-й группе до и после приема препарата прослеживается положительная динамика: уменьшение мощности Δ-ритма на 17% и увеличение суммарной мощности α-ритма более чем в 2 раза от исходной. Мощности θ- и β-ритмов существенно не изменились.

В целом положительная динамика показателей ЭЭГ при приеме карницетина наблюдается только в 3-й группе, у студентов с вегето-сосудистой дистонией и нейро-циркуляторной астенией (табл. 3).

Таблица 3

Динамика ритмологических характеристик по данным ЭЭГ на фоне приема карницетина в 3 исследуемых группах студентов

Ритм ЭЭГ 3 группа	*Мощность до приема препарата*	*Мощность после приема препарата*
Δ	99,5 ± 6,08	82,7 ± 7,12
Θ	19,9 ± 1,17	18,3 ± 1,05
α	20,2 ± 1,24	44,2 ± 1,19
β	7,6 ± 0,43	9,8 ± 0,41
Ритм ЭЭГ 1 и 2 группа	*Мощность до приема препарата*	*Мощность после приема препарата*
Δ	68,5 ± 6,08	72,7 ± 3,1
Θ	39,9 ± 1,17	32,3 ± 0,86
α	115,2 ± 4,21	121,7 ± 5,19
β	26,6 ± 0,43	22,9 ± 0,67

При оценке данных проведенной реоэнцефалографии были получены недостоверные результаты, не позволяющие оценивать как эффективность применения карницетина, так и функциональное состояние мозга.

Выводы:

1. Используемый препарат карницетин является эффективным метаболическим средством, увеличивающим энергетический потенциал мозга и организма, его необходимо применять как средство оздоровления и профилактики хронических неинфекционных болезней с целью повышения уровня соматического здоровья у студентов, а также как средство улучшения спортивной формы при тренировочном процессе в дозе 2 капсулы (0,5 грамма) 3 раза в день в течение одного месяца.
2. Наиболее эффективными и точными средствами контроля в оценке уровня соматического здоровья в динамике проведения оздоровительных и профилактических мероприятий и спортивной деятельности студентов являются количественные критерии методов исследования эргоспирометрии и вариабельности ритма сердца;
3. Эффективность карницетина увеличивается при сочетании препарата с оздоровительной тренировкой и спортивной тренировкой

Резюме. На основании данных эргоспирометрии и вариабильности ритма сердца доказано, что прием препарата карницетин в сочетании с оздоровительной тренировкой увеличивает уровень соматического здоровья студентов.

Работа выполнена при поддержке гранта «Медико-педагогические технологии обеспечения здоровья студентов в образовательной системе вуза» федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России 2010-2012 гг.

Литература

1. Апанасенко, Г.Л. Физическое здоровье и максимальная аэробная способность индивида [Текст] / Г.Л. Апанасенко, Р.Г. Науменко // Теория и практика физической культуры. – 1988. – № 4. – С. 29-31.
2. Апанасенко, Г.Л. Медицинская валеология [Текст] / Г.Л. Апанасенко, Л.А. Попова. – Ростов н/Д; Киев, 2000. – С. 115-119.
3. Михайлов, В.М. Вариабельность ритма сердца: опыт практического применения метода [Текст] / В.М. Михайлов. – Иваново, 2002. – С. 79-136.
4. Приходько, А.Н. Методические материалы для проведения федеральной акции «Здоровье молодёжи – богатство России» [Электронный ресурс] / А.Н. Приходько ; Томский областной институт повышения квалификации и переподготовки работников образования. – Томск, 2003-2012. URL: http://edu.tomsk.ru/teacher_help/zdor.htm.
5. Пресс-релиз Европейского регионального комитета ВОЗ/10/03, Копенгаген, Вена, 12 сент. 2003 г. [Электронный ресурс] // Здравоохранение и медицинская наука Беларуси / Науч.-информ. отдел ГУ РНМБ. – Минск, 2012. URL: http://www.med.by/who/2003/pr10.htm.

6. We are currently developing a childhood obesity surveillance system [Electronic resource] // World Health Organization. Copenhagen, 2012. URL: http://www.euro.who.int/nutrition/2007.04.18.

7. Heart Rate Variability: Standards of Measurement, Physiological Interpretation and Clinical Use / Task Force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology // Circulation. – 1996. – Vol. 93, is. 5. – P. 1043-1065.

8. Liu, J. Age-associated mitochondrial oxidative decay: improvement of carnitine acetyltransferase substrate-binding affinity and activity in brain by feeding old rats acetyl-L- carnitine and/or R-alpha -lipoic acid / J. Liu, D.W. Killilea, B.N. Ames // Proc. Natl. Acad. Sci. – USA, 2002. – Vol. 99, № 4. – P. 1876-1881.

APPROACHES TO REHABILITATION OF STUDENTS WITH LOW LEVEL OF SOMATIC HEALTH AND TO IMPROVEMENT OF SPORTSMEN'S GOOD PHYSICAL SHAPE ON BASIS OF COMBINED APPLICATION OF CARNICETINE AND APHYSICAL ACTIVITY

A.P. GRIGORENKO
Z.Y. CHEFRANOVA
V.N. IRHIN

Belgorod National Research University

e-mail: a_grigorenko@bsu.edu.ru

Examination and rehabilitation of 30 students aged 18 to 28 who go in for sports (athletics and weight lifting) and who do not go in for sport with low level of somatic health and with signs of neurocirculatory asthenia was undertaken. The examination included the following: ergospirometry, examination of heart rhythm variability, electroencephalography, echoencephalography. Function study was carried before rehabilitation starting and in one month after the end of the rehabilitation course. Set of rehabilitation measures for students who do not go in for sport included health-improving training and taking the drug "carnicetine" for 1 months. Set of rehabilitation measures for students who go in for sport included professional athletic training and also taking the drug "carnicetine" for 1 months. As a result of the rehabilitation measures, level of somatic health of the students was significantly increased, especially when the drug "carnicetine" was taken in combination with physical activity.

Keywords: level of somatic health, carnicetine, health-improvement-rehabilitation measures, assessment of somatic health.

УДК 618.13-002-07:616.153.96

ФАРМАКОТЕРАПИЯ НАРУШЕНИЙ ИММУННОГО СТАТУСА В УСЛОВИЯХ АДЕНОМИОЗА

Н.В. НЕЗНАМОВА
А.А. ЯРОШ
А.А. КОНОПЛЯ
А.Н. МАЛЬЦЕВА

Курский государственный медицинский университет

e-mail: kanabis@nm.ru

У пациенток с внутренним эндометриозом (аденомиозом) на момент поступления в стационар выявлено повышение уровня провоспалительных цитокинов и активация системы комплемента при снижении концентрации противовоспалительных цитокинов как на системном уровне (в крови), так и на местном (в цервикально-влагалищном смыве). Определена недостаточная эффективность использования стандартного лечения в коррекции нарушений цитокинового звена иммунитета и системы комплемента у пациенток с аденомиозом. Доказана иммунокорригирующая эффективность использования ридостина, гипоксена и эссенциале Н у пациенток с аденомиозом в дополнение к стандартному лечению.

Ключевые слова: эндометриоз, аденомиоз, цитокины, система комплемента, иммунореабилитация.

Несмотря на многолетнюю историю изучения, вопрос о происхождении и патогенезе эндометриоза по-прежнему остается спорным. В настоящее время все активнее внимание гинекологов и клинических иммунологов уделяется состоянию иммунометаболического статуса и роли нарушений в патогенезе эндометриоза [1, 3, 9].

Установлено, что активный эндометриоз сопровождается пролиферацией клеток, повышенным сосудообразованием как внутри очага эндометриоза, так и вокруг него. Формирование и функционирование эндометриального трансплантата во многом определяется степенью васкуляризации. Стимуляция процессов ангиогенеза в очагах эндометриоза осуществляется на локальном уровне и контролируется ангиогенными факторами роста и цитокинами, секретируемыми перитонеальными макрофагами, клетками эндометриоидных гетеротопий и клетками эндотелия [7, 8, 10].

В настоящее время имеются противоречивые данные о нарушениях иммунометаболического статуса у пациенток с аденомиозом, что диктует необходимость изучения изменений показателей иммунного статуса на системном и местном уровнях и определение эффективности стандартного лечения в их коррекции [2, 11].

Цель исследования – изучение характера нарушений уровня цитокинов и компонентов системы комплемента на системном и локальном уровнях у больных аденомиозом и установление эффективности использования иммуномодулятора, антиоксиданта и мембранопротектора.

Материалы и методы.

Под постоянным наблюдением в ОБУЗ Городская больница «Липецк-Мед» г.Липецка находилось 44 больных с верифицированным диагнозом аденомиоз 2 стадии. В качестве контроля исследовали периферическую кровь 16 здоровых доноров-добровольцев.

Диагноз устанавливался на основании анамнеза, данных клинических и инструментальных методов обследования. Включение больных в исследование осуществлялось на основании информированного согласия. Стандартное лечение пациенток с аденомиозом включало антибактериальную, противовоспалительную, антимикотическую терапию. Кроме этого, 21 пациентка дополнительно к стандартной терапии получала ридостин (1,0 в/м через 48 часов №5), гипоксен (1 табл. внутрь 3 р/день №30), эссенциале Н (5,0 в/в через 24 часа №10).

Лабораторные методы исследования крови проводились по общепринятым методикам при поступлении больных в стационар и на 15-е сутки [5]. При оценке гемограмм за основу брались физиологические нормы, соответствующие международной системе единиц (СИ) в клинических исследованиях [6].

Количественная оценка уровней ФНОα, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-4, ИЛ-2, ИЛ-10, рецепторного антагониста ИЛ-1 (РАИЛ), интерферона-γ (ИНФγ), C_3, C_{3a}, C_5, C5a, C4-компонентов комплемента, фактора Н и C_1-ингибитора (C_1-инг.) в плазме крови и цервикально-влагалищном смыве проводилась с помощью тест-систем (ООО «Цитокин», г. Санкт-Петербург) методом твердофазного иммуноферментного анализа [5 ,6].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя непараметрические методы [4].

Результаты.

У больных аденомиозом при поступлении в стационар в плазме крови выявлено повышение уровня провоспалительных цитокинов (ФНОα, ИЛ-6, ИЛ-8), ИНФγ и снижение уровня противовоспалительных (ИЛ-4, РАИЛ) цитокинов и ИЛ-2 (табл. 1).

Таблица 1

Концентрация цитокинов и компонентов системы комплемента в плазме крови у больных аденомиозом на фоне проводимой терапии (M±m)

Показатели	1	2	3	4
	Здоровые	*Пациентки с аденомиозом*		
		До лечения	*СЛ*	*СЛ + Ридостин+ Гипоксен + Эссенциале Н*
ФНОα, пг/мл	3,27±0,2	4,44±0,18^{*1}	3,17±0,11^{*2}	2,48±0,12^{*1-3}
ИЛ-6, пг/мл	5,81±0,08	22,9±1,87^{*1}	14,6±2,17^{*1,2}	9,14±1,56^{*1-3}
ИЛ-8, пг/мл	5,17±0,12	37,68±2,1^{*1}	24,8±1,78^{*1,2}	17,43±1,27^{*1-3}
ИЛ-4, пг/мл	9,96±0,45	7,45±0,6^{*1}	7,51±1,07^{*1}	7,7±0,45^{*1}
РАИЛ, пг/мл	370,0±7,92	43,86±3,21^{*1}	277,6±15,0^{*1,2}	449,5±33,1^{*1-3}
ИЛ-2, пг/мл	6,63±0,56	1,23±0,04^{*1}	5,87±0,79^{*2}	6,04±0,8^{*2}
ИНФγ, пг/мл	2,41±0,09	15,3±1,1^{*1}	13,3±2,04^{*1}	7,09±0,34^{*1-3}
C_3, мг/л	88,4±2,3	138,4±4,8^{*1}	106,6±5,1^{*1,2}	92,7±4,7^{*2,3}
C_{3a}, мг/л	66,0±7,93	190,4±14,1^{*1}	65,0±4,58^{*2}	51,8±7,58^{*1-3}
C_4, мг/л	9,6±0,8	27,9±1,1^{*1}	20,4±2,0^{*1,2}	8,7±0,93^{*2,3}
C_5, мг/л	39,6±3,1	62,7±3,3^{*1}	60,3±2,4^{*1}	49,9±2,31^{*1-3}
C_{5a}, мг/л	16,4±1,86	45,9±3,53^{*1}	14,64±1,39^{*2}	13,18±1,55^{*2}
C_1-инг., мг/л	223,8±16,9	348,8±27,2^{*1}	183,0±12,3^{*1,2}	259,2±11,23^{*1-3}
Фактор Н, мг/л	29,9±2,7	71,4±3,9^{*1}	85,6±4,9^{*1,2}	45,9±4,1^{*1-3}

Примечание. Звездочкой отмечены достоверные отличия средних арифметических ($p<0,05$); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы даны эти различия.

Кроме этого, у данной категории пациенток при поступлении в плазме крови активируется система комплемента, о чем свидетельствует повышение уровня C_3, C_4, C_5, C_{3a}, C_{5a} компонентов комплемента и их регуляторов – фактора Н и С1-ингибитора (табл. 1).

На фоне проводимого комплексного лечения у пациенток с аденомиозом в плазме крови нормализуется концентрация ФНОα, ИЛ-2, C_{3a} и C_{5a}-компонентов системы комплемента, наблюдается коррекция, но не до уровня здоровых доноров, концентрации ИЛ-6, ИЛ-8, РАИЛ, C_3, C_4-компонетов комплемента (табл. 1).

При этом использование стандартного комплексного лечения у больных аденомиозом не влияет на измененный уровень ИЛ-4, ИНФγ, C_5-компонента комплемента (табл. 1).

У больных аденомиозом в вагинально-цервикальном смыве повышен уровень провоспалительных цитокинов (ФНОα, ИЛ-6, ИЛ-8), ИЛ-4, ИНФγ, всех изученных компонентов комплемента и снижена концентрация РАИЛ, тогда как уровень ИЛ-2 не отличался от уровня здоровых доноров (табл. 2).

При использовании стандартного комплексного лечения у пациенток с аденомиозом в вагинально-цервикальном смыве полностью нормализуется лишь уровень C_5-компонента системы комплемента и частично концентрация ИЛ-6, ИЛ-8, ИНФγ, C_3, C_{3a}-компонентов системы комплемента (табл. 2).

Кроме того, на фоне стандартного комплексного лечения у пациенток с аденомиозом на местном (локальном) уровне еще больше возрастает концентрация ИЛ-4, РАИЛ, C_{5a}, C_1-ингибитора и остается на прежнем уровне концентрация ФНОα, ИЛ-2, C_4-компонента системы комплемента (табл. 2).

Использование ридостина, гипоксена и эссенциале Н у пациенток с аденомиозом позволило нормализовать в плазме крови уровень ИЛ-2, C_5a, C_4, C_3, а в вагинально-цервикальном смыве концентрацию ИЛ-2, C_4 (табл. 1, 2).

Обсуждение. Таким образом, у пациенток с аденомиозом на момент поступления в стационар выявлено повышение уровня провоспалительных цитокинов и активация системы комплемента при снижении концентрации противовоспалительных цитокинов как на системном уровне (в крови), так и на местном (в цервикально-влагалищном смыве).

Таблица 2

Концентрация цитокинов и компонентов системы комплемента в цервикально-влагалищном смыве у больных аденомиозом на фоне проводимой терапии (M±m)

Показатели	1	2	3	4
	Здоровые	*Пациентки с аденомиозом*		
		До лечения	*СЛ*	*СЛ + Ридостин+ Гипоксен + Эссенциале Н*
ФНОα, пг/мл	1,75±0,13	3,02±0,12*1	2,79±0,13*1	2,19±0,14*1-3
ИЛ-6, пг/мл	4,41±0,17	9,56±0,87*1	7,32±0,11*1,2	5,74±0,3*1-3
ИЛ-8, пг/мл	5,92±1,13	19,3±1,01*1	11,6±0,82*1,2	13,63±2,07*1,2
ИЛ-4, пг/мл	0,54±0,03	11,73±1,17*1	13,8±0,53*1,2	6,3±0,68*1-3
РАИЛ, пг/мл	64,1±9,4	31,3±2,37*1	206,3±33,0*1,2	161,8±16,7*1-3
ИЛ-2, пг/мл	0,78±0,02	0,83±0,05	0,82±0,04	0,73±0,03*2,3
ИНФγ, пг/мл	0,79±0,06	4,78±0,5*1	2,43±0,21*1,2	1,12±0,06*1-3
C_3, мг/л	108,3±7,4	200,6±8,8*1	150,6±10,4*1,2	90,4±7,4*1-3
C_3a, мг/л	83,2±2,73	193,4±5,4*1	121,0±11,5*1,2	44,0±5,5*1-3
C_4, мг/л	5,7±0,41	8,3±0,31*1	9,1±0,89*1	6,0±0,71*2,3
C_5, мг/л	93,7±6,2	128,7±5,5*1	90,6±4,8*2	70,3±6,2*1-3
C_5a, мг/л	34,6±1,78	130,1±9,1*1	195,8±12,2*1,2	8,7±1,05*1-3
C_1-инг., мг/л	117,2±7,8	281,7±17,3*1	376,8±33,5*1,2	226,4±7,6*1,3
Фактор Н, мг/л	38,7±4,7	186,7±10,4*1	204,4±9,8*1	84,7±4,2*1-3

Примечание. Звездочкой отмечены достоверные отличия средних арифметических ($p<0,05$); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы даны эти различия.

В настоящее время считается доказанным, что выживание и имплантация жизнеспособных фрагментов эндометрия в перитонеальной поверхности обусловлены нарушениям локального иммунного ответа.

У женщин, страдающих эндометриозом, увеличено содержание перитонеалных макрофагов, усилена их активность и секреция ими различных цитокинов [7, 9, 10]. По нашим и литературным данным доказано, что в организме женщин, больных эндометриозом, повышается содержание провоспалительных цитокинов при снижении уровня противовоспалительных, что обусловливает развитие у данной категории больных иммуно-воспалительной реакции [2, 7, 11].

При анализе полученных результатов определена недостаточная эффективность использования стандартного лечения в коррекции нарушений цитокинового звена иммунитета и системы комплемента у пациенток с аденомиозом, особенно на локальном (местном) уровне, что обосновывает необходимость использования в дополнение к стандартному лечению в первую очередь иммунокорригирующего, антиоксидантного и мембранопротективного лечения у пациенток с аденомиозом.

Использование ридостина, гипоксена и эссенциале Н у пациенток с аденомиозом позволило корригировать и нормализовать большое количество нарушенных показателей цитокинового статуса и системы комплемента на системном и местном уровне, что необходимо использовать при разработке эффективных способов фармакологической иммунореабилитации пациенток с данной нозологией.

Литература

1. Качалина, Т.С. Окислительный стресс при наружном генитальном эндометриозе в сочетании с гипотиреозом / Т.С. Качалина, Л.Г. Стронгин, М.В. Семерикова, Л.Д. Андосова // Медицинский альманах. – 2010. – №3. – С. 113.-117.

2. Колесникова, Л.И. Характеристика процессов свободнорадикального окислениям липидов у больных с наружным генитальным эндометриозом и эндометриоз-ассоциированным бесплодием / Л.И. Колесникова, Е.В. Ермолова, Л.В. Сутурина и др. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2005. – №5 (43). – С. 47-49.

3. Кононов, А.В. Эндометриоз: теории происхождения / А.В. Кононов, С.И. Мозговой, Е.И. Мозговая, Д.Г. Новиков // Омский научный вестник. – 2008. – №1 (65). – С. 32.36.

4. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1980. – 243 с.

5. Лесков, В.П. Клиническая иммунология для врачей / В.П. Лесков, А.Н. Чередеев, Н.К. Горлина, В.Г. Новоженов. – М., 1997. – 120 с.

6. Меньшиков, В.В. Лабораторные методы исследования в клинике / В.В. Меньшиков. – М. : Медицина, 1987. – 365 с.

7. Павлов, Р.В. Особенности локального обмена цитокинов у больных наружным генитальным эндометриозом / Р.В. Павлов, Л.В. Стариченко, А.А. Акобджанян // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2008. – №3. – С. 48-52.

8. Юдина, Е.А., Использование лонгидазы в лечении обострений хронического сальпингоофорита / Е.А. Юдина, А.А. Конопля, А.И. Лазарев и др. // Человек и его здоровье : Курский науч.-практ. вестник. – 2008. – № 3. – С. 104-110.

9. Karen, Kinkel. Diagnosis of endometriosis with imaging: a review / Karen, Kinkel, A. Frei Kathrin // Eur. Radiol. – 2006. – P. 1323-1329.

10. Schindler, A.E. Pathophysiology, diaqnosis and treatment of endometriosis / A.E. Schindler // Minevra Ginecol. – P. 419-435.

11. Vigano, P. Endometriosis: epidemiology and aetiological factors / P. Vigano, F. Parazzini, E. Somigliana // J. Obstet. And Gynaecol. – 2004. – № 18. – P. 177-200.

PHARMACOLOGICAL THERAPY OF DISTURBANCES OF THE IMMUNE STATUS IN THE CONDITIONS OF THE ADENOMYOSIS

N.V. NEZNAMOVA
A.A. YAROSH
A.A. KONOPLYA
A.N. MALTSEVA

Kursk State Medical University

e-mail: kanabis@nm.ru

At patients with internal endometriosis (adenomyosis) at the moment of entering in a hospital the rise of level of proinflammatory cytokines and activation of system of a complement at depression of concentration of antiinflammatory cytokines, as at system level (in a blood), and on local (in cervical vulval washout) is taped. Insufficient efficiency of use of standard treatment in correction of disturbances of cytokine link of immunity and system of a complement at patients with an adenomyosis is defined. Immune corrective efficiency of use ridostin, hypoxen and essentiale H at patients with an adenomyosis in addition to standard treatment is proved.

Keywords: endometriosis, adenomyosis, cytokines, complement system, immunologic treatment.

УДК 618.12-002.2

ФАРМАКОТЕРАПИЯ НАРУШЕНИЙ ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО САЛЬПИНГООФОРИТА

Ж.П. ОМАШАРИФА
А.А. КОНОПЛЯ

Курский государственный медицинский университет

e-mail: kanabis@nm.ru

Выявлены нарушения уровня цитокинов, продуктов перекисного окисления липидов, активности нейтрофилов и каталазы, структурно-функциональных свойств эритроцитов у пациенток с хроническим сальпингоофоритом в стадии обострения. Определена эффективность применения комплексного стандартного лечения в коррекции выявленных иммунометаболических нарушений у пациенток с хроническим сальпингоофоритом с включением иммуномодулятора, антиоксиданта и мембранопротектора.

Ключевые слова: иммунный статус, метаболический статус, эритроциты, хронический сальпингоофорит, фармакотерапия.

Согласно данным литературы воспалительные процессы половых органов составляют 60-65% среди амбулаторных и до 30% среди стационарных больных, и на первом месте продолжает оставаться хронический сальпингоофорит [1]. В современных условиях увеличивается число хронических вялотекущих форм воспалительных заболеваний гениталий со стертой симптоматикой. Хронический воспалительный процесс в половых органах ответственен за формирование такой патологии, как эндометриоз, миома матки, гиперпластические процессы, бесплодие различного генеза, неопластические заболевания шейки матки, а также функциональные расстройства, нарушающие нормальное течение беременности. В настоящее время лечение хронического сальпингоофорита (ХСО) представляет собой крайне сложную задачу, поскольку помимо микробного фактора в его развитии принимают участие такие причины, как снижение иммунологической реактивности, накопление недоокисленных радикалов и др. [1, 4, 6].

Лечение хронических воспалительных заболеваний органов малого таза – сложная и далеко не решенная задача. Проблема терапии усугубляется рецидивирующим характером патологии, ее негативным влиянием на ряд важнейших функций женского организма, непереносимостью лекарственных препаратов или их побочным влиянием. В реальности терапия воспалительных заболеваний органов малого таза по большей части является эмпирической [10, 11].

Одной из причин затяжного течения воспалительного процесса в органах малого таза и частого рецидивирования заболевания является несостоятельность защитных систем организма, которая проявляется в изменении клеточного и гуморального звеньев иммунитета, снижении показателей неспецифической резистентности и развитием выраженных метаболических расстройств [4, 5].

В связи с этим поиск эффективных фармакологических комбинаций, действующих на данные звенья патогенеза иммунометаболических расстройств при ХСО, является актуальной и своевременной задачей [6].

Цель исследования – установление нарушений иммунного статуса и состояния мембраны красных клеток крови у пациенток с хроническим сальпингоофоритом в стадии обострения и коррекция выявленных нарушений с использованием имунофана, кудесана и эссенциале Н.

Материалы и методы

В работе представлены данные обследования и лечения на базе ОБУЗ «Областной перинатальный центр» г. Курска 54 женщин в возрасте от 20 до 40 лет с установленным диагнозом хронический сальпингоофорит в стадии обострения (ХСО). Всем женщинам проводилась стандартная фармакотерапия – цефазолин (1,0 внутримышечно 4 раза в день № 20), гентамицин (80 мг внутримышечно 3 раза в день № 21), нистатин (1 табл. внутрь 4 раза в день № 28), трихопол (1 табл. внутрь 3 раза в день № 15), индометацин (1 свеча per rectum однократно № 10) и местно клотримазол (1 табл. per vagina вечером однократно № 10), при этом 18 пациенток дополнительно получали имунофан (50 мкг внутримышечно через 24 часа 14 дней), эссенциале Н (400 мг внутривенно через 48 часов 14 дней) и кудесан (1 табл. внутрь через 8 часов 14 дней. Группа контроля состояла из 18 здоровых женщин в том же возрасте.

Лабораторные методы исследования крови проводились по общепринятым методикам при поступлении больных в стационар и при выписке. Содержание C_3, C_4-компонентов комплемента, фактора Н, C_1-инг. определяли в плазме крови с помощью набора реагентов ProCon (ООО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Активность и интенсивность фагоцитоза нейтрофилов периферической крови оценивали по проценту фагоцитоза, фагоцитарному числу и индексу активности фагоцитоза [2, 8, 12]. Активность кислородзависимых систем нейтрофилов оценивали по реакции восстановления нитросинего тетразолия, спонтанного и стимулированного зимозаном, с расчетом функционального резерва.

Выраженность перекисного окисления липидов оценивали по содержанию в крови малонового диальдегида и ацилгидроперекисей. Кроме этого, определяли активность каталазы [3].

Эритроциты отмывали по методике E. Beutler [9, 13], а мембраны эритроцитов получали методом G.T. Dodge [14]. Электрофорез проводили в присутствии додецилсульфата натрия в вертикальных пластинах полиакриламидного геля по методу U.K. Laemmli [16]. Белки окрашивали Кумаси голубым R-250 по модифицированной методике G. Fairbanks [15].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя непараметрические методы [7].

Результаты. У больных ХСО в стадии обострения снижается активность и интенсивность фагоцитоза нейтрофилов периферической крови, что проявляется снижением значений показателей ФЧ и ФИ, что снижает ИАФ, при этом активность кислородзависимых систем у данной категории больных повышена, как и ФРН (рис. 1).

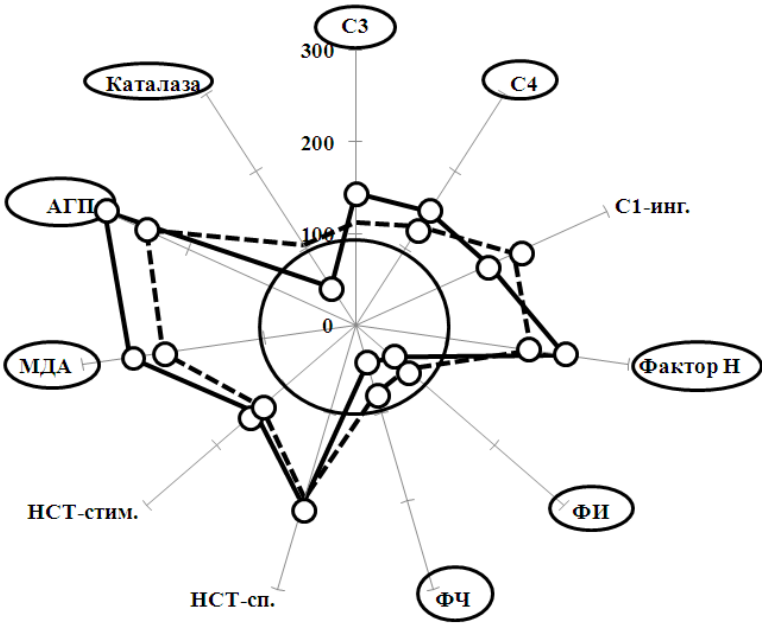


Рис. 1. Состояние показателей врожденного иммунитета и ПОЛ в плазме крови у больных ХСО до и после стандартной фармакотерапии.

Примечание: 1 – радиус окружности – значение показателей у здоровых доноров (1-я группа); 2 – сплошная линия – значения показателей у больных ХСО до лечения (2-я группа); 3 – пунктирная линия – значения показателей у больных ХСО после стандартной фармакотерапии (3-я группа); 4 – ○ – $p<0,05$ по отношению к 1-й группе; 5 – ⬭ – $p<0,05$ между 2-й и 3-й группами.

Стандартное комплексное лечение больных ХСО позволило корригировать показатели фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови (рис. 1).

В условиях ХСО выявлено изменение активности системы комплемента, что проявляется повышением концентрации в плазме крови как активных продуктов (C_{3a}, C_4), так и их компонентов, обладающих ингибирующей активностью – фактора Н и C_1-инг. (рис. 1).

На фоне стандартного лечения еще больше возрастает содержание C_1-инг., снижается до уровня нормы концентрация C_3-компонента комплемента и, не до контрольных значений, C_4-компонента (рис. 1).

При поступлении в клинику больных с обострением ХСО регистрировалось повышение концентрации продуктов ПОЛ (МДА и АГП) при снижении активности каталазы (рис. 1).

После проведенного консервативного лечения у больных ХСО показатели, отражающие состояние оксидантного статуса на системном уровне, снижаются, но не до уровня нормы (рис. 1).

При поступлении у пациенток с ХСО повышены концентрации изучаемых провоспалительных цитокинов (особенно ФНОα, ИЛ-1β, ИЛ-8), тогда как снижен уровень противовоспалительных цитокинов. На фоне проводимого стандартного лечения наблюдается коррекция, но не до контрольных значений, содержания ИЛ-1β, ИЛ-8 и ФНОα.

Далее нами проводилось сравнение изменений структурно-функциональных свойств эритроцитов у пациенток с ХСО в стадии обострения до и после использования стандартных методов лечения (рис. 2).

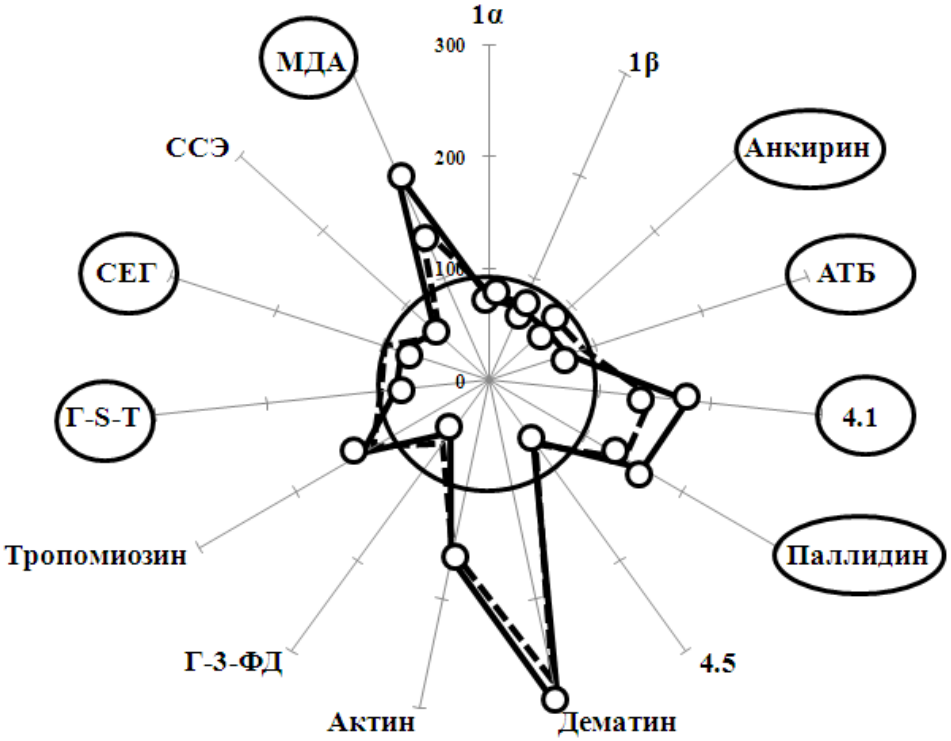


Рис. 2. Представительность белков мембран эритроцитов у больных ХСО в стадии обострения на фоне проводимой стандартной фармакотерапии.

Примечание: 1 – радиус окружности – значения показателей у здоровых доноров (1-я группа); 2 – сплошная линия – значения показателей у больных ХСО в стадии обострения (2-я группа); 3 – пунктирная линия – значения показателей у больных ХСО в стадии обострения после стандартной фармакотерапии (3-я группа); 4 – ○ – $p<0,05$ по отношению к 1 группе; 5 – ⬭ – $p<0,05$ 3 группы по отношению ко 2-й группе.

При ХСО в стадии обострения снижается прочность мембраны, о чем свидетельствует снижение представительности подфракций спектрина, анкирина и повышение уровня дематина; повышается эластичность – повышение уровня актина и тропомиозина, белка полосы 4.1, паллидина; снижается метаболическая активность – снижено количество АТБ, Г-S-Т, Г-3-ФД, белка полосы 4.5, и повышена концентрация внутри клеток МДА. Выявленные перестройки в представительности белков в мембране красных клеток крови приводят к снижению СЕГ и ССЭ у данной категории больных (табл.; рис. 2).

На фоне проводимого лечения нормализуется представительность в эритроцитарной мембране АТБ, Г-S-Т и СЕГ, корригируется количество белка анкирина, белка полосы 4.1, паллидина и внутри эритроцитов концентрация МДА (табл. 1; рис. 2).

Использование дополнительно имунофана, кудесана и эссенциале Н в отличие от стандартного лечения снижает до уровня нормы значения НСТ-теста, как спонтанного, так и стимулированного, и повышает до нормальных значению ФИ и ФЧ нейтрофилов (рис. 3).

Использование имунофана, кудесана и эссенциале Н позволило к моменту выписки у больных ХСО снизить концентрацию в плазме крови C_1-инг. и МДА (рис. 3).

После использования стандартной фармакотерапии к моменту выписки у 85% больных остаются эхографические признаки ХСО, у 30% пациенток остаются патологические выделения, а у 25% больных выявляется лейкоцитоз (табл.).

Таблица

Сравнительная клиническая эффективность дифференцированного лечения хронического сальпингоофорита

Показатели	*До лечения*	*Стандартное лечение*	*Стандартное лечение + имунофан + кудесан + эссенциале Н*
Болевой синдром	100,0	20,0	–
Слабость	33,0	20,0	5,5
Лихорадка	60,2	–	–
Патологические выделения	100,0	30,0	11,0
Дизурические расстройства	35,5	15,0	–
Увеличение бимануально придатков матки	100,0	15,0	–
Повышение СОЭ	51,2	20,0	16,5
Лейкоцитоз	32,1	25,0	16,5
Острофазные белки	35,6	15,0	11,0
Отсутствие положительной эхографической динамики	100,0	85,0	47,5

Использование имунофана, кудесана и эссенциале Н купирует к выписке болевой синдром и повышенные значения СОЭ, дизурические расстройства (табл.).

Что касается влияния данной фармакологической комбинации на структурно-функциональные свойства эритроцитарной мембраны, выявлено, что имунофан, кудесан и эссенциале Н оказывают преимущественно корригирующее влияние на представительность белков в мембране эритроцитов, при этом нормализуют лишь количество α-спектрина, белка полосы 4.5, Г-3-ФД и тропомиозина.

Таким образом, по клинической эффективности и положительному влиянию на состояние иммунного статуса, перекисного окисления липидов и структурно-функциональные свойства красных клеток крови схема фармакологической иммунореабилитации больных хроническим сальпингоофоритом в стадии обострения имунофан, кудесан и эссенциале Н оказалась эффективнее стандартной терапии, что необходимо учитывать при лечении данной категории пациенток.

Литература

1. Байракова, А.Л. Роль и биологическое значение толл-подобных рецепторов в антиинфекционной резистентности организма / А.Л. Байракова, Е.А. Воропаева, А.В. Караулов и др. // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2008. – № 1. – С. 45-55.

2. Виксман, М.Е. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия / М.Е. Виксман, А.Н. Маянский. – Казань, 1979. – 15 с.

3. Гаврилюк, В.П. Структурно-функциональные свойства эритроцитов, иммунные и оксидантные нарушения при аппендикулярным перитоните у детей / В.П. Гаврилюк, А.И. Конопля // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2010. – Т. 9, №1. – С. 30-34.

4. Демиденко, В.А. Иммуномодулирующие эффекты рефортана в послеоперационном периоде у пациенток с хроническим сальпингоофоритом / В.А. Демиденко, А.А. Конопля // Человек и его здоровье : Курский науч.-практ. вестник. – 2007. – № 3. – С. 60-65.

5. Конопля, А.И. Взаимосвязь структуры и функции эритроцитов с иммунным гомеостазом / А.И. Конопля. – Курск : КГМУ, 2008. – 40 с.

6. Конопля, А.А. Применение иммуномодуляторов, антиоксидантов и мембранопротекторов в традиционном лечении обострения хронического сальпингоофорита / А.А. Конопля // Человек и его здоровье : Курский науч.-практ. вестник. – Курск, 2010. – № 2. – С. 64-69.

7. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М. : Высш. школа, 1980. – 293 с.

8. Медведев, А.Н. Способ исследования поглотительной фазы фагоцитоза / А.Н. Медведев, В.В. Чаленко // Лаб. дело. – 1991. – № 2. – С. 19-20.

9. Рязанцева, Н.В. Типовые нарушения молекулярной организации мембраны эритроцита при соматической и психической патологии / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий // Успехи физиологических наук. – 2004. – Т. 1, № 1. – С. 53-65.

10. Серов, В.Н. Клинико-иммунологические особенности системной воспалительной реакции у больных с акушерской и хирургической патологией / В.Н. Серов, Н.А. Хонина, А.Н. Дробинская и др. // Акушерство и гинекология. – 2006. – № 2. – С. 36-42.

11. Сухих, Г.Т. Механизмы иммунной защиты при острых и хронических заболеваниях органов репродуктивной системы / Г.Т. Сухих, Л.В. Ванько // Акушерство и гинекология. – 2006. – №1. – С. 17-24.

12. Щербаков, В.И. Применение НСТ-теста для оценки чувствительности нейтрофилов к стимуляторам / В.И. Щербаков // Лаб. дело. – 1989. – № 1. – С. 30-33.

13. Beutler, E. How do red cell enzymes age a new perspective / E. Beutler // Brit. J. Haemat. – 1985. – V. 61. – P. 377-384.

14. Dodge, G.T. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of human eryrhrocytes / G.T. Dodge, C. Mitchell, D.J. Hanahan // Arch. Biochem. Biophys. – 1963. – V. 100. – P. 119-130.

15. Fairbanks, G. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane / G. Fairbanks, T. Steck // Biochemistry. – 1971. – V. 10. – P. 2606-2616.

16. Laemli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacterophage T4 / U.K. // Nature. – 1970. – V. 227. – P. 680.

PHARMACOLOGICAL THERAPY OF DISTURBANCES OF THE IMMUNE AND METABOLIC STATUS IN THE CONDITIONS OF CHRONIC SALPINGOOPHORITIS

G.P. OMASHARIFA
A.A. KONOPLYA

Kursk State Medical University

e-mail: kanabis@nm.ru

Disturbances of level of cytokines, products of lipid peroxidations, activity of neutrophils and catalase, structural and functional properties of erythrocytes at patients with the chronic salpingoophoritis in an exacerbation stage are taped. Efficiency of application of complex standard treatment in correction of immune and metabolic disturbances at patients with the chronic salpingoophoritis with including of immunomodulator, an antioxidant and membranoprotector is defined.

Keywords: immune status, metabolic status, erythrocytes, chronic salpingoophoritis, pharmacological therapy.

УДК 615.03:616.1:159.9-053.7

К ВОПРОСУ ОБ ЭФФЕКТИВНОСТИ СОЧЕТАННОЙ КОРРЕКЦИИ ПРОЯВЛЕНИЙ ПСИХОЛОГИЧЕСКОЙ ДЕЗАДАПТАЦИИ У ЛИЦ 18-22 ЛЕТ С ДОНОЗОЛОГИЧЕСКИМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ВЕГЕТАТИВНОЙ ДИСРЕГУЛЯЦИИ

О.В. СМОЛЬНЯКОВА
С.И. КОРНЕЕВА
Н.Г. ФИЛИППЕНКО

Курский государственный медицинский университет

e-mail: 1054@list.ru

В статье рассматриваются вопросы эффективности применения фармакологического, немедикаментозного и комбинированного подходов в коррекции проявлений психологической дезадаптации у лиц юношеского возраста, имеющих признаки донозологических проявлений нарушения вегетативной регуляции.

Ключевые слова: психологическая дезадаптация, вегетативная дисрегуляция, глицин, психологическая коррекция, юношеский возраст, симпатикотония, ваготония.

Введение. В настоящее время большинством отечественных и зарубежных исследователей признается, что психическая патология пограничного уровня почти всегда сочетается с вегетативной дисрегуляцией, то есть выступает в виде психовегетативного синдрома. Проблема вегетативно-сосудистой дистонии (ВСД) особенно актуальна для юношеского возраста, поскольку последний относится к периоду повышенного риска в отношении отчетливых проявлений как психической патологии, так и ВСД. Несмотря на то, что в данном возрасте формирование морфофункциональной организации вегетативной нервной системы в целом завершено, начавшиеся активные перестройки в системе нейрогуморальных механизмов саморегуляции еще не окончены. Существенно повышается активность подкорковых регуляторных центров, под влиянием выброса половых гормонов возрастает возбудимость нервной системы, страдают тормозные процессы, обеспечивающие оптимизацию работы нервных сетей. Временное развитие дезадаптации нервных и гуморальных механизмов в системе нейроэндокринных взаимодействий приводит к дестабилизации и в структуре корково-подкорковых отношений [1]. Дополнительное напряжение создают качественные изменения в социальной ситуации развития на данном возрастном этапе. Так, по результатам исследования студентов московских вузов 3-го года обучения [10], более половины респондентов имеют проявления тревоги средней и высокой степени тяжести. Также выявлено, что студенты используют менее конструктивные способы совладания со стрессом, нежели взрослые люди [3, 4, 7, 11]. В итоге, в связи с ослаблением контрольных функций коры больших полушарий страдает вся система произвольной регуляции психической деятельности и поведения [8], что может выражаться, в частности, повышенной возбудимостью, эмоциональной реактивностью и высоким уровнем тревоги. Известно, что формирование тревоги является результатом неспецифического возбуждения ЦНС, обусловленного, в свою очередь, целым рядом факторов. С одной стороны, значимую роль в развитии данного процесса играют названные внешние и внутренние анксиогенные факторы, с другой – изменение (возможно, нарушение) метаболических процессов, протекающих в самой центральной нервной системе, несостоятельность медиаторов торможения ЦНС, активность моноаминергических систем [6, 12, 13, 14]. В исследованиях последних лет показано, что в развитии указанных изменений значимая роль отводится свободнорадикальным процессам, в ходе которых в организме образуются высокотоксичные перекисные соединения, окисляющие белки и фосфолипиды клеточных мембран с нарушением их целостности, наряду с инактивацией клеточных ферментов. Антиокидантная система, представленная в организме ферментами, отдельными белками, водо- и жирорастворимыми соединениями (глутатион, серосодержащие аминокислоты, полиамины, каротиноиды, нейропептиды, витамины групп А, В, С, Е и проч.), способна купировать процесс перекисного окисления путем разрушения молекул перекисей. Дефицит указанных соединений нарушает энергетику и метаболизм клетки, мембран, что в свою очередь усугубляет течение вегето-сосудистой дистонии. В данном исследовании дезадаптация, дистония (как психологическая, так и вегетативная) рассматривается как одно из промежуточных состояний здоровья человека от нормы до патологии [2, 5, 9], предболезнь, т.е. процесс, выходящий за пределы нормы, но не достигающий степени патологии.

На данный момент разработка подходов к коррекции психовегетативной дезадаптации с позиций этиопатогенетического подхода отражена во многих научных работах, однако до настоящего времени остается недостаточно раскрытым вопрос сравнительного анализа степени эффективности фармакологического, психокоррекционного и комплексного воздействий на динамику данного состояния у лиц юношеского возраста.

Цель. Провести сравнительный анализ степени эффективности фармакологической, психологической и комбинированной коррекции психологических дезадаптационных изменений у лиц с донозологическими проявлениями вегето-сосудистой дистонии, оценить характер выраженности данных изменений на фоне вмешательств, определить целесообразность проведения сочетанной коррекции нарушений адаптации.

Материалы и методы. В исследование включено 126 лиц женского пола. Критерии включения: наличие проявлений психологической и вегетативной дезадаптации, возраст 18-22 года (средний возраст – 19,2). Критерии исключения: тяжелая сопутствующая патология со стороны сердечно-сосудистой или нервной системы, требующая постоянной медикаментозной коррекции, психиатрическая патология, наличие противопоказаний к используемым методам коррекции. Испытуемые были рандомизированы в 3 группы (с учетом преобладания активности симпатического либо парасимпатического отдела вегетативной нервной системы), в которых параллельно проводилась коррекция выявленных нарушений: фармакотерапия метаболическим препаратом глицин (аминоуксусная кислота) (медицинский научно-производственный комплекс «Биотики», Москва) в дозе 100 мг 2 р/сут., психологическая групповая и индивидуальная коррекция и сочетанное воздействие; длительность исследования составила 4 недели. Дизайн исследования представлял собой двойное открытое неинтервенционное когортное исследование в параллельных группах, рандомизированное по количественному и качественному составу. Скрининг осуществляли среди студентов II-V курсов среднеспециального образовательного учреждения. Оценка степени выраженности проявлений дезадаптационных нарушений проводилась до и после коррекционного курса.

Для выявления наличия и степени выраженности проявлений психологической дезадаптации применялся многоуровневый личностный опросник «Адаптивность» Маклакова, Чермянина (1993 г.). Опросник принят в качестве стандартизированной методики и рекомендуется к использованию для решения задач профессионального психологического отбора, психологического сопровождения учебной и профессиональной деятельности. Данная методика предназначена для изучения адаптивных возможностей индивида на основе оценки некоторых психофизиологических и социально-психологических характеристик, отражающих интегральные особенности психического и социального развития, и имеет 4 структурных уровня, что позволяет получить информацию различного объема и характера. В настоящем исследовании были задействованы шкалы 2-го уровня, которые соответствуют шкалам опросника ДАН («Дезадаптационные нарушения»), предназначенного для выявления дезадаптационных нарушений, преимущественно астенических и психотических реакций и состояний; шкалы 3-го уровня, оценивающие степень поведенческой регуляции (ПР), коммуникативного потенциала (КП) и моральной нормативности (МН), и шкала 4-го уровня, характеризующая личностный адаптационный потенциал (ЛАП).

С целью выявления наличия у испытуемых нарушений вегетативной регуляции проводилась оценка исходного тонуса ВНС в стандартных условиях с помощью шкал визуализации жалоб и данных объективного исследования вегетативного статуса (коэффициента Хильденбрандта); оценка функционирования ВНС путем использования пробы Мартине-Кушелевского с дозированной физической нагрузкой.

Результаты и обсуждение. В соответствии с полученными данными 85,29% испытуемых имели низкие показатели личностного адаптационного потенциала (в среднем 69,66 сырых балла (с.б.)), отнесены к группе лиц со сниженными адаптационными способностями, обладающих признаками явных акцентуаций черт характера, высокой степенью конфликтности, склонностью к делинквентным поступкам; оставшиеся 14,71% испытуемых входили в группу удовлетворительной адаптации со средними показателями ЛАП (лица невысокой эмоциональной устойчивости с затрудненным процессом социализации). Низкие значения интегральной шкалы ДАН (в среднем 41,8 с.б.) отмечались у 55,9% испытуемых (выраженные дезадаптационные нарушения), у 44,1% выраженность проявлений нарушений дезадаптации находилась на среднем уровне.

По итогам оценки функционирования ВНС получены следующие результаты: величина расчетного коэффициента Хильденбрандта в исследуемых когортах в среднем составила 4,3; 4,6 и 4,2 балла, что свидетельствует о нормальных межсистемных взаимоотношениях. Тем не менее, 100% испытуемых при расспросе отмечали ряд субъективных жалоб (наличие ухудшения самочувствия при смене погоды; плохая переносимость холода и высоких температур, душных помещений; лабильность АД; лабильность сердечного ритма; наличие

повышенной тревожности, раздражительности, гневливости, несдержанности, чувства беспокойства, страха, резкие смены настроения, астения и др.), что является указанием на наличие вегетативной дисфункции на донозологическом уровне.

На фоне проводимой коррекции, по результатам использования многоуровневого опросника «Адаптивность», получены следующие данные (табл. 1).

Таблица 1

Динамика показателей, характеризующих уровень ЛАП и ДАН, по отношению к первоначальным величинам (на фоне фармакологической, психологической и сочетанной коррекции) (M±SD)

Показатель	*Группа фармакологической коррекции (n=42)*			*Группа психологической коррекции (n=42)*			*Группа комплексной коррекции (n=42)*		
	до коррекции, с.б.	после коррекции, с.б.	динамика, %	до коррекции, с.б.	после коррекции, с.б.	динамика, %	до коррекции, с.б.	после коррекции, с.б.	динамика, %
Личностный адаптационный потенциал (ЛАП)	65,00 ±15,44	54,00 ±16,27	16,9	69,50 ±19,93	58,00 ±20,21	16,5	93,00 ±27,25	54,00 ±22,99	41,9
Дезадаптационные нарушения (ДАН)	38,50 ±6,11	34,00 ±5,82	11,7	35,00 ±6,71	31,00 ±5,71	11,4	41,00 ±6,20	34,00 ±6,05	17,1
$p<0,05$									

Оценивая динамику показателей, характеризующих уровень личностного адаптационного потенциала и уже существующих дезадаптационных нарушений (по отношению к первоначальным величинам) на фоне фармакологической, психологической и сочетанной коррекции, можно говорить о явном преобладании эффективности комплексного воздействия в обоих случаях. Так, показатель ЛАП демонстрирует прирост значения на 41,9%, против 16,9 и 16,5% в группах фармако- и психокоррекции соответственно. Показатель ДАН подвергается модификации на 17,1%, на фоне динамики в параллельных группах 11,7 и 11,4%. В данном случае наименее эффективным оказался психокоррекционный подход. Полученные данные указывают на то, что степень нарастания личностного адаптационного потенциала значительно превышает степень коррекции уже существующих дезадаптационных нарушений; это явление наиболее ярко выражено в группе испытуемых, получавших комплексную терапию (психокоррекционное воздействие и прием метаболического препарата). Эффективность сочетанного воздействия более чем в два раза превышает эффективность немедикаментозного влияния и фармакотерапии, применявшихся изолированно.

Помимо интегративной оценки, показатели «Личностный адаптационный потенциал» и «Дезадаптационные нарушения» анализировались на основании иерархических подшкал, таких как «Моральная нормативность» (МН), «Коммуникативный потенциал» (КП), «Поведенческая регуляция» (ПР), «Астенические реакции и состояния» (АС) и «Психотические реакции и состояния» (ПС).

Максимально изменяется показатель ПР на фоне комплексного воздействия – прирост 50,8% по отношению к первоначальному значению; для сравнения в группах фармакологического и психологического воздействия степень модификации данного показателя составила 27,9 и 5,6% соответственно. Минимальная динамика в группе психокоррекции у показателей АС и ПС – 5,3% и 18,6%. Это можно объяснить тем, что именно значения по данным шкалам формируют интегральный показатель ДАН. Полученные данные коррелируют с данными при анализе генеральной шкалы «Дезадаптационные нарушения». Заслуживает внимания тот факт, что более эффективная положительная динамика по подшкалам КП и МН наблюдается при использовании психологического воздействия по сравнению с фармакологическим (21,2%, 20,0% и 11,4%, 18,2%); однако наилучший результат достигается в группе комбинированной психофармакологической коррекции – 28,6% и 31,8%.

Таблица 2

Динамика показателей вспомогательных шкал в структуре ЛАП и ДАН по отношению к первоначальным величинам (на фоне фармакологической, психологической и сочетанной коррекции) (M±SD)

Показатель	*Группа фармакологической коррекции (n=42)*			*Группа психологической коррекции (n=42)*			*Группа комплексной коррекции (n=42)*		
	до коррекции, с.б.	после коррекции, с.б.	динамика, %	до коррекции, с.б.	после коррекции, с.б.	динамика, %	до коррекции, с.б.	после коррекции, с.б.	динамика, %
Поведенческая регуляция (ПР)	43,00 ±15,67	31,00 ± 16,50	27,9	36,00 ±13,25	34,00 ±12,95	5,6	63,00 ±22,30	31,00 ±18,25	50,8
Коммуникативный потенциал (КП)	17,50 ±5,33	15,50 ±4,98	11,4	16,50 ±4,60	13,00 ±3,75	21,2	14,00 ±4,21	10,00 ±4,61	28,6
Моральная нормативность (МН)	11,00 ±3,49	9,00± 3,53	18,2	10,00 ±2,73	8,00± 2,76	20,0	11,00 ±2,70	7,50± 11,98	31,8
Астенические состояния (АС)	21,00 ±3,14	18,00 ±3,14	14,3	19,00 ±3,46	18,00 ±3,16	5,3	22,00 ±4,06	18,00 ±3,44	18,2
Психотические состояния (ПС)	19,00 ±4,28	15,00 ±3,79	21,1	16,00 ±6,90	13,00 ±3,33	18,8	19,00 ±3,43	15,00 ±2,96	21,6
p‹0,05									

Четко прослеживается положительная динамика во всех трех группах, хотя более выраженные эффекты демонстрируются при использовании метаболического препарата в комплексе с психотерапевтическим воздействием. Максимальной положительной трансформации подвергается показатель, отражающий степень поведенческой регуляции – на фоне фармакотерапии и в группе комбинированного воздействия (27,9% и 50,8% по отношению к исходному значению соответственно).

Выводы. По результатам исследования выявлена достаточная эффективность как фармакологических, так и немедикаментозных подходов к коррекции психологической дезадаптации у лиц 18-22 лет с донозологическими проявлениями вегетативного дисбаланса. Однако максимальная эффективность вмешательства по поводу как психологической дезадаптации в целом, так и её компонентов наблюдается при использовании комплексного, психофармакологического, воздействия. При выявлении нарушений психической адаптации степень изменения личностного адаптационного потенциала превалирует над степенью коррекции уже существующих дезадаптационных нарушений (16,9% и 11,7% в группе фармакотерапии, 16,5% и 11,4% в группе немедикаментозного воздействия и 41,9% и 17,1% в случае применения комплексной, психофармакологической, коррекции соответственно), что может свидетельствовать о более высокой эффективности выбранных методов коррекции на ранних, донозологических стадиях нарушения адаптации. Показатели, отражающие степень выраженности коммуникативного потенциала и уровня моральной нормативности испытуемых, динамичнее корректируются на фоне психологического (21,2% и 20,0%), чем фармакологического (11,4% и 18,2%) влияния.

Литература

1. Аверко, Н.Н. Функциональная сердечно-сосудистая патология / Н.Н. Аверко // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2010. – № 2. – С. 62-67.

2. Александровский, Ю.А. Состояния психической дезадаптации и их компенсация / Ю.А. Александровский. – М. : Медицина, 1976. – 272 с.
3. Гаранян, Н.Г. Предэкзаменационный стресс и эмоциональная дезадаптация у студентов младших курсов / Н.Г. Гаранян, А.Б. Холмогорова, Я.Г. Евдокимова, М.В. Москова, В.Ф. Войцех, Г.И. Семикин // Социальная и клиническая психиатрия. – 2007. – № 2.
4. Евдокимова, Я.Г. Интерперсональные факторы эмоциональной дезадаптации студентов : дис. … канд. психол. наук / Я.Г. Евдокимова. – М., 2008.
5. Каган, В.Е. Психогенные формы школьной дезадаптации / В.Е. Каган // Вопросы психологии. – 1984. – №4. – С. 89-95.
6. Козловский, В.Л. От патогенеза тревоги к применению анксиолитиков / В.Л. Козловский // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2002. – Т. 4, № 2. – С. 51-54.
7. Крюкова, Т.Л. Психология совладающего поведения : монография / Т.Л. Крюкова. – Кострома, 2004.
8. Кучма, В.Р. Подросток / В.Р. Кучма, Л.М. Сухарева, К.Э. Павлович // Физиолого-гигиенические и психосоциальные основы обучения и воспитания. – М. : МИОО, 2004. – 279 с.
9. Личко, А.Е. Психопатии и акцентуации характера у подростков / А.Е. Личко // Речь. – 2010. – 256 с.
10. Мороденко, Е.В. Социально-психологическая адаптация и дезадаптация в процессе социализации личности / Е.В. Мороденко // Вестник ТГПУ. – 2009. – №8 (86). – С. 108-111.
11. Москова, М.В. Личностные факторы эмоциональной дезадаптации студентов : автореф. дис. … канд. психол. наук / М.В. Москова. – М., 2008.
12. Costall, B. Serotonin and psychiatric disorders / B. Costall, R.J. Naylor //A key to new therapeutic approaches. Arzneimittelforschung. – 1992 Feb. – № 42(2A). – P. 246-249. Review.
13. Fail, S. The neurochemistry of anxiety / S. Fail ed. by G. D. Burrows, T.R. Norman, B. Davies // Drugs in psychiatry. — Vol. 2. Antianxiety agents. — 1984. — P. 13-33.
14. Lippa, A.S. Molecular substrates of anxiety: clues from the heterogeneity receptors / A.S. Lippa, L.R. Meyerson, B. Beer // Life Science. – 1982. – № 31 (14). –P. 1409-1417.

TO THE QUESTION OF EFFECTIVNESS OF COMBINED CORRECTION OF PSYCHOLOGICAL MALADJUSTMENT DISPLAYS IN PEOPLE OF 18-22 WITH PRENOSOLOGICAL MANIFESTATIONS OF AUTONOMIC DYSREGULATION

O.V. SMOLNYAKOVA
S.I. KORNEEVA
N.G. FILIPPENKO

Kursk State Medical University

e-mail: 1054@list.ru

The article describes the effectiveness of pharmacological, non-drug and combined approaches in correcting symptoms of psychological maladjustment in young people showing signs of prenosological appearance of a violation of autonomic regulation.

Keywords: psychological maladjustment, autonomic dysregulation, glycine, psychological adjustment, adolescence, sympathicotony, vagotonic.

УДК 617.764.5-089.819.1

СТИМУЛИРОВАННАЯ ЦИТОКИНПРОДУЦИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ МЕДИЦИНСКИХ МАТЕРИАЛОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ПРОИЗВОДСТВЕ ХИРУРГИЧЕСКИХ СТЕНТОВ

С.В. ШКОДКИН [1,2]
К.А. БОЧАРОВА [1]
М.И. КОГАН [3]
С.В. ИВАНОВ [4]
Ю.Б. ИДАШКИН [2]
Е.Ф. МИХАЙЛОВА [2]
Н.Г. БАХТИНА [2]
А.В. ЛЮБУШКИН [1]
О.В. МИРОШНИЧЕНКО [1]

[1] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

[2] Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа

[3] Ростовский государственный медицинский университет

[4] Курский государственный медицинский университет

e-mail: shkodkin-s@mail.ru

Выраженность воспалительной реакции на медицинские импланты определяется биоинертными свойствами материала и коррелирует с уровнем провоспалительных (IFNα, IFNγ, TNFα, IL-1β, IL-1βRa, IL-2, IL-6, IL-8), противовоспалительных (IL-4, IL-10) цитокинов. В исследовании приведены результаты стимулированной способности клеток лейкоцитарного ряда к продукции цитокинов в ответ на имплантацию различных медицинских материалов, используемых для изготовления стентов.

Секреция таких цитокинов как IFNγ, IL-1β, IL-8 зависела от исследуемого материала. Наибольшая воспалительная реакция отмечена на металлы и полиуретан. Наименьшая продукция цитокинов отмечена в присутствии наноразмерного покрытия на основе аморфного углерода и атомарного серебра.

Ключевые слова: медицинский имплант, стент, цитокины, воспаление.

Введение. Без применения имплантатов мы не можем представить ни один раздел современной медицины [3, 8, 9, 11]. Долгосрочность и безотказность функции имплантов, конечно же, определяется многими факторами, часть которых узко специализированы, но такие, как инфекционные осложнения и местная воспалительная реакция окружающих тканей, стандартны для имплантов любой локализации и играют порой определяющую роль в длительности их функционирования [1, 2, 5, 6, 9]. Вклад каждого из описанных факторов неравнозначен и определяется местом имплантации. Так, для эндоваскулярных стентов инфекционное обсеменение – явление казуистическое [4], тогда как для мочевых и билиарных – один из основных факторов риска персистенции дренажной инфекции с развитием местных и системных инфекционных осложнений, а также обструкции стента [3, 5, 10]. Но, безусловно, всегда отмечается синергизм взаимодействия этих факторов. Например, чем меньше биоинертность материала, использованного в производстве импланта, тем выраженнее окружающая воспалительная реакция и тем меньшее число инфекционного агента способно привести к бактериальным осложнениям, последние в подавляющем большинстве требуют удаления импланта. Это зачастую приводит к потере функции и невозможности реимплантации [3, 6, 7, 9].

Целью работы стало изучение стимулированной цитокин-продуцирующей активности лейковзвеси образцами материалов, используемых для изготовления внутренних стентов, in vitro.

Материал и методы. Для изучения стимулированной цитокин-продуцирующей активности использовали лейковзвесь, полученную из цельной крови четырех здоровых доноров второй А(II) группы крови по системе АВо, резус фактор положительный Rh (пол). Лейковзвесь получали центрифугированием в гемоконе 400,0 мл стабилизированной цельной крови на скорости 500 оборотов в минуту в течение 10 мин. Полученный лейкоцитарный слой около 5 мл отжимали в отдельный гемокон, для обеспечения плазменными факторами иммунного ответа полученный лейкоцитарный слой смешивали с аутоплазмой в соотношении 1:20. Уровень лейкоцитов в лейковзвеси доводили до $15x10^9$ /мл добавлением физиологического раствора натрия хлорида, подогретого до температуры 37°С. При этом,

содержание гранулоцитов в лейковзвеси составило 6,8±0,75x10⁹ /мл, лимфоцитов – 6,45±0,84x10⁹ /мл, моноцитов – 1,7±0,06x10⁹ /мл, тромбоцитов – 954±103x10⁹ /мл. Концентрация эритроцитов не превышала 0,09±0,0012x10¹² /мл, гемоглобина – 3,1±0,07 г/л, уровень гематокрита –0,92±0,04 %. Клеточный состав и показатели гемограммы лейковзвеси определялись автоматизированным способом, и их распределение не отличалось от нормального (p>0,05). Время приготовления лейковзвеси составило 20,1±0,4 мин. Готовую лейковзвесь разливали в пластиковые стерильные контейнеры по 0,5 мл и с исследуемым материалом помещали в термостат при температуре 37°С.

Испытуемые образцы имели одинаковую площадь поверхности – 1 см². В качестве контрольных материалов исследовали образцы медицинской стали (1), полиуретана (2), сплава титана с эффектом памяти формы на основе Ti-Ni-(X) (3) и титана медицинского крупнозернистого Вт1-0 (4) рыночных мочеточниковых и эндоваскулярных стентов. В основную группу включены низкомодульный титановый сплав системы Ti-Nb-Mo-Zr (5), наноструктурированный нелигированный титан марки ВТ1-0 (6), наноразмерные покрытия на основе аморфного углерода (7), на основе аморфного углерода и азота (8) и на основе аморфного углерода и атомарного серебра (9) и (10), имеющие аналогичную площадь поверхности. Последнее покрытие было представлено двумя модификациями, отличающимися содержанием серебра. Т.о., исследовано десять материалов. Биоинертные свойства указанных наноразмерных покрытий, наноструктурированного нелигированного титана марки ВТ1-0 и низкомодульного титанового сплава системы Ti-Nb-Mo-Zr исследованы впервые. Экспериментальные материалы и покрытия изготовлены НОЦ «Наноструктурные материалы и сплавы» НИУ «БелГУ», научный руководитель д.ф-м.н., профессор Ю.Р. Колобов, и «Лабораторией ионно-плазменного напыления» НИУ «БелГУ», научный руководитель к.ф-м.н., профессор А.Я. Колпаков.

Таблица 1

Количество проб по группам наблюдения

Материал		*Количество проб*				
		Донор №1	Донор №2	Донор №3	Донор №4	Ито-го
Исходный уровень цитокинов в лейковзвеси		1	1	1	1	4
Контрольные материалы	медицинская сталь	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	8
	полиуретан	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	8
	сплав титана с эффектом памяти формы на основе Ti-Ni-(X)	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	8
	титан медицинийого крупнозернистый Вт1-0	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	8
Экспериментальные материалы	низкомодульный титановый сплав системы Ti-Nb-Mo-Zr	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	8
	наноструктурированный нелигированный титан марки ВТ1-0	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	8
	наноразмерное покрытие на основе аморфного углерода	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	8
	наноразмерное покрытие на основе аморфного углерода и азота	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	8
	наноразмерное покрытие на основе аморфного углерода и атомарного серебра №1	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	8
	наноразмерное покрытие на основе аморфного углерода и атомарного серебра №2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	1(5)+1(5)=2	8
Контроль		1(2)+1(2)=2	1(2)+1(2)=2	1(2)+1(2)=2	1(2)+1(2)=2	8
Всего						92

Примечание: после ресуспензирования через 12 часов (инкубируемые образцы) + после ресуспензирования через 24 часа (инкубируемые образцы) = всего проб по одному материалу от одного донора.

Образец материала помещался в объем 0,5 мл лейковзвеси. Лейковзвесь от каждого донора инкубировалась с десятью образцами каждого из материалов в термостате в течение 24 часов при температуре 37°С с оставлением контроля, распределение групп приведено в табл. 1. Уровень цитокинов оценивали методом твердофазного ИФА с помощью набора реагентов ЗАО

«Вектор Бест» (г. Москва), используя kit 96 исследований (табл. 2), для чего ресуспензировали по пять образцов каждого материала через 12 и 24 часа. Т.о., с учетом контроля, на каждую временную точку от одного донора получили 11 проб плазмы, т.е. всего 88 проб и 4 определения исходного уровня цитокинов в лейковзвеси (табл. 1).

Таблица 2

Исследуемые цитокины

Цитокин	*Производитель*
альфа-ИНТЕРФЕРОН (IFNα)	ЗАО «Вектор Бест» г. Москва
гамма-ИНТЕРФЕРОН (IFNγ)	ЗАО «Вектор Бест» г. Москва
альфа-ФНО (TNFα)	ЗАО «Вектор Бест» г. Москва
ИНТЕРЛЕЙКИН-1 бета (IL-1β)	ЗАО «Вектор Бест» г. Москва
Рецепторный антагонист ИЛ-1 бета (IL-1βRa)	ЗАО «Вектор Бест» г. Москва
ИНТЕРЛЕЙКИН-2 (IL-2)	ЗАО «Вектор Бест» г. Москва
ИНТЕРЛЕЙКИН-4 (IL-4)	ЗАО «Вектор Бест» г. Москва
ИНТЕРЛЕЙКИН-6 (IL-6)	ЗАО «Вектор Бест» г. Москва
ИНТЕРЛЕЙКИН-8 (IL-8)	ЗАО «Вектор Бест» г. Москва
ИНТЕРЛЕЙКИН-10 (IL-10)	ЗАО «Вектор Бест» г. Москва

Статистическая обработка полученных данных проводилась на персональном компьютере Pentium 4 с помощью пакета программ Statistica for Windows (версия 6.0, 1996г.). При анализе данных совокупности рассчитывались средние показатели (средняя арифметическая ($x_{ср}$); медиана (Me); мода (Mo)), абсолютные показатели вариации (размах вариации (R); среднее линейное отклонение ($d_{ср}$); дисперсия, (σ^2); ср. квадратичное отклонение (σ); квантильное отклонение Гальтона ($Q=(Q_3-Q_1)/2$)) и относительные показатели вариации исследуемого признака (коэф. осцилляции ($V_R=R/x_{ср}$); линейный коэф вариации ($V_{dср}=d_{ср}/x_{ср}$); коэф вариации ($V_\sigma = \sigma /x_{ср}$); квантильный показатель вариации $K_Q=Q/Me$; коэф дифференциации $K_V=(Q_3-Q_1)/(Q_3+Q_1)$). Оценка характера распределения производилась по тестам на нормальность. Нормально распределяемые показатели приводили в их среднем значении со средним квадратичным отклонением: M±σ. При ненормальном распределении показатели приведены в значении медианы с указанием области 50% квартиля: Me (range). Для установления статистической достоверности различий в показателях основной и контрольной групп рассчитывали вероятность по распределению Стьюдента и Фишера. При вероятности меньшей 0,05 различия считали статистически достоверными.

Исследование выполнено в рамках государственного контракта по теме: «Исследование закономерностей воспалительной и иммунологической реакции на имплантаты из наноструктурированных материалов и материалов без модифицирования свойств».

Результаты и их обсуждение. Уровни исследуемых цитокинов, определенные в нативной плазме доноров, не отличались от средних популяционных величин, рекомендованных фирмой производителем ИФ-тест систем и, за исключением уровня рецепторного антагониста интерлейкина-1 бета (IL-1βRa), имели нормальное распределение. Их средние значения и показатели средних квадратичных отклонений приведены в табл. 3.

Таблица 3

Содержание цитокинов в плазме доноров

Исследуемые цитокины	*Донор*				*M±σ**
	№1	№2	№3	№4	
альфа-ИНТЕРФЕРОН (IFNα), [0-5]**	0,95	1,73	1,34	1,09	1,28±0,34
гамма-ИНТЕРФЕРОН (IFNγ), [0-10]	2,35	3,89	3,15	3,22	3,15±0,63
альфа-ФНО (TNFα), [0-6]	0,68	0,95	0,51	0,73	0,72±0,18
ИНТЕРЛЕЙКИН-1 бета (IL-1β), [0-11]	1,64	3,19	1,86	2,04	2,18±0,69
Рецепторный антагонист ИЛ-1 бета (IL-1βRa), [20-1740]	86	219	39	167	126,5(74,25)***
ИНТЕРЛЕЙКИН-2 (IL-2), [0-10]	0,71	1,62	1,16	1,05	1,14±0,38
ИНТЕРЛЕЙКИН-4 (IL-4), [0-4]	0,31	0,79	0,65	0,48	0,56±0,21
ИНТЕРЛЕЙКИН-6 (IL-6), [0-10]	3,49	6,08	4,25	4,91	4,68±1,10
ИНТЕРЛЕЙКИН-8 (IL-8), [0-10]	4,17	5,88	3,71	4,38	4,54±0,94
ИНТЕРЛЕЙКИН-10 (IL-10), [0-31]	5,73	7,29	6,33	6,47	6,46±0,64

Примечание: * – среднее арифметическое ± среднее квадратичное отклонение; ** – диапазон нормальных величин в плазме, пг/мл; *** – показатели приведены в значении медианы с указанием области 50% квартиля: Me (range).

Отмечено достоверное повышение стимулированной секреции альфа-интерферона (IFNα) относительно исходного уровня и контроля в присутствии полиуретана, что составило через 12 часов 4,17±0,61 пг/мл, через 24 часа - 7,23±1,79 пг/мл, тогда как контрольные показатели на этим сроках равнялись 1,18±0,31 пг/мл и 2,53±0,83 пг/мл соответственно ($p<0,05$). В остальных группах наблюдения в исследуемых образцах плазмы уровень IFNα статистически достоверно не отличался от исходных значений, а его прирост коррегировал с показателями контроля (табл. 4, 5).

Таблица 4

Стимулированная цитокин-продуцирующая активность лейковзвеси через 12 часов

Материалы	*Цитокины, пг/мл*									
	IFNα	IFNγ	TNFα	IL-1ß	IL-1βRa	IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10
Медицинская сталь	2,07 ±1,13	741,3 ±162,3*	8,02 ±1,73*	57,5 ±11,2*	104,7 (65,1)	25,3 ±7,1	1,93 ±0,71	10,7 ±4,1*	413,5 ±107,3*	16,7 ±7,1
Полиуретан	4,17 ±0,61*	813,9 ±211,5*	8,12 ±1,51*	44,1 ±8,3*	113,3 (71,1)	19,1 ±9,2	1,75 ±0,58	8,4 ±4,9*	371,5 ±73,2*	14,1 ±6,5
Сплав титана с эффектом памяти формы на основе Ti-Ni-(X)	2,42 ±1,04	425,2 ±121,5*	7,74 ±1,39*	63,4 ±15,1*	158,4 (88,3)	23,3 ±5,1	1,46 ±0,33	6,1 ±1,8*	394,5 ±80,3*	11,9 ±4,7
Титан медицинский крупнозернистый Вт1-0	1,67 ±0,53	369,2 ±104,8*	7,09 ±0,77*	25,3 ±4,1*	129,1 (73,4)	19,4 ±5,8	1,37 ±0,33	7,8 ±3,5*	283,2 ±45,5*	8,2 ±3,2
Низкомодульный титановый сплав системы Ti-Nb-Mo-Zr	2,16 ±0,88	401,4 ±165,9*	7,54 ±1,42*	42,6 ±11,9*	124,6 (78,4)	28,1 ±8,3	1,52 ±0,59	6,0 ±1,5*	402,7 ±99,2*	6,9 ±2,7
Наноструктурированный нелигированный титан марки ВТ1-0	1,94 ±0,69	327,4 ±99,7*	6,96 ±1,22*	27,1 ±4,2*	105,3 (61,7)	25,5 ±6,1	1,55 ±0,34	9,8 ±3,7*	322,7 ±49,1*	9,8 ±4,1
Наноразмерное покрытие на основе аморфного углерода	1,47 ±0,35	238,3 ±64,1*	6,37 ±1,05*	17,4 ±3,1	96,2 (58,1)	21,3 ±5,8	1,04 ±0,28	6,4 ±1,02*	188,3 ±31,7	10,5 ±4,9
Наноразмерное покрытие на основе аморфного углерода и азота	1,93 ±0,65	81,1 ±28,5*	6,85 ±0,69*	15,1 ±2,6	117,1 (63,1)	18,5 ±6,6	1,17 ±0,22	7,3 ±2,8*	203,2 ±27,1	11,3 ±5,5
Наноразмерное покрытие на основе аморфного углерода и атомарного серебра №1	1,57 ±0,48	68,3 ±24,1*	8,91 ±1,47*	16,9 ±3,8	101,4 (55,7)	28,1 ±7,9	1,29 ±0,35	5,7 ±1,4*	142,5 ±22,7	8,4 ±4,1
Наноразмерное покрытие на основе аморфного углерода и атомарного серебра №2	1,62 ±0,45	55,2 ±15,7*	9,22 ±1,93*	12,5 ±4,7	117,9 (64,8)	32,7 ±11,4	0,98 ±0,23	5,3 ±1,14*	131,4 ±28,1	5,7 ±2,6
Контроль	1,18 ±0,31	7,92 ±2,85	3,12 ±0,74	14,8 ±3,1	132,7 (81,2)	16,5 ±7,1	1,15 ±0,39	2,41 ±1,37	119,6 ±32,1	7,2 ±3,8

Примечание: * – различия статистически достоверны в сравнении с контролем.

Стимулированная секреция гамма-интерферона (IFNγ) во всех группах статистически достоверно отличалась от исходного уровня в плазме доноров, а также от контроля на обоих временных интервалах (табл. 4, 5). Динамика прироста на сроке 12 часов была максимальной в

группах с медицинской сталью и полиуретаном, что составило 741,3±162,3 пг/мл и 813,9±211,5 пг/мл соответственно, что достоверно больше по сравнению с другими материалами. На следующем 12-часовом интервале отмечена некоторая стабилизация скорости прироста уровня IFNγ в этих группах. Сплавы титана (сплав титана с эффектом памяти формы на основе Ti-Ni-(X), титан медицинский крупнозернистый Вт1-0, низкомодульный титановый сплав системы Ti-Nb-Mo-Zr, наноструктурированный нелигированный титан марки ВТ1-0) достоверно не отличались по способности к стимулированной секреции IFNγ на всем сроке наблюдения. Причем максимальный прирост секреции данного цитокина в этих группах отмечался во втором периоде эксперимента, поэтому концентрации IFNγ в группах со сплавами титана, хотя и не достигли таковых в группах с полиуретаном и медицинской сталью, но на сроке 24 часа статистически не различались (табл. 5). Минимальная способность к стимулированной секреции IFNγ на сроке 12 часов выявлена у защищенных металлов, а именно у наноразмерных покрытий на основе аморфного углерода, аморфного углерода и азота и двух разновидностей покрытий на основе аморфного углерода и атомарного серебра (табл. 4). К окончанию эксперимента минимальные показатели стимулированной секреции сохранили обе группы серебро содержащих наноразмерных покрытий, данные показатели составили для группы с наноразмерным покрытием на основе аморфного углерода и атомарного серебра №1 – 98,5±29,7 пг/мл, для группы с наноразмерным покрытием на основе аморфного углерода и атомарного серебра №2 – 116,3±35,8 пг/мл ($p>0,05$), что достоверно меньше, чем следующее по возрастанию значение в группе с наноразмерным покрытием на основе аморфного углерода – 238,3±64,1 пг/мл ($p<0,05$, табл. 5).

Содержание фактора некроза опухоли (TNFα) во всех группах наблюдения на исследуемых временных интервалах было достоверно выше контроля: 3,12±0,74 и 4,61±0,66 пг/мл через 12 и 24 часа соответственно (табл. 4, 5, $p<0,05$), причем отмечен статистически достоверный рост содержания этого цитокина во всех группах наблюдения к концу суток наблюдения. На временном интервале 12 часов статистически значимой разницы в группах с исследуемыми материалами обнаружено не было (табл. 4, $p>0,05$). К концу периода наблюдения сохранялась аналогичная тенденция во всех группах, за исключением группы с наноразмерным покрытием на основе аморфного углерода и атомарного серебра №2, где значения данного цитокина были достоверно выше 29,65±5,71 пг/мл по сравнению с другими группами наблюдения (табл. 5, $p<0,05$) Наименьшие статистически не значимые уровни TNFα зарегистрированы в группе с наноразмерным покрытием на основе аморфного углерода 6,37±1,05 и 13,95±2,61 пг/мл соответственно регистрируемым временным интервалам.

Стимулированная секреция ключевого провоспалительного цитокина (IL-1ß) достоверно различалась в группах наблюдения (табл. 4, 5). Уровень IL-1ß в группах с медицинской сталью, полиуретаном, сплавом титана с эффектом памяти формы на основе Ti-Ni-(X) и низкомодульным титановым сплавом системы Ti-Nb-Mo-Zr через 12 часов составил 57,5±11,2, 44,1±8,3, 63,4±15,1 и 42,6±7,9 пг/мл соответственно, что было достоверно выше, чем в других группах наблюдения ($p<0,05$). Содержание IL-1ß на этом сроке наблюдения в группах титана медицинского крупнозернистого Вт1-0 и наноструктурированного нелигированного титана марки ВТ1-0 составило 25,3±4,1 и 27,1±4,2 пг/мл соответственно, что достоверно больше контроля и защищенных металлов (табл. 4, $p<0,05$).

Статистически значимых различий у наноразмерных покрытий в сравнении с контролем на сроке 12 часов отмечено не было. На следующем временном интервале сохраняется тенденция к росту стимулированной и спонтанной (контроль) секреции IL-1ß. Максимальные содержания данного цитокина отмечены в группе с медицинской сталью, при этом отсутствовали статистически достоверные различия в сравнении с полиуретаном, титаном и его сплавами ($p>0,05$, табл. 5). На этом сроке наблюдения отмечены статистически значимые различия стимулированной секреции IL-1ß в группах с наноразмерными покрытиями на основе аморфного углерода и аморфного углерода и азота в сравнении с контролем, что составило 42,4±8,1, 39,2±6,1 и 25,4±4,8 пг/мл соответственно ($p<0,05$, табл. 5). Для данного срока наблюдения стимулированная секреция IL-1ß в группах с наноразмерными покрытиями на основе аморфного углерода и атомарного серебра №1 и №2 также не отличалась от контроля и составила 28,2±4,5 , 21,7±3,3 и 25,4±4,8 соответственно ($p>0,05$, табл. 5).

Однотипный характер секреции отмечен еще у одного провоспалительного цитокина моноцитарно-макрофагального происхождения, а именно у интерлейкина-8 (IL-8) (табл. 4, 5). Его содержание в группах с полиуретаном и металлами было достоверно выше, чем в группах с наноразмерными покрытиями и контролем на обоих сроках наблюдения ($p<0,01$, табл. 4, 5). Уровень стимулированной секреции IL-8 в группе с наноразмерным покрытием на основе аморфного углерода и атомарного серебра №2 не отличался от спонтанной секреции данного цитокина в контроле и составил 131,4±28,1 и 119,6±32,1 и 177,6±45,1 и 157,2±31,8 пг/мл

соответственно на сроках наблюдения 12 и 24 часа, что не имело статистически достоверных различий (p>0,05).

Уровень такого регуляторного цитокина, как рецепторный антагонист интерлейкина-1 (IL-1βRa), не претерпел статистически достоверных колебаний за время эксперимента, его распределение отличалось от нормального, средние величины приведены в значении медианы с указанием области 50% квартиля.

Таблица 5

Стимулированная цитокин-продуцирующая активность лейковзвеси через 24 часа

Материалы	*Цитокины, пг/мл*									
	IFNα	IFNγ	TNFα	IL-1β	IL-1βRa	IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10
Медицинская сталь	3,65 ±0,93	964,5 ±249,7*	16,45 ±3,56*	125,3 ±37,4*	112,5 (73,8)	40,1 ±12,4	2,07 ±0,65	13,1 ±6,8*	914,4 ±261,8*	32,2 ±13,7
Полиуретан	7,23 ±1,79*	1085,7 ±312,1*	17,02 ±2,88*	86,9 ±32,7*	107,1 (62,4)	34,3 ±9,3	1,54 ±0,51	13,4 ±3,3*	588,5 ±130,8*	33,7 ±11,2
Сплав титана с эффектом памяти формы на основе Ti-Ni-(X)	4,09 ±1,21	817,8 ±232,4*	16,65 ±4,15*	144,2 ±59,5*	143,2 (84,7)	31,3 ±6,7	1,68 ±0,74	8,2 ±3,2*	819,6 ±208,1*	25,4 ±7,3
Титан медицинский крупнозернистый Вт1-0	3,84 ±0,79	764,9 ±176,2*	15,79 ±2,72*	91,1 ±28,1*	179,3 (92,7)	29,6 ±16,1	1,12 ±0,22	9,7 ±2,4*	601,3 ±117,5*	21,5 ±8,8
Низкомодульный титановый сплав системы Ti-Nb-Mo-Zr	4,13 ±1,02	856,5 ±181,1*	15,37 ±2,64*	103,9 ±35,1*	109,4 (62,7)	31,8 ±7,8	1,93 ±0,81	10,2 ±3,9*	647,8 ±102,1*	18,1 ±9,1
Наноструктурированный нелигированный титан марки ВТ1-0	3,66 ±0,71	792,3 ±207,8*	16,93 ±4,05*	102,5 ±21,6*	129,5 (76,2)	38,1 ±8,6	1,37 ±0,44	8,3 ±2,1*	516,3 ±127,7*	27,5 ±13,8
Наноразмерное покрытие на основе аморфного углерода	2,37 ±0,49	238,3 ±64,1*	13,95 ±2,61*	42,4 ±8,1*	135,5 (82,4)	41,4 ±11,3	1,16 ±0,33	9,1 ±2,7*	297,2 ±56,8*	22,9 ±10,7
Наноразмерное покрытие на основе аморфного углерода и азота	2,75 ±0,93	269,6 ±55,8*	14,08 ±2,89*	39,2 ±6,1*	101,1 (57,8)	35,2 ±10,7	0,89 ±0,31	7,1 ±2,2*	307,3 ±51,8*	18,5 ±7,1
Наноразмерное покрытие на основе аморфного углерода и атомарного серебра №1	2,84 ±0,62	98,5 ±29,7*	19,17 ±3,09*	28,2 ±4,5	123,1 (66,3)	48,3 ±14,9	1,14 ±0,42	5,9 ±1,3*	275,5 ±37,1*	18,2 ±9,4
Наноразмерное покрытие на основе аморфного углерода и атомарного серебра №2	3,08 ±0,76	116,3 ±35,8*	29,65 ±5,71*	21,7 ±3,3	108,4 (62,1)	57,2 ±15,4*	1,01 ±0,21	7,5 ±2,4*	177,6 ±45,1	17,1 ±11,6
Контроль	2,53 ±0,83	25,72 ±7,04	4,61 ±0,66	25,4 ±4,8	122,5 (69,8)	27,1 ±7,8	1,09 ±0,45	2,85 ±1,12	157,2 ±31,8	15,8 ±10,3

Примечание: * – различия статистически достоверны в сравнении с контролем.

Изменения в стимулированной секреции интерлейкина-2 (IL-2) заключались в статистически достоверном увеличении содержания IL-2 в сравнении с контролем в группе с наноразмерным покрытием на основе аморфного углерода и атомарного серебра №2 через сутки наблюдения, что составило 57,2±15,4 пг/мл относительно 27,1±7,8 пг/мл в контроле (p<0,05, табл. 5). В первые 12 часов увеличение содержания IL-2 отмечено во всех группах наблюдения, но достоверной разницы со спонтанной секрецией выявлено не было (p>0,05, табл. 4). При сравнении стимулированной секреции IL-2 исследуемыми материалами через сутки эксперимента также не установлено статистически достоверных различий (p>0,05, табл. 5).

Содержание противовоспалительных цитокинов интерлейкина-4 (IL-4) и интерлейкина-10 (IL-10) за исследуемый период не подверглось статистически значимым колебаниям ни в одной из групп наблюдения (p>0,05, табл. 4, 5) и не вышло за рамки нормальных концентраций для этих цитокинов. Имелась тенденция к увеличению уровня IL-10 через 24 часа инкубации в группах с медицинской сталью и полиуретаном, но, как отмечено выше, эти колебания были недостоверны.

Зарегистрирован рост концентрации регуляторного цитокина – интерлейкина-6 (IL-6) во всех группах наблюдения в сравнении со спонтанной секрецией (p<0,05, табл. 4, 5) без достоверно значимых различий между самими группами наблюдения (p>0,05, табл. 4, 5).

Наиболее выраженные групповые различия стимулированной цитокин-продуцирующей активности лейковзвеси зарегистрированы в отношении наиболее IFNγ, IL-1ß и IL-8. Максимальный уровень продукции этих цитокинов и IFNα зарегистрирован в группах медицинской стали и полиуретана, несколько ниже их стимулированная секреция отмечена на титан содержащие материалы, что соответствует данным литературы. Лучшие показатели биоинертности в отношении титан содержащих материалов обусловлены оксидной пленкой, которая отсутствует у стали. На имплантацию материалов этих групп следует ожидать более ярко протекающие иммуно-воспалительные реакции. Менее выраженная стимулированная секреция IFNγ, IL-1ß и IL-8 отмечена в группах с металлами, защищенными наноразмерными покрытиями. Минимальное статистически значимое содержание этих цитокинов (особенно IL-1ß) в группе с наноразмерным покрытием на основе аморфного углерода и атомарного серебра №2 может быть связано с мембран-стабилизирующим действием малых концентраций атомарного серебра.

Интересным является факт большей цитокин-продуцирующей активности в отношении цитокинов, отвечающих за антибактериальный, противовирусный и противоопухолевый иммунный ответ (TNFα, IL-2) в группах с наноразмерным покрытием на основе аморфного углерода и атомарного серебра, особенно в группе №2, что может объяснять опосредованный бактерицидный эффект серебра при небольшом (недостаточном для прямой цитотоксичности) его содержании. И хотя достоверная разница получена только для IL-2, имеющиеся результаты в отношении покрытия углерод-серебро требуют дальнейшего изучения.

Отсутствие роста регуляторных (IL-1βRa, IL-6) и противовоспалительных (IL4, IL-10) цитокинов, вероятно, обусловлено малыми сроками наблюдения, т.е. незавершенностью иммуно-воспалительных реакций и еще отсутствием стимуляции специфических цитокин-продуцирующих клеток. Попытки увеличения сроков наблюдения на данной модели не увенчались успехом, что было связано с массивным цитолизом и соответственно неспецифическим ростом содержания цитокинов. Использование консервирующих сред не дало положительного эффекта. Решение данной проблемы возможно либо в разработке способов длительного in vitro культивирования лейкоцитов с аутоплазмой, либо в создании экспериментальной модели на животных. Последний вариант можно считать более перспективным, т.к. без ограничений в сроках наблюдения имеется возможность прижизненной оценки уровня как системной (определение уровня цитокинов сыворотки), так и, что более важно, местной (определение цитокинов в моче при имплантации стента из исследуемого материала в мочевые пути) воспалительной реакции, а также возможность изучения морфологических изменений в органах иммунной системы.

Таким образом:

1. Полиуретан, медицинская сталь, титан и его сплавы, используемые в настоящее время для изготовления мочеточниковых, билиарных и панкреатических стентов, вызывают выраженную цитокин-продуцирующую реакцию.
2. Оксид титана не предупредил массивной секреции провоспалительных цитокинов.
3. Минимальные показатели цитокин-продуцирующей активности отмечены в группе с наноразмерным покрытием на основе аморфного углерода и атомарного серебра №2.

Необходимо дополнительное исследование опосредованной антибактериальной активности наноструктурированных серебросодержащих покрытий.

Литература

1. Диагностическое значение подъема уровня провоспалительных цитокинов в моче при обострении калькулезного пиелонефрита / П.В. Глыбочко, Н.Б. Захарова, А.Н. Понукалин и др. // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2011. – Т. 7, №2. – С. 143.
2. Маянский, А.Н. Цитокины и медиаторные функции уроэпителия в воспалительных реакциях мочевыводящей системы / А.Н. Маянский // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, №4. – С. 3-8.
3. Медиаторы воспаления и фиброгенеза у детей с инфекцией мочевой системы / С.С. Паунова и др. // Педиатрия. – 2008. – № 3. – С. 34-37.

4. Оганов, Р.Г. Иммуновоспалительные реакции при остром коронарном синдроме / Р.Г. Оганов // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2007. – № 5. – С. 15-19.
5. Особенности цитокинового профиля у больных хроническим гломерулонефритом с прогрессирующей хронической почечной недостаточностью / Н.Н. Корякова и др. // Терапевтический архив. – 2006. – Т. 7-8, № 5. – С. 14-17.
6. Палеев, Н.Р. Цитокины и их роль в патогенезе заболеваний сердца / Н.Р. Палеев, М.Ф. Палеев // Клиническая медицина. – 2004. – №5. – С.4-6.
7. Печенкина, Н.В. Состояние иммунитета у детей с хроническим пиелонефритом, получавших иммуномодулирующую терапию / Н.В. Печенкина, Я.Ю. Иллек, Г.А. Зайцева // Международный журнал по иммунореабилитации. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 127.
8. Постоялко, А.С. Цитокиновый спектр сыворотки крови у больных ИБС после имплантации коронарных стентов различных модификаций / А.С. Постоялко // Медицинские новости. – 2004. – № 12. – С. 93-95.
9. Постоялко, А.С. Эффективность применения стентов с лекарственным покрытием у больных ишемической болезнью сердца / А.С. Постоялко // Здравоохранение. – 2004. – №11. – С. 46-50.
10. Ferguson, M.A. [Vaidya V.S., Bonventre J.V.] // Toxicology. – 2008. – V. 245, № 3. – P. 182-193.
11. Sadeghi, M. [Daniel V., Schnitzler P. et al.] // Transplantation. – 2009. – V. 88, № 9. – P. 1109-1116.

CAUSED CYTOKINE OF ACTIVE MEDICAL MATERIALS USED IN MANUFACTURE TO PRODUCE SURGICAL STENTS

S.V. SHKODKIN [1,2]
K.A. BOCHAROVA [1]
M.I. KOGAN [3]
S.V. IVANOV [4]
Y.B. IDASHKIN [2]
E.F. MICHAILOVA [2]
N.G. BAHTINA [2]
A.V. LUBUSHKIN [1]
O.V. MIROSHNICHENKO [1]

1) Belgorod National Research University

2) Belgorod St. Joasaph regional hospital

3) Rostov State Medical University

4) Kursk State Medical University

e-mail: shkodkin-s@mail.ru

The intensity of the inflammatory reaction on medical implants is determined by the bioinert properties of the material and correlates with the level of proinflammatory (IFNα, IFNγ, TNFα, IL-1ß, IL-1βRa, IL-2, IL-6, IL-8) antiinflammatory cytokines (IL-4, IL-10)/ The study presents the results stimulated the ability of leukocyte cells of the cytokine production in response to implantation of various medical materials used for the manufacture of stents.

The secretion of cytokines such as IFNγ, IL-1ß, IL-8 was dependent on the test material. Most inflammatory response was noted in metal and polyurethane. Lowest cytokine production was observed in the presence of nanosized layer on amorphous carbon and atomic silver.

Keywords: medical implant, stent, cytokines, inflammation.

УДК 618.175:615.03

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ФАРМАКОТЕРАПИИ ДИСМЕНОРЕИ

Н.Ю. ЧЕРКАСОВА
О.В. ФИЛИППОВА

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: ffiona@mail.ru

В статье приведены современные представления об этиологии, патогенезе дисменореи. Рассмотрены существующие направления патогенетической и вспомогательной терапии данной патологии, включающие применение нестероидных противовоспалительных средств, эстроген-гестагенных препаратов, спазмолитических и комбинированных лекарственных средств. А также представлены данные о российском фармацевтическом рынке лекарственных средств для лечения дисменореи.

Ключевые слова: дисменорея, фармакотерапия, фармацевтический рынок.

Согласно международной классификации болезней 10 пересмотра (МКБ-10) болезненные менструации закодированы термином «Дисменорея» [порочные (dys-) месячные (menos-) кровотечения (rhoe-)]. Дисменорея — нарушение менструаций, включающее широкий спектр нейровегетативных, обменно-эндокринных, психических и эмоциональных отклонений, ведущее проявление которых — болевой синдром [2].

Интерес к проблеме боли при менструации обусловлен большой социальной значимостью этой патологии, приводящей в значительном числе случаев к нарушению повседневной активности и трудоспособности женщин. Дисменорея является одним из наиболее распространенных заболеваний в гинекологической практике; по данным разных авторов, частота данной патологии варьирует от 43 до 90%. У 45% девушек наблюдают дисменорею тяжёлой формы, 35% больных страдают дисменореей средней степени тяжести и лишь 20% пациенток — лёгкой степени [2, 6, 9, 12, 15].

Согласно патогенетической классификации выделяют первичную (эссенциальную, идиопатическую, функциональную) и вторичную (приобретенную, органическую) дисменорею. При первичной дисменорее отсутствует органическая патология половых органов. К возникновению вторичной дисменореи может привести целый ряд заболеваний и состояний (наружный и внутренний генитальный эндометриоз, воспалительные заболевания органов малого таза, опухоли матки и ее придатков и др.).

Этиология и патогенез первичной дисменореи недостаточно ясны. Считается, что боль при дисменорее обусловлена нарушением функции гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы, корково-подкорковых взаимоотношений и нарушением синтеза эстрогенов, прогестерона, нейротрансмиттеров и других биологически активных соединений [6]. В настоящее время основная роль в патогенезе дисменореи отводится метаболитам циклооксигеназы, в том числе простагландинам, тромбоксанам, простациклину [11, 16]. Гиперпродукция и дисбаланс в соотношении данных соединений способствует возникновению дисменореи. Большинство исследователей связывают возникновение первичной дисменореи с высоким уровнем простагландинов $F_{2\alpha}$ и E_2 и/или увеличением соотношения $F_{2\alpha}$/ E_2 в эндометрии [19]. Во время лютеиновой фазы цикла миометрий выделяет простагландины, являющиеся мощными стимуляторами сократительной функции миометрия. Во время менструации нарушается целостность мембран клеток эндометрия, и простагландины из клеток попадают в межклеточное пространство. Отторжение ткани ведет к повышению их уровня в крови, что повышает сократительную способность матки, способствует спазму сосудов и развитию ишемии, что вызывает болезненные ощущения. Нарушение гемодинамики в области малого таза и спазм сосудов приводят к развитию гипоксии клеток, накоплению аллогенных веществ, раздражению нервных окончаний и возникновению боли [12].

Таким образом, исходя из представлений о патогенезе данного заболевания, фармакотерапия дисменореи включает применение нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), гестагенов, комбинированных оральных контрацептивов (КОК), а также вспомагательных средств (витаминов, спазмолитиков, блокаторов кальциевых каналов) [5, 8].

Исходя из позиций доказательной медицины, нестероидные противовоспалительные средства являются наиболее оптимальными средствами для лечения патологических состояний с выраженными болевыми симптомами. В связи с этим наиболее широко для лечения первичной дисменореи используются именно НПВС, эффективность которых весьма велика,

достигая 90% [11, 18]. Противовоспалительное и обезболивающее действие НПВС связано с торможением синтеза эйкозаноидов, в первую очередь простагландинов, являющихся основными медиаторами болевой и воспалительной реакций. НПВС нарушают только проведение боли по афферентным путям, не влияя на психический компонент и эмоциональную оценку боли.

Согласно современным рекомендациям при тяжелых формах дисменореи могут быть использованы комбинированные пероральные контрацептивы (КОК) [8, 10]. Кроме того, КОК могут быть препаратами выбора у пациенток с дисменореей, нуждающихся в контрацепции. КОК уменьшают объем менструальных выделений за счет торможения пролиферации эндометрия и подавления овуляции. Секреция простагландинов эндометрием при этом снижается, вследствие чего снижаются порог возбудимости гладкомышечной мускулатуры и ее сократительная активность, уменьшается внутриматочное давление, что приводит к исчезновению или снижению выраженности симптомов дисменореи [16]. По данным разных авторов, эффективность КОК составляет 90%. Однако следует тщательно взвешивать потенциальный риск и ожидаемую пользу применения комбинированных пероральных контрацептивов в каждом индивидуальном случае, а также при наличии таких заболеваний, как тромбозы (венозные и артериальные) и тромбоэмболии, курение, ожирение, артериальная гипертензия и др.

При лечении первичной дисменореи средней тяжести могут применяться гестагены (дидрогестерон) [5, 8]. В отличие от КОК, дидрогестерон, принимаемый в циклическом режиме, не подавляет овуляцию и секреторную трансформацию эндометрия, поэтому может использоваться женщинами, желающими наступления беременности. Кроме того, дидрогестерон снижает порог возбудимости мышечной клетки матки, уменьшая ее сократительную активность. Все указанное приводит к ослаблению или исчезновению симптомов дисменореи. При этом эффективность лечения зависит от принимаемой дозы дидрогестерона [10].

Для терапии дисменореи легкой и средней тяжести используются спазмолитики. Данная группа лекарственных средств включает препараты, снимающие спазм гладкой мускулатуры, обладающие разными механизмами действия. В гинекологической практике чаще используются ингибиторы фосфодиэстеразы (дротаверина гидрохлорид) и М-холиноблокаторы (гиосцина бутилбромид). На подавлении активности фосфодиэстеразы основан эффект широко применяемых спазмолитиков, таких как дротаверина гидрохлорид. Дротаверин, наряду со спазмолитическим действием на гладкую мускулатуру матки, обладает и сосудорасширяющим эффектом, улучшает кровоснабжение тканей, устраняет ишемию, что в целом способствует купированию боли при дисменорее [3]. Гиосцина бутилбромид является селективным антагонистом М-холинорецепторов гладкой мускулатуры. Данный препарат рекомендован к применению в комплексной терапии пациентов с симптомами спастической боли или дискомфорта, среди показаний к его применению выделяют спастические болевые состояния при дисменорее [1].

Базовая терапия любой формы дисменореи включает комбинированное назначение антиоксидантов и препаратов, содержащих соли магния. Доказано, что витамин Е вместе с уменьшением интенсивности перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот, из которых образуются простагландины, участвует в процессе мобилизации эндорфинов из гипоталамо-гипофизарных структур. Витамин Е применяют также для профилактики развития вегетативных и трофических расстройств при дисменорее. Для лечения различных форм дисменореи витамин Е рекомендуют применять длительно в непрерывном режиме.

Определенную роль в терапии дисменореи играет прием препаратов магния. Магний активирует ферментативные реакции, ингибирует простагландинсинтетазу, участвует в синтезе всех известных нейропептидов в головном мозге. Кроме того, этот макроэлемент оказывает общее тонизирующее и успокаивающее действие, положительно влияет на тонус сосудов, обладает мочегонным эффектом. Ионы магния уменьшают возбудимость нейронов и замедляют нервно-мышечную передачу. Лекарственные препараты, содержащие соли магния, для терапии дисменореи назначают длительно в непрерывном режиме.

Таким образом, в настоящее время для патогенетической терапии дисменореи используются препараты различных фармакотерапевтических групп. С целью определения доступности лекарственных средств для устранения боли во время менструации нами проведен маркетинговый анализ целевого сегмента российского фармацевтического рынка. Для этого были использованы данные о зарегистрированных в МЗ РФ и разрешенных к медицинскому применению препаратах. Международные непатентованные наименования (МНН) лекарственных препаратов послужили критерием для контент-анализа Государственного реестра лекарственных средств.

В ходе маркетингового анализа установлено, что для патогенетической терапии дисменореи могут быть использованы лекарственные препараты 6 фармакотерапевтических групп. Общий объем зарегистрированных лекарственных средств по данным на 1 сентября 2012 года составляет: 53 действующих вещества, 258 торговых названий, а с учетом различных дозировок и лекарственных форм 366 лекарственных препаратов (см. табл.).

Таблица

Структура ассортимента лекарственных средств для терапии дисменореи, зарегистрированных в РФ в 2012 году

Фармакологические группы	*МНН/ комбинации*		*Торговые названия*		*Лекарственные препараты*					
					Всего		*В т.ч. отечественные*		*В т.ч. зарубежные*	
	Абс.	Доля, %	Абс.	Доля, %	Абс.	Доля,%	Абс.	Доля,%	Абс.	Доля, %
1. НПВС	9	16,98	104	40,31	192	52,46	70	19,13	122	63,54
2.Анальгезирующие ненаркотические средства	3	5,66	27	10,47	30	8,20	15	50,00	15	50,00
3.Спазмолитики	2	3,78	16	6,20	20	5,46	9	45,00	11	55,00
4.Гестагены	3	5,66	4	1,55	5	1,37	-	-	5	100,00
5.НПВС комбинации	27	50,94	72	27,91	84	22,95	20	23,81	64	76,19
6.КОК	9	16,98	35	13,56	35	9,56	2	5,71	33	94,28
ИТОГО	53	100	258	100	366	100	116	31,70	250	68,30

Как видно из таблицы, в структуре ассортимента преобладают нестероидные противовоспалительные препараты (НПВС) (52,46%) и их комбинации (22,95%) (рис. 1). Из группы НПВС для контент-анализа нами были выбраны МНН лекарственных препаратов, имеющих дисменорею в показаниях к применению либо часто используемых женщинами для устранения боли во время менструации и рекомендуемых работниками первого стола аптек [13, 14]. Ненаркотические анальгетики, представленные тремя МНН, занимают десятую часть ассортимента (8,20%). Также на российском фармацевтическом рынке представлено значительное число препаратов женских половых гормонов (гестагены и комбинированные эстроген-гестагенные контрацептивы (КОК)). На их долю в структуре ассортимента приходится 1,37% и 9,56% соответственно. Спазмолитические препараты представлены двумя МНН, имеющими в показаниях к применению дисменорею. В ассортименте представлено 20 лекарственных препаратов – спазмолитиков под 16 торговыми названиями, что составляет 5,46%.

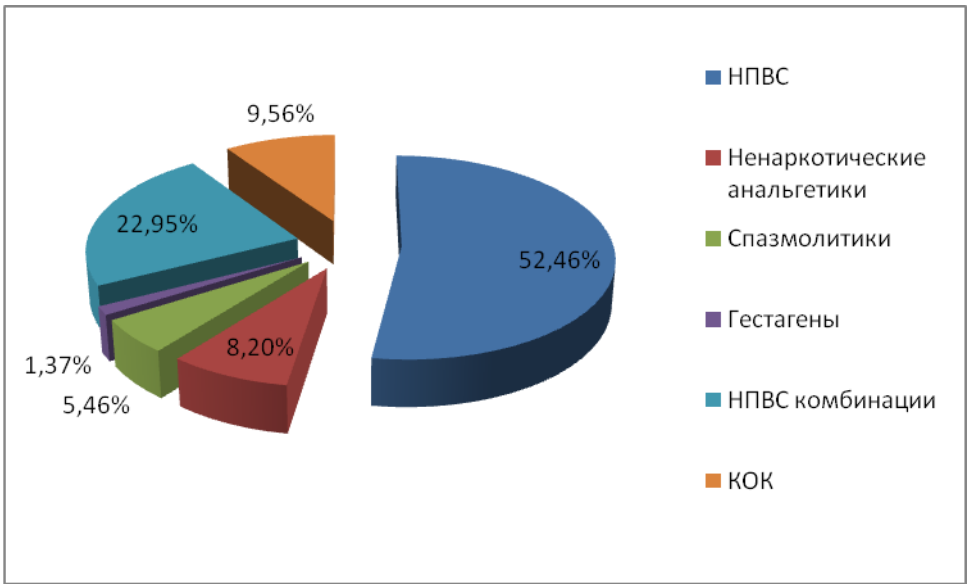


Рис. 1. Структура ассортимента лекарственных средств для лечения дисменореи по фармакологическим группам

В структуре ассортимента преобладают лекарственные препараты, отпускаемые по рецепту врача (66,12%). Препараты женских половых гормонов (гестагены и КОК) отпускаются только по рецепту врача. В группе НПВС также большинство рецептурных препаратов (84,90%). В остальных группах больше половины ЛП, отпускаемых из аптек без рецепта (рис. 2).

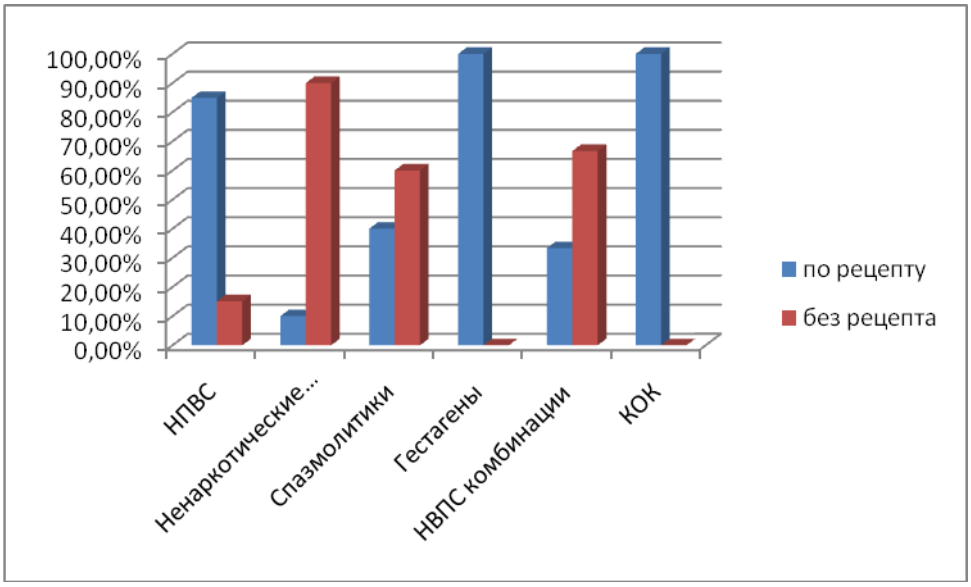


Рис. 2. Структура ассортимента лекарственных средств по условиям отпуска из аптек

Результаты исследования показали, что в настоящее время для терапии дисменореи используются лекарственные препараты нескольких фармакотерапевтических групп. На современном фармацевтическом рынке представлен широкий ассортимент данных лекарственных средств. Однако в структуре ассортимента преобладают препараты, отпускаемые по рецепту врача, а также препараты иностранных производителей. Данный факт может вызвать затруднения у конечных потребителей при выборе наиболее подходящего ЛС для устранения боли во время менструации. В связи с этим необходимо повышенное внимание со стороны акушеров-гинекологов при назначении данных препаратов, а также четкие рекомендации по применению от фармацевтов при покупке в аптеке.

Литература

1. Акарачкова, Е.С. Опыт применения спазмолитика Бускопана в гинекологической практике / Е.С. Акарачкова // Рус. мед. журн. – 2009. – № 16. – С. 1041-1046.
2. Гинекология. Национальное руководство / под ред. В.И. Кулакова, Г.М. Савельевой, И.Б. Манухина. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1088 с.
3. Джобава, Э.М. Дисменорея. Этопатогенез, дифференциальная диагностика и терапия в практике современного акушера-гинеколога / Э.М. Джобава, Ж.А. Мандрыкина, К.Б. Логинова, Ю.Э. Доброхотова // Рус. мед. журн. – 2012. – № 1. – С. 28-35.
4. Каратеев, А.В. Нимесулид во втором десятилетии XXI века / А.В. Каратеев // Consilium medicum. – 2012. – Т. 14, № 2 – С. 104-111.
5. Лекарственные средства, применяемые в акушерстве и гинекологии. – 2-е изд., испр. и доп. / под ред. В.И. Кулакова и др. – М. :ГЕОТАР-Медиа, 2006. – 384 с.
6. Манушарова, Р.А. Гинекологическая эндокринология : руководство для врачей / Р.А. Манушарова, Э.И. Черкезова. – М. : Мед. информ. агентство, 2008. – 280 с.
7. Пахомова, И.Г. Место нестероидных противовоспалительных средств в гинекологической практике (рациональный выбор препаратов с учетом побочных эффектов) / И.Г. Пахомова // Фарматека. – 2009. – № 9. – С. 45-49.
8. Рациональная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии : руководство для практикующих врачей / под ред. В.И. Кулакова и др. – М. : Литера, 2005. – 1151 с.
9. Руководство по эндокринной гинекологии / под ред. Е.М. Вихляевой. — 3-е изд., доп. — М. : Мед. информ. агентство, 2006. — 784 с.
10. Сасунова, Р.А. Современный взгляд на терапию первичной дисменореи / Р.А. Сасунова, Е.А. Межевитинова // Гинекология. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 60-62.

11. Синчихин, С.П. Современные аспекты этиопатогенеза, диагностики, клиники и лечения дисменореи (обзор литературы) / С.П. Синчихин, О.Б. Мамиев, А.А. Сувернева // Гинекология. – 2009. – Т. 11, № 2. – С. 23-27.
12. Уварова, Е.В. Детская и подростковая гинекология : руководство для врачей. – М. : Литтера, 2009. – 384 с.
13. Филиппова, О.В. Потребительские предпочтения при дисменорее / О.В. Филиппова, Н.Ю. Черкасова // Фармация. – 2012. – № 1. – С. 22-26.
14. Филиппова, О.В. Фармацевтическое консультирование пациенток с дисменореей / О.В. Филиппова, Н.Ю. Черкасова // Фармация. – 2011. – № 5. – С. 31-35.
15. Alacttin, U. Prevalence of dysmenorrhea and its effect on quality of life among a group of female university students Upsala / U. Alacttin, A. Unal, T. Mustafa, A. Cul, C. Elif // Journal of Medical Sciences. – 2010. – Vol. 115. – P. 138-145.
16. Kido, A. The effect of oral contraceptives on uterine contractility and menstrual pain: an assessment with cine MR imaging / A. Kido, K. Togashi, M. Kataoka, Y. Maetani, A. Nakai, M.L. Kataoka, T. Koyama, S. Fujii // Human Reproduction. – 2007. – Vol. 22, № 7. – P. 2066-2071.
17. Michelle, L. Dysmenorrhoea / L. Michelle, M. Cynthia // Clinical Evidence – 2007. – № 3. – P. 813.
18. C.K.S. Ong, DDS, PhD; P. Lirk, MD; C.H. Tan, MD, PhD; and R.A. Seymour, DDS, PhD An Evidence-Based Update on Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs // Clinical Medicine & Research. – Vol. 5, № 1. – P. 19-34.
19. Latthe, P. Factors predisposing women to chronic pelvic pain: systematic review / P. Latthe, L. Mignini, R. Gray, R. Hills, K. Khan // BMJ. – 2006. – doi: 10.

MODERN POSSIBILITIES OF PHARMACOTHERAPY OF DYSMENORRHEA

N.YU. CHERKASOVA
O.V. FILIPPOVA

Belgorod National Research University

e-mail: ffiona@mail.ru

The article presents modern data on the etiology, pathogenesis of dysmenorrhea. The current direction of pathogenetic and auxiliary therapy of this pathology, including the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, estrogen-gestagenic agents, anticonvulsive and drug combinations. And also presents data on the Russian pharmaceutical market of medicines for the treatment of dysmenorrheal.

Keywords: dysmenorrhea, pharmacotherapy, the pharmaceutical market.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК: 615.244:616-005.4

ВЛИЯНИЕ ДИСТАНТНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ЭКСПРЕССИЮ ФАКТОРА АНТИАПОПТОЗА В ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО ЭПИЗОДА ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ

С.А. АЛЕХИН [1]
Д.В. ЛОПАТИН [1]
М.В. ПОКРОВСКИЙ [2]
П.М. НАЗАРЕНКО [1]
В.П. ТРОШИН [3]
Д.И. КОЛМЫКОВ [1]
В.В. АЛЕХИНА [1]

[1] Курский государственный медицинский университет

[2] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

[3] Брянский патологоанатомический институт

e-mail: s_alehin@mail.ru

В ходе исследования установлено, что дистантное ишемическое прекондиционирование в значительной степени уменьшает выраженность повреждений печени, связанных с перенесенным эпизодом ишемии и последующей реперфузией, что проявляется в уменьшении зон некроза, снижении активности аминотрансфераз и экспрессии маркера антиапоптоза Bcl-2.

Ключевые слова: ишемия, реперфузия, печень, дистантное ишемическое прекондиционирование.

Широкая распространенность патологии печени, требующей хирургических методов коррекции, одним из основных компонентов которой является региональная ишемия, заставляет искать новые подходы в коррекции данного вида повреждений [1, 9].

Центральным аффектором при ишемической и реперфузионной травме является митохондрия. В настоящее время митохондриальное повреждение рассматривается как сложный многоуровневый процесс с образованием целого ряда цитокинов, ROS, RNS и дисбалансом в продукции важнейшего внутри- и внеклеточного месенджера NO [1, 4, 5, 6, 7] .

Ранее в исследованиях была показана способность ишемического прекондиционирования ограничивать зоны некроза при инфаркте миокарда [8]. Однако работы в отношении воздействия на повреждение печени единичны [2, 9]. В связи с чем целью настоящего исследования явилось изучение влияния дистантного ишемического прекондиционирования на морфофункциональные показатели и экспрессию фактора антиапоптоза Bcl-2.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 36 самцах крыс линии Wistar массой 180-220г. Все животные содержались в стандартных условиях вивария Курского государственного медицинского университета. Группу А (n-12) составили интактные животные, в группу В (n=12) вошли животные с реперфузионным поражением печени после эпизода 15-минутной ишемии и группу С (n=12) составили животные, которым с целью защиты тканей печени было применено дистантное ишемическое прекондиционирование. С целью

создания ишемии печени на аналог печеночно-двенадцатиперстной связки у крыс накладывали латексный турнике на 15 минут. Дистантное ишемическое прекондиционирование воспроизводили по описанной ранее методике, путем наложения жгута на верхнюю треть бедра на 10 минут с последующей 30-минутной реперфузией до воспроизведения эпизода глубокой ишемии [2].

Манипуляции выполнялись под общим обезболиванием (хлоралгидрат в дозе 300 мг/кг внутрибрюшинно). Забор крови производился через 24 часа после проведения эксперимента. Для оценки выраженности гепатоцеллюлярного повреждения определялась активность аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) кинетическим фотоколориметрическим способом на автоматическом биохимическом анализаторе «Виталаб Флексор Е» (Нидерланды) с использованием реагентов фирмы «Biocon» и «Human» (Германия). Для проведения гистологического исследования печени забирали участки размером 1х1х0,5 см в стандартных местах с последующим приготовлением гистологических микропрепаратов и окраской их гематоксилином и эозином по Ван Гизону, Мак Манусу и Паппенгейму.

Результаты. С целью определения воздействия ишемического и реперфузионного повреждения на функциональное состояние печени нами определена активность ферментов цитолиза, а именно АСТ и АЛТ. В ходе исследования получены следующие данные: так, воздействие ишемии/реперфузии приводило к повышению активности АСТ в 1,93 раза, а активности АЛТ в 3,2 раза, что говорит о выраженном отрицательном воздействии на функциональную активность печени. Применение ишемического прекондиционирования за 30 минут до эпизода глубокой ишемии позволяет уменьшить активность АСТ в 1,63 раза, а активность АЛТ в 3,23 раза (см. таблицу).

Таблица

Результаты изучения влияния дистантного ишемического прекондиционирования на активность печеночных транзаминаз при ишемии/реперфузии печени

Группы животных	*Уровень АСТ (Ед/л)*	*Уровень АЛТ (Ед/л)*
Интактные (группа А, n=12)	100,0±1,8	62,1±3,8
Ишемия/реперфузия (группа В, n=12)	193,0±27,1*	196,8±26,9*
ДИПК (группа С, n=12)	118,2±3,7**	60,8±4,1**

Примечание: * – p<0,05 в сравнении с интактными, ** – p<0,05 в сравнении с ишемией-реперфузией.

В группе В с ишемией/реперфузией во время стандартного патоморфологического исследования определяются изменения, характерные для тяжелого поражения печени, что выражается в повреждении ядер с их вакуолизацией, кариолизисом и кариопикнозом, резким отеком цитоплазмы, выраженным расширением пространств Диссе, в наличии очагов субкапсулярных и перипортальных некрозов и диффузной лимфо-лейкоцитарной инфильтрацией по ходу перипортальных трактов, общая площадь некрозов составила 0,215±0,014 мм². Исследование экспрессии фактора антиапоптоза Bcl-2 позволило выявить резкое повышение его экспрессии в группе с ишемией/реперфузией.

В целом группа С отличается сохранной структурой печени, менее выраженным отеком, единичными участками кариопикноза и вакуольной дистрофии (см. рисунок), площадь некрозов составила 0,125±0,008 мм², что в 1,72 раза меньше, чем в группе с ишемией/реперфузией.

Заключение. Данные, полученные в ходе работы, свидетельствуют о выраженном протекторном действии дистантного ишемического прекондиционирования при ишемических и реперфузионных повреждениях печени, которое проявляется в положительном влиянии на функциональную активность органа, с одной стороны, и уменьшении повреждения структурных компонентов – с другой. Исходя из показателей, свидетельствующих о снижении экспрессии факторов антиапоптоза, в частности Bcl-2, можно сделать вывод, что частично положительные эффекты дистантного ишемического прекондиционирования связаны со сдвигом равновесия во время повреждения из воспалительного в сторону невоспалительного ответа и активацией апоптоза.

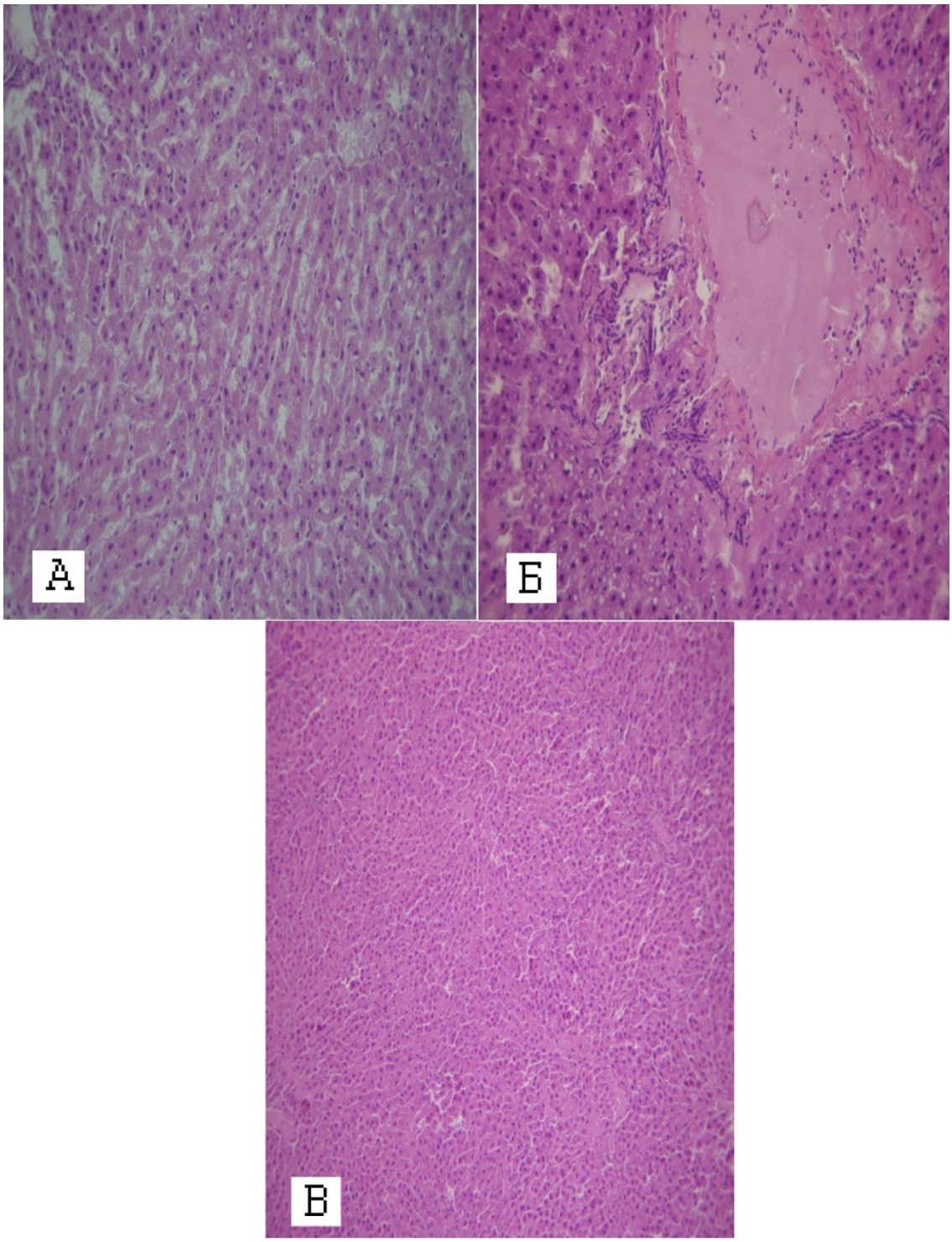


Рис. Влияние ДИПК на морфологические изменения в печени: группа А интактная – структура ткани печени сохранена, дольки и портальные тракты четкие (А), группа Б – структура нарушена, видны очаги некрозов, жировой инфильтрации гепатоцитов (Б), группа С – сохраненная структура печени, единичные очаги некрозов (В). Микрофото. Х 100.

Литература

1. Вишневский, В.А. Операции на печени / В.А. Вишневский, В.А. Кубышкин, А.В. Чжао, Р.З. Икрамов. – М., 2003. – 155 с.

2. Жернакова, Н.И., Прекондиционирование при ишемических и реперфузионных повреждениях печени / Н.И. Жернакова, С.А. Алехин, Д.И. Колмыков и др. // Научные ведомости БелГУ. – 2012. – № 4(123). – С. 157-162.

3. Jaeschke, H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning / H. Jaeschke // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2003. – P. G15-G26.
4. Jassem, W. The role of mitochondria in ischemia/reperfusion injury / W. Jassem, S.V. Fuggle, M. Rela et al. // Transplantation. – 2002. – Vol. 73. – P. 493-499.
5. Jia, C. Advances in the regulation of liver regeneration. Expert Rev / C. Jia // Gastroenterol Hepatol. – 2011. – Vol. 5(1). – P. 105-121.
6. Kin, H. Inhibition of myocardial apoptosis by postconditioning is associated with attenuation of oxidative stress-mediated nuclear factor-kappa B translocation and TNF alpha release / H. Kin, N.P. Wang, J. Mykytenko et al. // Shock. – 2008. – Vol. 29(6). – P. 761-768.
7. Lauzier, B. Beneficial effects of myocardial postconditioning are associated with reduced oxidative stress in a senescent mouse model / B. Lauzier, S. Delemasure, R. Debin et al. // Transplantation. – 2008. – Vol. 85(12). – P. 1802-1808.
8. Murry, C.E. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium / C.E. Murry, R.B. Jennings, K.A. Reimer // Circulation. – 1986. – Vol. 14. – P. 1124-1136.
9. Yuan, G.J. Modulation of liver oxidant-antioxidant system by ischemic preconditioning during ischemia/reperfusion injury in rats / G.J. Yuan, J.C. Ma, Z.J. Gong et al. // World J Gastroenterol. – 2005.– Vol.1. – P. 1825-1828.

REMOTE ISCHEMIC PRECONDITIONING EFFECT ON MORPHOFUNCTIONAL INDICATORS AND ANTIAPOPTOTIC FACTOR IN LIVER AFTER ISCHEMIA/REPERFUSION EPISODE

S.A. ALEHIN [1]
D.V. LOPATIN [1]
M.V. POKROVSKIY [2]
P.M. NAZARENKO [1]
V.P. TROSHIN [3]
D.I. KOLMIKOV [1]
V.V. ALEHINA [1]

[1] Kursk State Medical University

[2] Belgorod National Research University

[3] Bryansk Pathologic Anatomy Institute

e-mail: s_alehin@mail.ru

During research the remote ischemic preconditioning significant influence on liver damage due ischemia and subsequent reperfusion episode was detected, showing in necrotic areas diminishing, decreasing aminotransfarase activity, antiapoptotic marker Bcl-2 expressing reduction.

Keywords: ischemia, reperfusion, liver, remote ischemic preconditioning.

УДК 615.322.015.11:612.7'8.063.085.1:615.851.81

ВЛИЯНИЕ ГЕСПЕРЕДИНА НА СКОРОСТЬ ВОССТАНОВЛЕНИЯ РАБОТОСПОСОБНОСТИ И ПОВЕДЕНЧЕСКИЙ СТАТУС ЖИВОТНЫХ НА ФОНЕ ИНТЕНСИВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ И ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫХ НАГРУЗОК

А.В. ВОРОНКОВ [1]
И.Н. ТЮРЕНКОВ [2]
А.А. СЛИЕЦАНС [2]
Н.А. МУРАВЬЕВА [3]

[1] Пятигорский филиал ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет

[2] НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета

[3] ФУВ Волгоградского государственного медицинского университета

e-mail: prohor.77@mail.ru

Изучено влияние гесперидина в дозе 100 мг/кг per os на работоспособность и переносимость интенсивной физической и психоэмоциональной нагрузки. Интенсивную физическую нагрузку моделировали плаванием крыс с грузом, равным 5% от массы тела животного, в течение 7 дней. Физическую работоспособность оценивали по длительности плавания, поведенческую активность – по результатам тестов «открытое поле» и «крест-лабиринт». Применение гесперидина достоверно повышало работоспособность и восстанавливало поведенческие реакции животных на фоне интенсивной физической и психоэмоциональной нагрузки по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: физическая нагрузка, психоэмоциональная нагрузка, работоспособность, эндотелиальная дисфункция, оксидативный стресс, антиоксиданты, флавоноиды, гесперидин.

Введение. В настоящее время наблюдается популяризация спорта, как массового, так и спорта высоких достижений. Регулярные занятия физической культурой, безусловно, оказывают благотворное влияние на здоровье [3]. Однако следует отметить, что спорт высоких достижений связан с интенсивными физическими и эмоциональными нагрузками. Особенности влияния экстремальных нагрузок на организм спортсмена связаны с необходимостью максимальной мобилизации функциональных резервов и компенсаторно-приспособительных механизмов, кумуляцией происходящих под влиянием этих факторов изменений в структуре и функциях органов и систем, постоянной опасностью срыва компенсаторно-адаптационных механизмов с последующим развитием переутомления, возникновением риска кардио- и цереброваскулярной патологии [8].

Следует отметить, что патогенез патологических состояний, ассоциированных с чрезмерными физическими и психоэмоциональными нагрузками, многоранен. Нагрузка, которую испытывает спортсмен, приводит к запуску и потенцированию каскада патогенетических реакций, в основе которых лежит сложный, многокомпонентный механизм дезадаптации с активацией различных патологических процессов: активации гипоталамо-гипофизарной и симпатоадреналовой систем, вазоконстрикции, изменению реологических свойств крови, метаболическим нарушениям, активации свободнорадикальных процессов, иммуносупресии и нарушению функции эндотелия [13].

Одну из этиологически важных ролей в экстремальных условиях физического перенапряжения играет баланс про- и антиоксидантной систем (АОС). Дисбаланс оксидантной и антиоксидантной систем приводит к развитию оксидативного стресса, который характеризуется избыточным накоплением в тканях свободных радикалов, обладающих выраженными окислительными свойствами (активные формы кислорода, окисленные липопротеиды низкой плотности) [9]. Избыточная продукция свободных радикалов преодолевает защитные механизмы антиоксидантной системы и становится мощным патогенным фактором, подвергая окислению и нарушая функции таких биологических макромолекул, как ДНК, белки, липиды. При этом наблюдаются существенные изменения функции эндотелия сосудов, а именно: торможение эндотелий-зависимой вазодилятации; увеличение синтеза адгезивных молекул; усиление агрегации тромбоцитов и тромбообразования; повышение активности апоптоза [5]. Кроме этого, происходит усиление пролиферации гладкомышечных клеток, приводящее к гипертрофии и ремоделированию стенки сосудов. Увеличение массы гладких мышц сосудов способствует усилению их сокращения и сужению просвета в ответ на различные стимулы, тем самым усиливая вазоконстрикцию, возникающую вследствие активации симпатоадреналовой и

ренинангеотензинальдостероновой систем под влиянием интенсивных физических и психоэмоциональных перегрузок.

Значение данных патологических процессов в развитии дезадаптации организма при интенсивных физических нагрузках позволяет предположить, что перспективным подходом для коррекции функциональных нарушений, сопряженных с переутомлением, является применение флавоноидов, обладающих выраженным антиоксидантным и эндотелиопротекторным действием [1, 12], улучшающих реологические свойства крови.

Цель: изучить влияние гесперидина на скорость восстановления работоспособности и психоэмоциональный статус животных после истощающих физических и психоэмоциональных нагрузок.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 29 крысах-самцах линии Вистар массой 220-250 г, разделенных на 3 группы, рандомизированных по поведенческой активности. Первую из них составили животные, не подвергавшиеся интенсивной физической нагрузке (И, n=9), разделенные на 3 подгруппы по 3 животных в каждой. Интактные животные подвергались физической нагрузке по 1 подгруппе в день по следующей схеме: «1 день – плавание, 2 дня – отдых, 1 день – плавание, 2 дня – отдых» для каждой подгруппы. Вторую (контрольную) – животные, подвергавшиеся интенсивной физической нагрузке, не получавшие вещества (ФН, n=10). Третью – животные, подвергавшиеся интенсивной физической нагрузке, получавшие гесперидин 100 мг/кг per os, через 30 минут после физической нагрузки в течение всего эксперимента (ФН+П, n=10).

Интенсивную физическую нагрузку моделировали плаванием животных с грузом, равным 5% от массы тела животного, на протяжении 7 дней. Критерием ограничения времени плавания служило опускание животного на дно бассейна, после которого оно не могло самостоятельно подняться на поверхность [7].

Для оценки влияния гесперидина на двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность, тревожность, как показатели функционального состояния мозга при интенсивной физической нагрузке, на 1-е сутки эксперимента до моделирования физических нагрузок и 8-е сутки после начала моделирования физических нагрузок (9-й день эксперимента) были использованы тесты «открытое поле» и «приподнятого крестообразного лабиринта» [13].

Статистическая обработка данных производилась с помощью пакетов программ Microsoft Office Excel, BioStat 2008 5.2.5.0.

Результаты. При сравнении продолжительности плавания у животных трех групп на протяжении эксперимента получены следующие данные (рис. 1): животные интактной группы показали схожие результаты продолжительности плавания на протяжении семи дней эксперимента, что составило в 8±1,4 минут. Тогда как у животных, подвергавшихся физической нагрузке, на второй день эксперимента наблюдалось достоверное ($p \leq 0{,}005$) увеличение продолжительности плавания до 12,7±2,1 минут, это в среднем на 60% больше исходного значения, а также значения интактной группы и может быть связано с активацией резервных адаптационных возможностей организма [10]. На третий день у крыс контрольной группы наблюдалось снижение продолжительности плавания на 46% по сравнению с исходными данными и с аналогичным показателем у интактных животных, что, возможно, связано со срывом адаптации организма на фоне истощающих физических нагрузок и развитием функциональных нарушений и переутомления крыс. Полученные результаты согласуются с литературными данными [2]. С четвертого дня эксперимента наблюдается тенденция к постепенному увеличению времени плавания, что по-видимому связано с развитием тренированности у животных, однако к седьмому дню эксперимента не было достигнуто исходного уровня работоспособности, прдолжительность плавания составила лишь 5,6±0,95 минут, что соответствует 70% от первоначального значения и аналогичного значения у интактных животных.

У крыс, получавших гесперидин, на второй день наблюдается увеличение продолжительности плавания до 21±3,133 минут, что на 159,3% больше от исходного значения и 165,8% от аналогичного значения интактной группы ($p \leq 0{,}005$). На третий день эксперимента наблюдается снижение продолжительности плавания по сравнению со вторым днем, однако оно достоверно выше исходного значения у данной группы и аналогичного значения у интактных животных. С четвертого дня наблюдается тенденция к увеличению продолжительности плавания, к седьмому дню время плавания составило 17,9±2,21 минут, это превышает первоначальное значение у данной группы и аналогичное значение у интактной группы крыс на 120,9%.

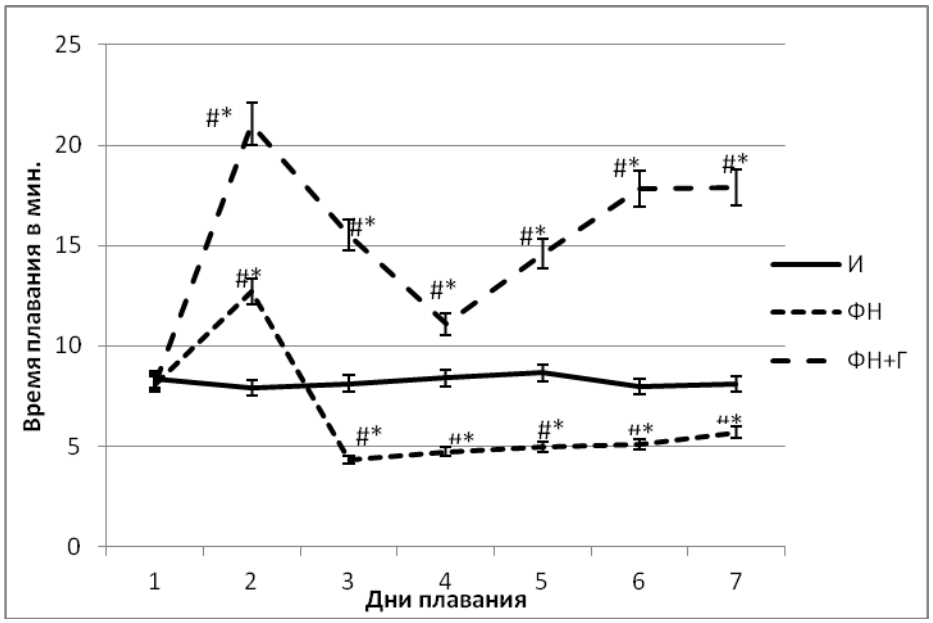


Рис. 1. Влияние гесперидина на продолжительность плавания животных.

Примечание: И – интактные животные; ФН – животные, подвергавшиеся интенсивной физической нагрузке, не получавшие веществ; ФН+Д – животные, подвергавшиеся физической нагрузке, получавшие гесперидин; * – достоверно по отношению к исходному значению (p≤0,005); # – достоверно по отношению к значению интактной группы (p≤0,005).

При оценке поведенческих реакций в тесте «открытое поле» у животных интактной группы наблюдается тенденция к снижению двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, однако эти изменения недостоверны и их можно объяснить феноменом габитуации [6], а эмоциональный статус животных интактной группы остался неизменным до и после физической нагрузки. У животных контрольной группы наблюдается достоверное снижение двигательной активности на 49,2% и ориентировочно-исследовательской активности на 58,16% по сравнению с исходным значением, а также снижение числа заходов в центральную зону и увеличение количества дефекаций и груминга, проявлений реакций страха, повышенной эмоциональности на фоне интенсивной физической нагрузки по сравнению с исходными показателями для данной группы крыс.

Тогда как на фоне приема гесперидина двигательная активность животных сохраняется, и в 1,5 раза превышает значение контрольной группы, однако не достигает значения интактных крыс (рис. 2). Показатели ориентировочно-исследовательской активности достоверно не отличаются от значения контрольной группы (рис. 3).

На фоне приема гесперидина отмечается стабилизация психоэмоционального статуса животных, значительно снижается уровень тревожности, что выражается в увеличении количества заходов в центральную зону, снижении количества болюсов и груминга как по сравнению с контрольной группой, так и интактной группой, что возможно свидетельствует о анксиолитической активности гесперидина (рис. 4).

Для подтверждения предполагаемых анксиолитических свойств изучаемого флавоноида была использована методика «приподнятого крест-лабиринта». Физическая и психоэмоциональная нагрузка, провоцирующая состояние тревоги, страха, беспокойства, усиливает тенденцию предпочтения животными темных и закрытых пространств, что демонстрируют крысы контрольной группы (на 37,2% выше значения до моделирования физической нагрузки). У животных, получавших гесперидин, наблюдается достоверное увеличение количества заходов и времени нахождения крыс в открытых рукавах при незначительном снижении общей двигательной активности, это соответствует результатам, полученным в тесте «открытое поле», и позволяет судить о снижении уровня тревоги и страха по сравнению с животными контрольной группы (рис. 5).

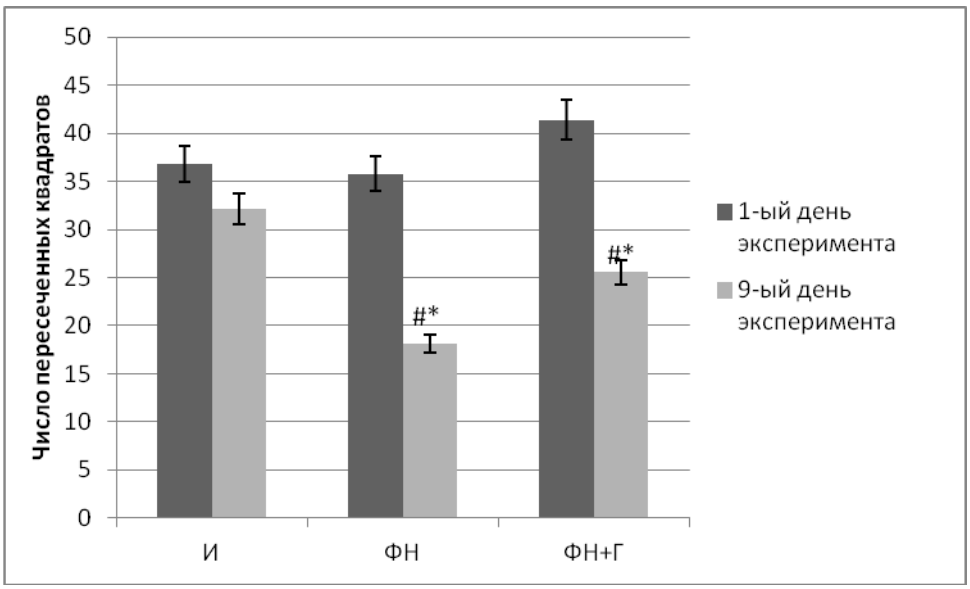


Рис. 2. Влияние геспередина на двигательную активность животных на фоне интенсивной физической нагрузки.

Примечание: И – интактные животные; ФН – животные, подвергавшие интенсивной физической нагрузке, не получавшие веществ; ФН+Д – животные, подвергавшиеся физической нагрузке, получавшие геспередин; * – достоверно по отношению к исходному значению (p≤0,005); # – достоверно по отношению к значению интактной группы (p≤0,005).

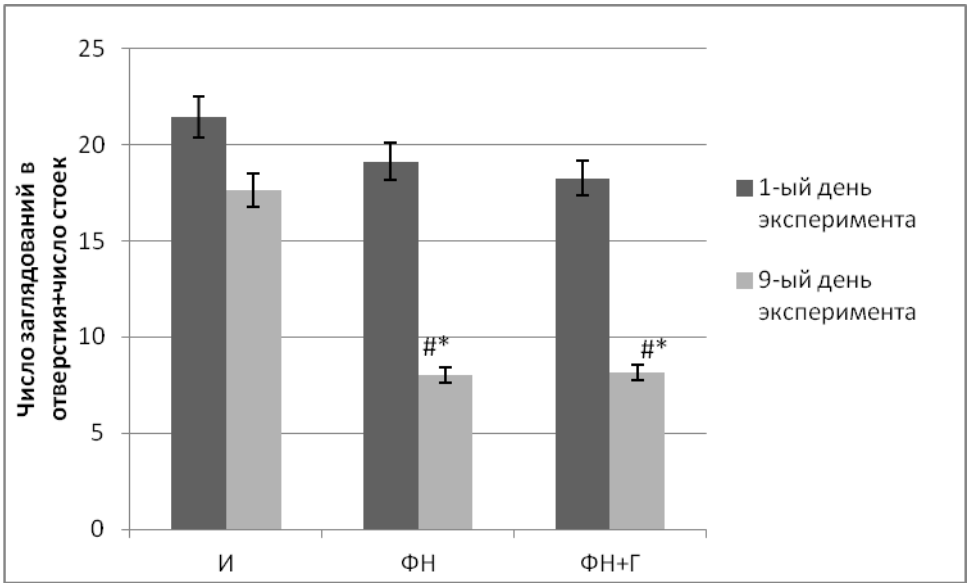


Рис. 3. Влияние геспередина на ориентировочно-исследовательскую активность животных на фоне интенсивной физической нагрузки.

Примечание: И – интактные животные; ФН – животные, подвергавшие интенсивной физической нагрузке, не получавшие веществ; ФН+Д – животные, подвергавшиеся физической нагрузке, получавшие геспередин; * – достоверно по отношению к исходному значению (p≤0,005); # – достоверно по отношению к значению интактной группы (p≤0,005).

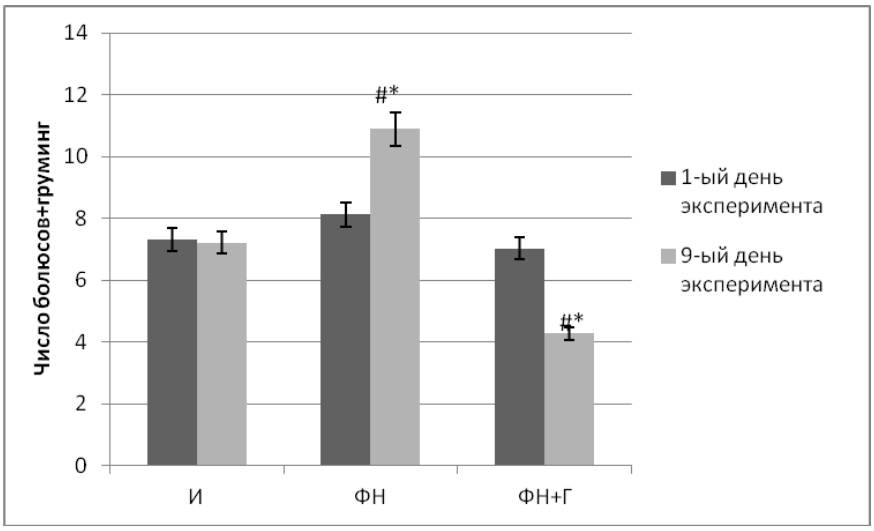


Рис. 4. Влияние геспередина на уровень тревожности животных на фоне интенсивной физической нагрузки в тесте «открытое поле».

Примечание: И – интактные животные; ФН – животные, подвергавшие интенсивной физической нагрузке, не получавшие веществ; ФН+Д – животные, подвергавшиеся физической нагрузке, получавшие геспередин; * – достоверно по отношению к исходному значению (p≤0,005); # – достоверно по отношению к значению интактной группы (p≤0,005).

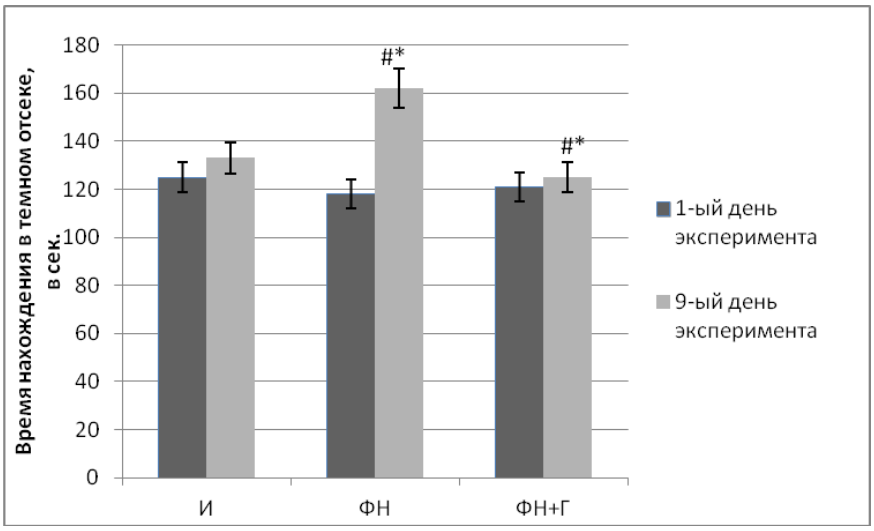


Рис. 5. Влияние геспередина на уровень тревожности животных на фоне интенсивной физической нагрузки в тесте «крест-лабиринт».

Примечание: И – интактные животные; ФН – животные, подвергавшие интенсивной физической нагрузке, не получавшие веществ; ФН+Д – животные, подвергавшиеся физической нагрузке, получавшие геспередин; * – достоверно по отношению к исходному значению (p≤0,005); # – достоверно по отношению к значению интактной группы (p≤0,005).

Выводы:

1. Экспериментально смоделированная семидневная физическая нагрузка приводит к снижению работоспособности животных, что выражается в уменьшении продолжительности плавания в 1,5 раза по сравнению с исходными показателями.

2. Семидневная физическая нагрузка приводит к изменению эмоционально-поведенческого статуса животных и выражается в снижении двигательной (в 2 раза) и ориентировочно-исследовательской (в 2,1 раза) активности крыс, в увеличении уровня тревоги и страха (в 1,5 раза).

3. На фоне введения геспередина после физической нагрузки работоспособность увеличивается в 3,15 раза по сравнению с животными контрольной группы.

4. Введение гесперидина сохраняет двигательную активность животных, по сравнению с животными контрольной группы, не получавшими фармакологической поддержки, в тесте «открытое поле» и «крест-лабиринт».

5. Гесперидин проявляет анксиолитическую активность, что выражается в снижении уровня тревоги, страха, беспокойства у животных в тестах «открытое поле», «крест-лабиринт».

Литература

1. Артюшкова, Е.Б. Метаболическая и антиоксидантная терапия L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции / Е.Б. Артюшкова, М.В. Покровский, Е.В. Артюшкова и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2008. – № 3-4. – С. 73-78.

2. Влияние имидазольного производного Гамма-аминомасляной кислоты на физическую работоспособность животных при повторяющихся физических нагрузках / М.Н. Багметов [и др.] Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2006. – № 2 – С.340.

3. Бушенёва, И.С. Роль и значение физических упражнения для сохранения здоровья человека / И.С. Бушенёва, И.В. Ерёмин //В мире научных открытий. – 2010. – № 3. – С. 313-316.

4. Волошин, П.В. Эндотелиальная дисфункция при цереброваскулярной патологии / П.В. Волошин, В.А. Малахов, А.Н. Завгородняя. – Харьков, 2006. – 92 с.

5. Горожанская, Э.Г. Свободное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях / Э.Г. Горожанская // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – №6. – С. 28-44.

6. Дубровина, Н.И. Успехи физиологических наук / Н.И. Дубровина. – 2011. – Т. 42, №1 – С. 53-66.

7. Корнякова, В.В. Антиоксидантный статус крови при физических нагрузках и его коррекция / В.В. Корнякова, В.Д. Конвай, Е.В. Фомина // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 1. – С. 47-51.

8. Корнякова, В.В. Утомление после чрезмерных физических нагрузок: механизмы развития, коррекция / В.В. Корнякова, В.Д. Конвай, Б.А. Рейс // Теория и практика физической культуры. – 2009. – № 3. – С. 23-25.

9. Марков, Х.М. Молекулярные механизмы дмсфункции сосудистого эндотелия / Х.М. Марков // Кардиология. – 2005. – № 12. – С. 62-72.

10. Роженцов, В.В. Утомление при занятиях физической культурой и спортом: проблемы, методы исследования /В.В. Роженцов, М.М. Полевщиков. – М. : Советский спорт, 2006. – 280 с.

11. Петрищев, Н.Н. Дисфункция эндотелия. Патогенетическое значение и методы коррекции / Н.Н. Петрищев. – СПб. : ИИЦ ВМА, 2007. – 296 с.

12. Зависимость между антиоксидантным действием флавоноидов и их влиянием на вазодилатирующую функцию эндотелия в условиях эндотелиальной дисфункции / И. Н. Тюренков [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – № 10. – С. 14-16.

13. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриев. – 2005. – 832 с.

INFLUENCE OF GESPEREDIN ON SPEED RECOVERY EFFICIENCY AND BEHAVIORAL STATUS OF ANIMALS DURING INTENSIVE PHYSICAL AND PSYCHO-EMOTIONAL LOADS

A.V. VORONKOV [1]
I.N. TYURENKOV [2]
A.A. SLIETSANS [2]
N.A. MURAVIEVA [3]

[1] Pyatigorsk branch of Volgograd state medical university

[2] Research Institute of Pharmacology, Volgograd state medical university

[3] College of Advanced Medical Studies, Volgograd state medical university

e-mail: prohor.77@mail.ru

The influence of gesperedin 100 mg / kg per os on the efficiency and tolerability of intense physical and emotional stress. Intense exercise simulated swimming rats with a load equal to 5% of animal body weight for 7 days. Physical performance was assessed by the duration of swimming, behavioral activity - as measured by an "open field" and "cross-maze." The use of performance-enhancing gesperedin and restores behavioral responses of animals to the background of intense physical and emotional stress as compared to the control group.

Keywords: physical loads, psycho-emotional loads, efficiency, endothelial dysfunction, oxidative stress, antioxidants, flavonoids, gesperedin.

УДК 616.71-007.234:577.112.385.2

ОСТЕОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ L-АРГИНИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОПОРОЗЕ

О.С. ГУДЫРЕВ [1]
Д.С.Р. РАДЖКУМАР [2]
А.В. ФАЙТЕЛЬСОН [2]
М.В. ПОКРОВСКИЙ [1]
В.А. РУЖЕНКОВ [1]
О.В. ФИЛИППОВА [1]

[1] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

[2] Курский государственный медицинский университет

e-mail: gudyrev@mail.ru

В результате исследования было продемонстрировано, что через восемь недель после проведения овариэктомии у самок белых крыс линии Вистар развивается нарушение функции эндотелия сосудов микроциркуляторного русла костной ткани и ухудшение регионарного кровотока в кости, приводящее к возникновению генерализованного остеопороза.

L-аргинин, обладая эндотелиопротективным действием, эффективно предотвращал снижение уровня регионарной микроциркуляции в костной ткани, сохраняя его на уровне интактных крыс. Это позволило поддержать на адекватном уровне процессы костного ремоделирования, что проявилось в замедлении истончения костных трабекул и предотвращении возникновения в них микропереломов.

Ключевые слова: остеопороз, микроциркуляция, эндотелиальная дисфункция, L-аргинин.

Введение. L-аргинин – условно незаменимая аминокислота, является субстратом для синтеза оксида азота. Поступивший с пищей L-аргинин всасывается в тонком кишечнике и транспортируется в печень, где основное его количество утилизируется в орнитиновом цикле, а часть L-аргинина, не метаболизировавшаяся в печени, используется как субстрат для продукции NO [9, 15, 19, 21]. Оксид азота играет важную физиологическую роль, обладая широким спектром биорегуляторных эффектов [11, 12, 22]. Молекула NO является одной из наиболее мелких известных молекул – биологических мессенджеров, и благодаря химической простоте эффекты NO могут регулироваться исключительно его концентрацией и стабильностью. NO легко проникает сквозь мембраны клеток, не нуждаясь в каналах или рецепторах. Инициированный NO сигнальный период достаточно короткий, так как NO быстро окисляется в нитриты и нитраты, поэтому биологические эффекты NO ограничены местом его образования. Мишени воздействия NO зависят от окружающих условий и количества производимого NO. Местный уровень NO детерминирован балансом между интенсивностью его синтеза или экзогенного образования и интенсивностью инактивации. Физиологическое действие NO варьирует в широком пределе от модуляции сосудистой системы до регуляции иммунных процессов (клеточно-опосредованный иммунитет, воздействие нейтрофилов на патогенные микроорганизмы, неспецифическая иммунная защита) и контроля нейрональных функций (передача сигнала в неадренергических нехолинергических нейронах, синаптическая пластичность в центральной нервной системе, осцилляторная активность нейрональной сети, нейропротекция).

Роль NO в поддержании сосудистого гомеостаза сводится к регуляции сосудистого тонуса, пролиферации и апоптоза, а также регуляции оксидантных процессов. Кроме того, NO присущи ангиопротективные и неоангиогенные свойства, также оксид азота – мощный периферический вазодилататор. Хотя внутриклеточная концентрация L-аргинина значительно выше по сравнению с плазмой или внеклеточной жидкостью, доказано, что внеклеточный L-аргинин может быстро захватываться эндотелиальными клетками для синтеза NO. При низких концентрациях в плазме L-аргинин избирательно улучшает эндотелиальную функцию, при среднем уровне концентрации может оказывать прямую вазодилатацию вследствие стимуляции секреции инсулина и гормона роста, высокие уровни L-аргинина вызывают неспецифическую вазодилатацию [3, 10, 13, 14].

Ранее нами было показано, что билатеральная овариэктомия у самок крыс линии Вистар приводит к состоянию, сопровождающемуся признаками развития эндотелиальной дисфункции (ЭД), что ведет к ухудшению кровоснабжения костной ткани [7]. А как известно, снижение кровоснабжения костной ткани, приводящее к нарушению баланса активности остеобластов и остеокластов с превалированием эффектов последних, является одним из важнейших звеньев в патогенезе остеопороза (ОП) [1, 18].

Таким образом, субстрат оксида азота L-аргинин, обладающий в том числе выраженными эндотелиопротективными свойствами [16, 17, 20], может являться одним из препаратов для патогенетической эндотелий-ассоциированной коррекции остеопоротических

изменений. Это указывает на актуальность изучения остеопротективного действия L-аргинина, в чем и заключалась цель данного исследования.

Материалы и методы. Опыты проводили на 92 самках белых крыс линии Вистар массой 200-250 г. Для моделирования системного ОП крыс наркотизировали внутрибрюшинным введением раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг и проводили операцию билатеральной овариэктомии [5]. Развитие генерализованного ОП оценивали через восемь недель (на 57-й день) после проведения операции.

Уровень микроциркуляции оценивали в ткани проксимального метафиза бедренной кости. Для получения данных микроциркуляции в кости использовали оборудование компании Biopac systems: полиграф MP150 с модулем лазерной допплеровской флоуметрии (ЛДФ) LDF100C и датчиком TSD144. Регистрация результатов ЛДФ производилась программой AcqKnowledge версии 4.1, значения микроциркуляции выражались в перфузионных единицах (ПЕ).

Развитие гипоэстрогениндуцированной ЭД оценивали после измерения внутрикостного уровня микроциркуляции, для чего проводили пробы на эндотелийзависимую вазодилатацию (ЭЗВД) в ответ на болюсное внутривенное введение раствора ацетилхолина в дозе 40 мкг/кг и эндотелийнезависимую вазодилатацию (ЭНВД) в ответ на болюсное введение раствора нитропруссида натрия в дозе 30 мкг/кг. Для объективной оценки развития нарушения функции эндотелия при генерализованном ОП рассчитывали коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД) на основе данных ЛДФ в кости. Для этого определяли площади прямоугольных треугольников над кривыми восстановления микроциркуляции после проведения реакций ЭЗВД и ЭНВД. При этом за один из катетов треугольника принимали абсолютную величину падения уровня микроциркуляции, за другой – время восстановления и стабилизации показателя микроциркуляции. КЭД рассчитывался как отношение площади треугольника над кривой восстановления микроциркуляции в ответ на введение нитропруссида к площади треугольника над кривой восстановления микроциркуляции в ответ на введение ацетилхолина [4].

Для подтверждения развития ОП и в комплексной оценке эффективности исследуемых препаратов проводили морфологическое исследование проксимальных метафизов бедренных костей. Предметные стекла с гистологическими препаратами подвергали световой микроскопии (увеличение х100: объектив х10, окуляр х10) и фотографировали костные балки путем сопоставления объектива фотокамеры и окуляра микроскопа.

Для проведения гистоморфометрии костной ткани использовали программу ImageJ версии 1.43, предварительно откаллиброванную следующим образом. Используя то же оборудование, что и для получения фотографий костных трабекул, сфотографировали «линейку» длиной 1 мм. Измерив в программе ImageJ «линейку» в пикселях, приняли расстояние в 1425 пикселей равным 1 мм. В дальнейшем программно измеряли ширину костных трабекул и выражали ее в микрометрах.

Для изучения остеопротективного действия нами была выбрана доза 200 мг/кг L-аргинина, который вводили внутрижелудочно ежедневно однократно в сутки в течение восьми недель, что соответствует данным доступной литературы и выявляет эффективное эндотелиопротективное действие в ранее проведенных экспериментах [2, 6, 8].

Группой контроля являлась группа животных с экспериментальным ОП, не получавших фармакологической коррекции. В группу интактных крыс входили ложнооперированные животные (ложная операция овариэктомии без удаления яичников).

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе Microsoft Excel. «Описательная статистика» применялась для нахождения среднего значения (M) и ошибки среднего (m). «Двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями» использовался для сравнения показателей в различных группах животных и определения достоверности различий между ними. Статистически значимыми считали различия при значениях двустороннего $p<0,05$.

Результаты исследования. Результаты ЛДФ позволили констатировать достоверно более низкий уровень микроциркуляции в костной ткани у крыс через восемь недель после овариэктомии (61,5±3,7 ПЕ; n=42) по сравнению с интактными животными (100,5±4,4 ПЕ; n=30). В ответ на системное введение ацетилхолина и нитропруссида наблюдали снижение микроциркуляции с последующей нормализацией показателей. Уменьшение уровня микроциркуляции при проведении пробы ЭЗВД в группе интактных животных в среднем составило 46,7±3,8% от исходных показателей, в группе крыс с экспериментальным ОП – 38,9±3,8%. При проведении реакции ЭНВД уровень микроциркуляции в группе интактных крыс снизился в среднем на 29,0±3,5% от исходного значения, в группе контрольных животных – на 27,3±5,3%. В группе интактных животных получили КЭД=1,30±0,19, в группе крыс с экспериментальным ОП КЭД был статистически значимо больше и составлял 2,38±0,23.

Остеопоротические изменения были гистологически подтверждены у всех крыс через восемь недель после овариэктомии: наблюдалось истончение костных трабекул и расширение межтрабекулярных пространств. Кроме того, в отдельных гистологических препаратах отмечались микропереломы костных трабекул. О прижизненном возникновении микроперелома свидетельствовало прорастание волокон соединительной ткани в месте перелома трабекулы.

Объективной мерой оценки развития ОП через восемь недель после билатеральной овариэктомии стало достоверное уменьшение средней ширины костных трабекул в проксимальном метафизе бедра. Так, средняя ширина костных трабекул в данной локализации у крыс с экспериментальным ОП (61,7±1,2 мкм) была достоверно меньше показателя интактных животных (97,7±1 мкм) на 36,8%.

При анализе остеопротективной активности L-аргинина было обнаружено, что препарат эффективно предотвращает снижение уровня регионарного кровотока в костной ткани бедра, сохраняя значения микроциркуляции на уровне интактных крыс: результаты ЛДФ в группе крыс, получавших L-аргинин (98,1±4,5 ПЕ; n=20), не отличались от таковых у интактных животных (p=0,736), а также статистически значимо отличались от показателей в контрольной группе (p<0,001).

Было выявлено, что L-аргинин в дозе 200 мг/кг приводил пропорции между площадями треугольников над кривыми восстановления уровня микроциркуляции в кости в ответ на введение нитропруссида и ацетилхолина к таковым у интактных животных. Тем самым L-аргинин статистически значимо снижал КЭД до значения 1,34±0,21 (p=0,012).

При световой микроскопии срезов бедренных костей у крыс, получавших лечение L-аргинином, обнаружили сохранение структуры костной ткани и большую ширину костных трабекул, чем у крыс с ОП, не получавших лечения. Выявили, что L-аргинин препятствовал снижению средней ширины костных трабекул до уровня животных с экспериментальным ОП, однако средняя ширина трабекул (86,6±1,4 мкм) не достигала значения интактных крыс. L-аргинин оказывал статистически значимое влияние на среднюю ширину костных трабекул, увеличивая данный показатель в среднем на 40,4% по сравнению с крысами, страдающими ОП (p<0,001).

Таким образом, в результате проведенного исследования было продемонстрировано, что L-аргинин, вводимый лабораторным животным внутрижелудочно в дозе 200 мг/кг в течение восьми недель после билатеральной овариэктомии, нормализовал нарушенную функцию эндотелия сосудов, в том числе костной ткани, свидетельством чему явилось статистически значимое снижение величины коэффициента эндотелиальной дисфункции по сравнению с животными контрольной группы. L-аргинин достоверно предотвращал снижение уровня микроциркуляции в проксимальном метафизе бедра до значений, достоверно не отличающихся от таковых у интактных крыс, а также оказывал статистически значимое положительное влияние на среднюю ширину костных трабекул по сравнению с крысами, страдающими остеопорозом.

Следовательно, L-аргинин, оказывая эндотелиопротективное воздействие на эндотелий микроциркуляторного русла костной ткани, эффективно предотвращает снижение регионарного кровоснабжения в костной ткани при экспериментальном остеопорозе и обладает остеопротективным действием, заключающимся в положительном влиянии на процессы костного ремоделирования и остеорепарации.

Выводы:

1. Через восемь недель после билатеральной овариэктомии у самок крыс линии Вистар развивается нарушение функции эндотелия сосудов микроциркуляторного русла костной ткани, свидетельством чего является увеличение коэффициента эндотелиальной дисфункции, рассчитанного по результатам лазерной допплеровской флоуметрии в костной ткани, до 2,38±0,23 по сравнению с 1,30±0,19 у интактных животных. Значительно ухудшается регионарный кровоток в костной ткани (61,5±3,7 ПЕ по сравнению с 100,5±4,4 ПЕ у интактных крыс), что приводит к развитию генерализованного остеопороза, сопровождающегося истончением костных трабекул в среднем на 36,8% и возникновением в них микропереломов.

2. L-аргинин в дозе 200 мг/кг на модели билатеральной овариэктомии имеет выраженное эндотелиопротективное действие, проявляющееся в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции до 1,34±0,21, предотвращает снижение уровня микроциркуляции в костной ткани бедра, удерживая его на значениях, не отличающихся от таковых у интактных крыс (98,1±4,5 ПЕ), а также, увеличивая ширину костных трабекул в среднем на 40,4% по сравнению с группой крыс с остеопорозом и предотвращая возникновение микропереломов, обладает остеопротективным действием.

Литература

1. Беневоленская, Л.И. Руководство по остеопорозу / Л.И. Беневоленская. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. – 524 с.

2. Исследование эндотелиопротективного эффекта L-аргинина и его комбинаций с эналаприлом и лозартаном / Т.Г. Покровская, В.И. Кочкаров, М.В. Покровский и др. // Биомедицина. – 2006. – Т. 1, № 4. – С. 107-108.

3. Марков, Х.М. Оксидантный стресс и дисфункция эндотелия / Х.М. Марков // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2005. – № 4. – С. 5-9.

4. Покровский, М.В., Покровская Т.Г., Кочкаров В.И. и др. Пат. 2301015 Российская Федерация, МПК7 A61B 5/02. Способ оценки эндотелиальной дисфункции / заявители и патентообладатели Покровский М.В., Покровская Т.Г., Кочкаров В.И. – № 2005113243/14; заявл. 04.05.2005; опубл. 20.06.07, Бюл. № 17. – 7 с.: ил.

5. Способы экспериментального моделирования эндотелиальной дисфункции / М.В. Корокин, М.В. Покровский, Е.Б. Артюшкова и др. // Аллергология и иммунология. – 2008. – Т. 9, № 3. – С. 327.

6. Фармакологическая коррекция метаболического пути L-аргинин/eNOS/NO / М.В. Покровский, М.В. Корокин, Т.Г. Покровская и др. // Биомедицина. – 2011. – Т. 1, № 4. – С. 115-117.

7. Эндотелий костных сосудов как мишень фармакологического воздействия при экспериментальном остеопорозе // А.В. Файтельсон, О.С. Гудырев, М.В. Покровский и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – № 5 (110). – С. 116-121.

8. Эндотелиопротекторные эффекты L-аргинина при моделировании дефицита окиси азота / М.В. Покровский, В.И. Кочкаров, Е.Б. Артюшкова, Т.Г. Покровская // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – № 2. – С. 29-31.

9. A pilot study of L-arginine supplementation on functional capacity in peripheral arterial disease / R.K. Oka, A. Szuba, J.C. Giacomini, J.P. Cooke // Vasc. Med. – 2005. – Vol. 10(4). – P. 265-274.

10. Böger, R.H. The pharmacodynamics of L-arginine / R.H. Böger // J. Nutr. – 2007. – Vol. 137. – P. 1650S-1655S.

11. Chatterjee, A. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation / A. Chatterjee, J.D. Catravas // Vascul. Pharmacol. – 2008. – Vol. 49(4-6). – P. 134-140.

12. Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development / N.S. Bryan, K. Bian, F. Murad // Frontiers in Bioscience. – 2009. – Vol. 14. – P. 1-18.

13. Gornik, H.L. Arginine and endothelial and vascular health / H.L. Gornik, M.A. Creager // J. Nutr. – 2004. – Vol. 134. – P. 2880S-2887S.

14. L-arginine improves endothelial function and reduces LDL oxidation in patients with stable coronary artery disease / W.H. Yin, J.W. Chen, C. Tsai et al. // Clin. Nutr. – 2005. – Vol. 24(6). – P. 988-997.

15. L-arginine-mediated vasoreactivity in patients with a risk of stroke / C. Zimmermann, M. Wimmer, R.L. Haberl // Cerebrovasc. Dis. – 2004. – Vol. 17(2-3). – P. 128-133.

16. Oral L-arginine improves endothelial dysfunction in patients with essential hypertension / J.P. Lekakis, S. Papathanassiou, T.G. Papaioannou et al. // Int. J. Cardiol. – 2002. – Vol. 86(2–3). – P. 317-323.

17. Oral L-arginine improves endothelial function in healthy individuals older than 70 years / Bode-S.M. Böger, J. Muke, A. Surdacki et al. // Vasc. Med. – 2003. – Vol. 8(2). – P. 77-81.

18. Role of vascular factors in osteoporosis / K. Alagiakrishnan, A. Juby, D. Hanley et al. // J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci. – 2003. – Vol. 58. – P. 362-366.

19. Short-term oral administration of L-arginine improves hemodynamics and exercise capacity in patients with precapillary pulmonary hypertension / N. Nagaya, M. Uematsu, H. Oya et al. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2001. – Vol. 163(4). – P. 887-891.

20. The impact of oral L-arginine supplementation on acute smoking-induced endothelial injury and arterial performance / G. Siasos, D. Tousoulis, C. Vlachopoulos et al. // Am. J. Hypertens. – 2009. – Vol. 22(6). – P. 586-592.

21. Visek, W.J. Arginine needs, physiological state and usual diets. A reevaluation / W.J. Visek // J. Nutr. – 1986. – Vol. 116. – P. 36-46.

22. Wu, G. 1998 Arginine metabolism: nitric oxide and beyond / G. Wu, S.M. Morris Jr. // Biochem. J. – 1998. – Vol. 336. – P. 1-17.

OSTEOPROTECTIVE ACTION OF L-ARGININE IN EXPERIMENTAL OSTEOPOROSIS

O.S. GUDYREV [1]
D.S.R. RAJKUMAR [2]
A.V. FAITELSON [2]
M.V. POKROVSKIY [1]
V.A. RUZHENKOV [1]
O.V. FILIPPOVA [1]

[1] Belgorod National Research University

[2] Kursk State Medical University

e-mail: gudyrev@mail.ru

During an investigation it has been shown, that in eight weeks after ovariectomy at females of white Wistar rats the disturbance of an osteal tissue endothelium function and deterioration of regional blood flow in a bone develops, resulting to occurrence of a generalized osteoporosis.

L-arginine, possessing the endothelioprotective action, effectively prevented a regional microcirculation level depression in an osteal tissue, conserving it at level of intact rats. It has allowed to sustain at adequate level processes of an osteal remodeling, that has shown in retardation of an osteal trabecules thinning and prevention of microfractures occurrence in them.

Keywords: osteoporosis, microcirculation, endothelial dysfunction, L-arginine.

УДК 615.22-088.331

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ 3-(2,2,2-ТРИМЕТИЛГИДРАЗИНИЯ) ПРОПИОНАТОМ, НОВЫЕ ПУТИ РЕАЛИЗАЦИИ ЕГО ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ

Л.М. ДАНИЛЕНКО
М.В. ПОКРОВСКИЙ
О.О. НОВИКОВ
К.А. БЕЛЯЕВ
К.В. ХАВАНСКИЙ

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: Danilenkolyudmila@mail.ru

В настоящей работе рассмотрена роль АТФ-зависимых калиевых каналов, эндотелиальной и индуцибельной NO-синтазы в реализации цитопротекторного эффекта 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата. Показано, что предварительная блокада АТФ-зависимых калиевых каналов глибенкламидом, неселективная блокада эндотелиальной NO-синтазы с помощью L-NAME и селективная блокада индуцибельной NO-синтазы с помощью аминогуанидина полностью нивелировали протективное действие 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата при коронарооккклюзивном инфаркте миокарда. Выявлено, что защитное действие 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата осуществляется за счет активации системы синтеза оксида азота и через АТФ-зависимые калиевые каналы, что доказывает реализацию эффектов 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата по механизму, схожему с механизмом дистантного ишемического прекондиционирования.

Ключевые слова: 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат, АТФ-зависимые калиевые каналы, дистантное прекондиционирование.

На сегодняшний день ишемическая болезнь сердца (ИБС) является главной причиной инвалидизации и смертности населения всех развитых стран, что заставляет искать новые возможности прогнозирования, оценки риска, диагностики, профилактики и лечения. В связи с этим, в течение последних 20 лет активно разрабатываются и изучаются методы защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения. Эти методы дают возможность ограничить зону некроза, сохранить функции миокарда, предотвратить развитие сердечной недостаточности и улучшить клинические результаты у пациентов с ишемической болезнью сердца и другими заболеваниями, опосредованными эндотелиальной дисфункцией. Одним из методов такой защиты является ишемическое прекондиционирование (ИП) – феномен, при котором кратковременные сублетальные эпизоды ишемии коронарной артерии активируют механизмы защиты миокарда от последующего глобального повреждения и способствуют значительному снижению частоты осложнений, возникающих в период ишемии/реперфузии. В случае острой ишемии этот механизм может предотвратить развитие инфаркта миокарда, а если последний все же происходит, ИП обеспечивает его меньший размер, уменьшает вероятность появления аритмии, предохраняет от значительных нарушений функций миокарда левого желудочка, а также уменьшает повреждения миокарда, связанные с реперфузией.

При этом особое внимание уделяется дистантному ишемическому прекондиционированию (ДИП), при котором ишемия отдаленного от миокарда органа или ткани, в частности верхней или нижней конечности, может проявлять эффекты, подобные ИП. Преимуществом ДП является малая инвазивность и доступность, однако его использование имеет ряд ограничений, среди которых пожилой возраст, возможность развития тахифилаксии и др. Поэтому с точки зрения безопасности, универсальности и удобства применения использование фармакологических агентов прекондиционирования, которые способны активировать каскад реакций, приводящих к реализации феномена прекондиционирования, выглядит предпочтительнее.

Однако перечень препаратов с доказанной способностью выступать в качестве агента прекондиционирования ограничен, в связи с этим расширение этого списка является немаловажной задачей. 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат относится к классу миокардиальных цитопротекторов, является парциальным ингибитором окисления жирных кислот и классическим антигипоксантом. Данные свойства 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата известны достаточно давно и являются общепризнанными. Наша же задача

заключалась в изучении иных механизмов, обеспечивающих противоишемический эффект 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата.

Анализируя стадию реализации защитных эффектов ишемического прекондиционирования, многие исследователи обращают внимание на значительную роль АТФ-зависимых К+-каналов (К+АТФ-каналы). Реализацию их защитного потенциала связывают с гиперполяризацией мембраны вследствие их открытия, активацией системы оксида азота, антиапоптатическими механизмами. Каналы этого типа располагаются на плазматической мембране нервных клеток, на внутренней мембране митохондрий, широко представлены в эндотелии и гладкомышечных клетках мозговых сосудов. Все их изоформы способны принимать участие в реализации защитного эффекта прекондиционирования. Однако в настоящее время большинство исследований направлено на изучение роли митохондриального пула К+АТФ-каналов.

В связи с этим **целью нашего исследования явилось** изучение роли К+АТФ-каналов в реализации цитопротекторного эффекта фармакологического прекондиционирования 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионатом и дистантного прекондиционирования.

Материалы и методы. Изучение выживаемости ишемизированного миокарда было проведено на 66 лабораторных кроликах массой 2-2,5 кг. Влияние 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата на размер зоны некроза при инфаркте миокарда проводили на модели коронарооккклюзионного инфаркта миокарда. При этом инфаркт миокарда воспроизводился на наркотизированных животных (хлоралгидрат 300 мг/кг), находящихся на управляемом дыхании, путем перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии на уровне нижнего края ушка левого предсердия, с последующей регистрацией ЭКГ во II стандартном отведении в течение 20 минут.

Фармакологическое прекондиционирование осуществляли с помощью внутривенного введения в маргинальную вену уха кролика 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата (Милдронат®, производства «GRINDEX», Латвия) в дозе 40 мг/кг. Дистантное ишемическое прекондиционирование осуществляли путем наложения жгута на верхнюю треть бедра на 10 минут, с последующей 20-минутной реперфузией и воспроизведением модели инфаркта на 30 минут. Контролем правильности наложения жгута служило отсутствие пульса на артериях голени.

Через 30 минут после коронарной окклюзии осуществляли снятие лигатуры и реперфузию миокарда в течение 90 мин. После чего проводили забор крови из правого желудочка в одноразовую вакуумную пробирку с антикоагулянтом, для определения специфического маркера сердечной мышцы Troponin I (TnI). Troponin I является специфическим белком и обнаружен только в миокарде, чем отличается от скелетных изоформ. Уровень тропонина определяли на иммунофлуоресцентном приборе Triage MeterPro (Biosite, США). Оценку площади некротизированного миокарда осуществляли после окончания 90 мин. реперфузии. Поперечные срезы миокарда производили через каждые 0,8 см, начиная с уровня 0,8 см ниже места наложенной лигатуры. Срезы миокарда помещают в емкость, содержащую фосфатный буфер (pH 7,4) и 1 мг/мл трифенилтетразолия хлорид для образования красного формазана. Подсчет площадей интактного и некротизированного миокарда левого желудочка производят на каждом из четырех срезов с помощью попиксельного анализа в программе Adobe Photoshop 9.0.

С целью подтверждения гипотезы о реализации эффектов прекондиционирования через активацию системы синтеза оксида азота и АТФ-зависимые калиевые каналы животным вводили L-NAME в дозе 25 мг/кг, глибенкламид в дозе 0,4 мг/кг, аминогуанидин в дозе 100 мг/кг.

Результаты и их обсуждение. Наложение лигатуры на нисходящую ветвь левой коронарной артерии у кролика в контрольной группе животных приводило к развитию некроза миокарда, размер которого составил 27,3±1,2% от всего миокарда. Применение местного прекондиционирования путем пережатия левой коронарной артерии за 30 минут до моделирования инфаркта миокарда способствовало достоверному уменьшению площади некротизированного миокарда до 11,8±0,8% (см. табл.).

Применение дистантного прекондиционирования путем пережатия бедренной артерии, фармакологического прекондиционирования путем внутривенного введения Милдронат® в дозе 40 мг/кг и их сочетания за 30 мин. до моделирования коронарооккклюзионного инфаркта миокарда привело к достоверному уменьшению площади некротизированного миокарда и составило 9,05±0,6, 20,2±1,0 и 11,69±0,58 соответственно.

Наибольшая протективная активность обнаружена при сочетанном использовании дистантного прекондиционирования и Милдроната, показатель площади некротизированного миокарда в данной группе животных составил 11,69±0,58 (см. табл.).

Таблица

Размер зоны инфаркта миокарда и уровня тропонина I в экспериментальных группах при изучении влияния эндотелиальной и индуцибельной NO-синтазы и АТФ-зависимых калиевых каналов на эффекты 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата и дистантного прекондиционирования при моделировании коронарооккклюзионного инфаркта миокарда

№ п/п	*Группа*	*% некроза*	*Уровень тропонина I*
1	Контроль	27,3±1,2	16,26 ±1,2
2	ДП	9,05±0,6*	4,63±0,8*
3	Локальное ИП	11,8±0,8*	5,4±1,4*
4	Милдронат	20,2±1,0*	12,2±1,1*
5	Милдронат+ ДП	11,69±0,5*	6,36 ±2,9*
6	L-NAME+ДП	25,3±0,8	15,86±0,9
7	L-NAME+ Милдронат	23,6±1,3	16,3 ±1,7
8	Глибенкламид+ДП	24,2±1,5	15,34±1,3
9	Глибенкламид + Милдронат	32,6±1,8	17,69 ±0,9
10	Аминогуанидин + ДП	22,8±2,0	14,58 ±1,8
11	Аминогуанидин + Милдронат	26,3±1,3	17,30 ±1,2

Примечание: *– p<0,05 в сравнении с контролем.

Неселективная блокада NO-синтазы с помощью внутривенного введения L-NAME в дозе 25 мг/кг и селективная блокада индуцибельной NO-синтазы (iNOS) с помощью внутривенного введения аминогуанидина в дозе 100 мг/кг на фоне моделирования инфаркта миокарда, применение милдроната и дистантного ишемического прекондиционирования привело к блокированию эффектов ишемического и фармакологического прекондиционирования. Величина зоны некроза получавших L-NAME и Милдронат на фоне моделирования инфаркта миокарда составила 23,6±1,3% в группе животных, получавших L-NAME и дистантное прекондиционирование 25,3±0,8%, аминогуанидин и Милдронат®26,3±1,3%, аминогуанидин и дистантное прекондиционирование 22,8±2%. Блокада АТФ-зависимых калиевых каналов с помощью внутрибрюшинного введения глибенкломида в дозе 0,4 мг/кг на фоне моделирования инфаркта миокарда, применение Милдроната® и дистантного ишемического прекондиционирования привело к блокированию эффектов ишемического и фармакологического прекондиционирования. Величина зоны некроза в группе животных, получавших глибенкламид и дистантное прекондиционирование, составила 24,2±1,5%, получавших глибенкломид и Милдронат® на фоне моделирования инфаркта миокарда – 32,6±1,8%. Как отмечалось ранее, Troponin I (TnI) представляет собой маркер, обладающий высокой специфичностью и чувствительностью при повреждении миокарда, что подтверждено различными экспериментальными исследованиями. На это указывают и полученные нами данные в эксперименте при моделировании коронарооккклюзионного инфаркта миокарда (см. табл.).

Вышеизложенное подтверждает наше предположение о том, что 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат является триггером ишемического прекондиционирования и может вызывать фармакологическое прекондиционирование, а реализация естественных механизмов защиты от ишемии осуществляется за счет активации АТФ-зависимых калиевых каналов и биосинтеза оксида азота

АТФ-зависимые калиевые каналы являются эффекторным механизмом в реализации противоишемического эффекта действия как дистантного ишемического прекондиционирования, так и 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата.

Во время кратковременного (нефатального) ишемического эпизода кардиомиоциты начинают выделять аденозин и брадикинин, что, в свою очередь, вызывает активацию универсального внутриклеточного мессенджера — протеинкиназы С. Под ее действием АТФ-зависимые калиевые каналы гладкомышечных клеток сосудов и кардиомиоцитов, закрытые в норме, открываются. За счет этого происходит защитное укорочение сердечных потенциалов действия. Такой эффект имеет энергосберегающее значение, и при возникновении в ближайшее время повторной ишемии миокарда отмечаются снижение его метаболической активности, уменьшение скорости распада АТФ, замедление гликогенолиза и снижение скорости нарастания внутриклеточного ацидоза. Благодаря всему этому миокард лучше переносит ишемию, в том числе более длительную и выраженную.

Из этого следует, что 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат можно рекомендовать в качестве препарата фармакологического прекондиционирования.

Важным аспектом профилактики развития хронической сердечной недостаточности является кардиопротекция, которая включает в себя предотвращение ишемическо-реперфузионного повреждения миокарда. Известно, что ишемическое прекондиционирование оказывает выраженный кардиопротекторный эффект в отношении персистирующей фибрилляции желудочков, вызванной постишемической реперфузией. На основе этого подхода уже созданы новые протоколы противоишемической защиты в ходе кардиохирургических вмешательств с целью профилактики возникновения синдрома малого выброса. Доказаны клиническая безопасность и кардиопротективная эффективность процедуры ишемического прекондиционирования перед первым введением кардиоплегического раствора в условиях экстракорпорального кровообращения. При этом агенты фармакологического прекондиционирования также способны полноценно активировать каскад реакций аналогично ИП.

Проведенные эксперименты показали, что внутривенная инфузия 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата в дозе 40 мг/кг перед началом ишемии достоверно уменьшает размер инфаркта и уровень Тропонина I. Полученный инфаркт-лимитирующий эффект несколько менее выражен, чем при использовании ЛП и ДИП, но на порядок лучше, чем в группе контроля, что доказывает наличие у препарата противоишемических свойств.

Реализация противоишемического эффекта предположительно обусловлена, в частности, противовоспалительным эффектом феномена прекондиционирования. Природа повреждения миокарда при ишемии и реперфузии после достаточно длительного периода нарушенного кровоснабжения имеет много общих черт с воспалительным процессом. На изолированном сердце крыс установлено, что реперфузируемый миокард характеризуется всеми признаками воспаления: высоким уровнем продукции свободных радикалов, усиленной инфильтрацией нейтрофилов, определяемой как гистологически, так и по миелопероксидазной активности. Реперфузионное повреждение миокарда также в определяющей степени связано с экспрессией на эндотелии молекул адгезии Е-селектина 1САМ-1, последующей адгезией и трансэндотелиальной миграцией нейтрофилов. Этот процесс, определяемый высвобождением цитокинов типа фактор некроза опухолей (ФНО-а) и активацией ядерного фактора КР-кВ, протекает по классической двухэтапной схеме развития воспаления. На первом этапе происходит лабильный контакт нейтрофилов с эндотелиоцитами, который определяется взаимодействием Р-сектина эндотелиоцитов с их лигандами (Р8ОЬ-1) на нейтрофилы и сопровождается экспрессией эндотелиоцитами молекул аднезии 1САМ-1. На втором этапе осуществляется их прочная адгезия посредством связывания. В результате через 480 мин. в реперфузии 1САМ-1-зависимая адгезия нейтрофилов возрастает в 3 раза по сравнению с контролем и в 2,5 раза по сравнению со значением после начала реперфузии Устранение первичной адгезии лейкоцитов к эндотелию в первую фазу не оказывает существенного влияния на выраженность и динамику реперфузионного повреждения, тогда как предупреждение второго этапа адгезии сопровождается выраженным кардиопротекторным эффектом. При этом активированные клетки эндотелия продуцируют аденозин, который обладает противовоспалительным потенциалом, угнетает активацию нейтрофилов, их адгезию к эндотелию. Аденозин, в свою очередь, является активатором АТФ-зависимых калиевых каналов, через которые запускаются эффекты ИП. Общеизвестно, что ИП способно угнетать воспалительную реакцию, снижать концентрацию провоспалительных агентов ИЛ-6 и ИЛ-8 в плазме через 3 ч после вмешательства наряду с уменьшением тяжести поражения миокарда. Проведенное исследование позволяет констатировать факт, что 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат является агентом фармакологического прекондиционирования, эффекты которого реализуются через активацию АТФ-зависимых калиевых каналов по типу ишемического прекондиционирования и, следовательно, дают возможность предположить, что именно этот механизм противоишемического действия 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата выглядит наиболее предпочтительным.

Выводы.

1. Введение 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата и проведенное дистантное прекондиционирование достоверно, относительно контрольной группы животных, уменьшало площадь зоны некроза миокарда левого желудочка при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда.

2. Предварительная блокада АТФ-зависимых калиевых каналов глибенкламидом, неселективная блокада NO-синтазы с помощью L-NAME и селективная блокада индуцибельной NO-синтазы с помощью аминогуанидина полностью нивелировали протективное действие дистантного прекондиционирования и 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата при коронароокклюзивном инфаркте миокарда. Защитное действие 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата и дистантного прекондиционирования осуществляется за счет активации системы синтеза оксида азота и через АТФ-зависимые калиевые каналы, что доказывает реализацию

эффектов 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата по механизму, схожему с механизмом реализации эффектов дистантного ишемического прекондиционирования.

Литература

1. Бокерия, JI.A. Природа и клиническое значение «новых ишемических синдромов» / Л.А. Бокерия, И.Н. Чичерин. – М. : НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2007. – С. 302.

2. Aird, W.C. Mechanisms of endothelial cell heterogeneity in health and disease / W.C. Aird // Circ. Res. 2006. – Vol. 98, № 2. – P. 159-162.

3. Dave, K.R. Remote organ ischemic preconditioning protect brain from ischemic damage following asphyxial cardiac arrest / K.R. Dave, I. Saul, R. Prado // Neurosci. Lett. – 2006. – Vol. 404. – P. 170-175.

4. Dirnagl, U. Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection / U. Dirnagl, R.P. Simon, J.M. Hallenbeck // Trends Neurosci. – 2003. – Vol. 26. – P. 248-254.

5. Domenech, R.J. [P. Macho] // Rev Med Chil. – 2008. Dec. – Vol. 136(12). – P. 1582-1588.

6. Downey, J.M. Signaling pathways in ischemic preconditioning / J.M. Downey, A.M. Davis, M.V. Cohen // Heart. Fail. Rev. 2007. – Vol. 12. – P. 181-188.

7. Guglin, M.E. Cardiovascular effects of erythropoietin: anemia and beyond / M.E.Guglin, D. Koul // Cardiol. Rev. — 2006. — № 14(4). – P. 200-204.

8. Hung, L. Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes / L. Hung, J. Chen, S.S. Huang et al. // Cardiovasc. Res. – 2000. – Vol. 47. – P. 549-555.

9. Jager, U. Relaxant effect of trans-resveratrol on isolated porcine coronary arteries / U. Jager, H. Nguyen-Duong //Arzneimittelforschung. – 1999. – Vol. 49 – P. 207-211.

10. Leikert, J.F. Red Wine Polyphenols Enhance Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression and Subsequent Nitric Oxide Release From Endothelial Cells / J.F. Leikert, T.R. Rathel, P. Wohlfart // Circulation. – 2002 – Vol. 106, № 13. – P. 1614-1617.

11. Naderali, E.K. Resveratrol induces vasorelaxation of mesenteric and uterine arteries from female guinea-pigs / E.K. Naderali, P.J. Doyle, G. Williams // Clin. Sci. – 2000 – Vol. 98 – P. 537-543.

12. Penttild, H.J. Ischemic preconditioning does not improve myocardial preservation during off-pump multivessel coronary operation / H.J. Penttild, M.V.I.C. Lepojarvi, I.C. Paivi et al. // Circulation. – 2003. – Vol. 75. – P. 1246-1252.

13. Turley, J.E Exhaled NO is reduced at an early stage of hypoxia-induced pulmonary hypertension in * newborn piglets / J.E. Turley, L.D. Nelin, M.R. Kaplowitz et al. // Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol. 2003. – Vol. 284, № 3.– P. L 489-500.

14. Chavez, J.C. Expression of hypoxia inducible factor 1 in the brain of rats during chronic hypoxia / J.C. Chavez, F. Agani, P. Pichiule, J.C. LaManna // J. Appl. Physiol. – 2000. – Vol. 89. – P. 1937-1942.

15. Wikstrom, D. [L.G. Andersson et al.] // Scand. J. Urol. Nephrol. – 1996. – Vol. 30. – P. 115.

PHARMACOLOGICAI PRECONDITIONING OF 3 - (2,2,2-TRIMETILGIDRAZINIYA) PROPIONATE, NEW WAYS OF IMPLEMENTATION OF ITS ANTIISCHEMIC EFFECTS

L.M. DANILENKO
M.V. POKROVSKIY
O.O. NOVIKOV
K.A. BELYAEV
A.V. HAVANSKY

Belgorod National Research University

e-mail: Danilenkolyudmila@mail.ru

In this paper we consider the role of ATP - dependent potassium channels, endothelial and inducible NO-synthase in the implementation of the cytoprotective effect of 3 - (2,2,2-trimetilgidraziny) propionate. It is shown that pre-blockade of ATP-zavisymyh potassium channels glibenclamide, nonselective blockade of endothelial NO-synthase with L-NAME and the selective blockade of inducible NO-synthase with aminoguanidine completely neutralized the protective effect of 3 - (2,2,2-trimetilgidraziny) propionate koronarooklyuzivnom myocardial infarction. Revealed that the protective effect of 3 - (2,2,2-trimetilgidraziny) propionate is due to activation of nitric oxide synthesis and by ATP-sensitive potassium channels, which proves that the implementation of the effects of 3 - (2,2,2-trimetilgidraziny) propionate on the mechanism is similar to the distant ischemic preconditioning.

Keywords: 3 - (2,2,2 -trimetilgidraziny) propionate, ATP-sensitive potassium channels, distant preconditioning.

УДК 615.225.3

ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НИКОРАНДИЛА – МОДУЛЯТОРА КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ НА МОДЕЛИ КОРОНАРООККЛЮЗИОННОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА У КРОЛИКОВ

Л.М. ДАНИЛЕНКО
М.В. ПОКРОВСКИЙ
О.О. НОВИКОВ
К.А. БЕЛЯЕВ
К.В. ХАВАНСКИЙ

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: Danilenkolyudmila@mail.ru

В работе приведены результаты исследования противоишемической эффективности никорандила — препарата новой перспективой группы модуляторов калиевых каналов. Полученные результаты позволили установить выраженное противоишемическое действие никорандила в дозе 1,8 мг/кг на модели коронарооккклюзионного инфаркта миокарда у кроликов. В условиях ишемии миокарда никорандил обладает кардиопротективным действием вследствие воспроизведения эффектов ишемического прекондиционирования, открывая АТФ-зависимые калиевые каналы, он повышает адаптацию миокарда к прерывистой ишемии, предотвращает гибель миокардиоцитов в результате последующей коронарооккклюзии.

Ключевые слов: никорандил, АТФ-зависимые калиевые каналы, прекондиционирование.

В настоящее время продолжается поиск новых путей фармакологического воздействия на клиническое течение ИБС. В последние годы значительный интерес вызывает изучение эффективности препаратов новой, достаточно перспективной группы модуляторов калиевых каналов, наиболее известным представителем которых является никорандил.

Никорандил — производное никотинамида, состоит из остатка амида никотиновой кислоты и нитратной группы, поэтому обладает свойствами активаторов АТФ-зависимых калиевых каналов и органических нитратов [5, 6, 7, 8, 10]. Доминирующим эффектом высоких концентраций никорандила является укорочение потенциала действия и рефрактерного периода, т.е. влияние на противоаритмические факторы [4]. Известно, что применение никорандила в остром периоде ишемии миокарда значительно уменьшает частоту развития желудочковой тахикардии, оказывает эндотелиопротекторное и кардиопротекторное действие на модели L-NAME индуцированного дефицита оксида азота [1, 11].

Именно группа активаторов калиевых каналов стала объектом всестороннего изучения, поскольку представляет интерес в связи с возможностью терапевтического влияния на процессы, направленные на формирование особого состояния миокарда – прекондиционирования. Развитие прекондиционирования миокарда приводит к значительному ограничению зоны инфаркта, уменьшению ультраструктурных повреждений.

Процесс прекондиционирования протекает в две стадии: ранняя (во время которой запускается каскадный медиаторный механизм, приводя к развитию ишемического прекондиционирования) и поздняя – «второе окно защиты» – повышает толерантность в отношении летальной ишемии миокарда через 24 ч длительностью до 72 ч. Оксид азот NO в развитии отдаленного ишемического прекондиционирования выступает модулятором механизмов его развития.

С прикладной точки зрения важно, что многие фармакологические агенты (модуляторы NO, агонисты рецепторов аденозина, агонисты опиоидных рецепторов), так же как и ишемия, вызывают позднюю фазу ишемического прекондиционирования. Известно, что ишемическое прекондиционирование является общебиологическим механизмом и реализуется за счет активаци АТФ-зависимых калиевых каналов (К+АТФ-каналы) в ответ на выделение аденозина, брадикинина, опиоидов и др. [2].

В связи с этим **целью нашего исследования** явилась оценка эффективности фармакологического прекондиционирования никорандилом и изучение вклада АТФ-зависимых калиевых каналов в реализацию его цитопротекторного эффекта.

Материалы и методы исследования. Эксперимент выполнен на 54 кроликах массой 2-2,5 кг. Изучение влияния ДИП и фармакологического прекондиционирования на размер зоны некроза проводили на модели коронарооккклюзионного инфаркта миокарда у кроликов.

При этом инфаркт миокарда воспроизводили у наркотизированных животных (хлоралгидрат 300 мг/кг), находящихся на управляемом дыхании, путем перевязки

нисходящей ветви левой коронарной артерии на уровне нижнего края ушка левого предсердия, с последующей регистрацией ЭКГ во II стандартном отведении в течение 20 минут.

Фармакологическое прекондиционирование осуществляли с помощью внутривенного введения никорондила в дозе 1,8 мг/кг. Локальное ишемическое прекондиционирование (ЛИП) моделировали путем трех периодов временной окклюзии левой коронарной артерии на 2 и 5 минут в чередовании с периодами реперфузии. Дистантное ишемическое прекондиционирование (ДИП) осуществляли путем наложения жгута на верхнюю треть бедра на 10 минут с последующей 20-минутной реперфузией и моделированием патологии. Контролем правильности наложения жгута служило отсутствие пульса на артериях голени.

Через 30 минут после коронарной окклюзии осуществляли снятие лигатуры и проводили реперфузию миокарда в течение 90 мин. После этого осуществляли забор крови из правого желудочка сердца в одноразовую вакуумную пробирку с антикоагулянтом, для определения специфического маркера повреждения кардиомиоцитов Troponin I (TnI). Уровень тропонина определяли на иммунофлуоресцентном приборе Triage MeterPro (Biosite, США).

После выведения животных из эксперимента поперечные срезы миокарда производили через каждые 0,8 см, начиная с уровня 0,8 см ниже места наложенной лигатуры. Таким образом, от каждого животного исследованию подвергались 4 поперечных среза миокарда.

Определение относительных площадей интактного и некротизированного миокарда левого желудочка сердца производили на каждом из четырех произведенных срезов с помощью анализа в программе Adobe Photoshop 9.0, путем подсчета отношения количества пикселей, приходящихся на зону некроза, к общей площади среза в пикселях.

С целью подтверждения гипотезы о реализации эффектов фармакологического прекондиционирования с помощью никорандила через активацию АТФ-зависимых калиевых каналов животным вводили глибенкламид в дозе 0,4 мг/кг.

Результаты и их обсуждение. Согласно дизайну исследования первоначальная задача заключалась в установлении сходств или различий в оказываемых эффектах на миокард дистантного ДИП и ЛИП прекондиционирования по функциональным, биохимическим и планиметрическим данным, полученным в ходе моделирования коронарооккклюзионного инфаркта миокарда на наркотизированных лабораторных кроликах.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение дистантного прекондиционирования приводит к максимальному снижению процента некроза до показателя 9,05±0,6%, сопоставимый результат получен и в ходе использования локального прекондиционирования 11,8±0,8, что достоверно меньше, чем в контрольной группе, в которой данный показатель составил 27,3±1,2% (рис. 1).

Однако реализация на практике локального прекондиционирования возможна только при проведении хирургических операций, в частности при ангиопластике, аортокоронарном шунтировании и других видах кардиоплегии.

Дистантное прекондиционирование в данном контексте выглядит, безусловно, более привлекательно, однако его применение ограничено, в частности из-за возможности развития хронического прекондиционирования миокарда повторными окклюзиями, при этом, если окклюзии повторяются слишком часто и слишком близки друг к другу по времени, может развиваться тахифилаксия с потерей защитного эффекта.

С целью предотвращения развития столь негативных последствий наиболее приемлемым выглядит использование фармакологических агентов прекондиционирования.

Группа, в которой за 30 минут до инфаркта внутривенно вводили никорандил в дозе 1,8 мг/кг, характеризовалась значением 10,7±0,4%, достоверное меньшим, чем в группе контроля 27,3±1,2. Этот факт свидетельствует о том, что никорандил оказывает выраженное противоишемическое действие на модели коронарооккклюзионного инфаркта миокард.

Для доказательства пути реализации противоишемического действия никорандила животным вводили глибенкламид внутрибрюшинно в дозе 0,4 мг/кг за 30 минут до введения никорандила. Полученные результаты свидетельствовали о том, что при блокаде АТФ-зависимых калиевых каналов происходит нивелирование эффектов прекондиционирования (рис. 1).

В нашем исследовании биохимическим маркером служил показатель уровня Тропонина I в крови. Полученные данные свидетельствуют о том, что максимально низкий показатель уровня тропонина 4,6±0,3 нг/мл, а следовательно, максимальное противоишемическое действие достигается при использовании ДИП, однако никорандил также показывает результаты, отражающие достоверное снижение уровня Тропонина I до уровня 5,2±0,6 нг/мл и положительный защитный эффект для кардиомиоцитов. Однако при блокировании основных механизмов действия, за счет которых реализуются эффекты прекондиционирования, наблюдается практически полное нивелирование защитных механизмов и фармакологического и дистантного прекондиционирования (рис. 2). Кроме того, следует отметить, что показатель

уровня Тропонина I во всех группах коррелирует с размером зоны некроза, то есть при увеличении зоны некроза показатель уровня Тропонина I возрастает. Таким образом, полученные в ходе исследования данные подтверждают способность никорандила проявлять свойства агента фармакологического прекондиционирования, поскольку его противоишемические эффекты реализуются по механизму прекондиционирования, за счет активации АТФ-зависимых калиевых каналов.

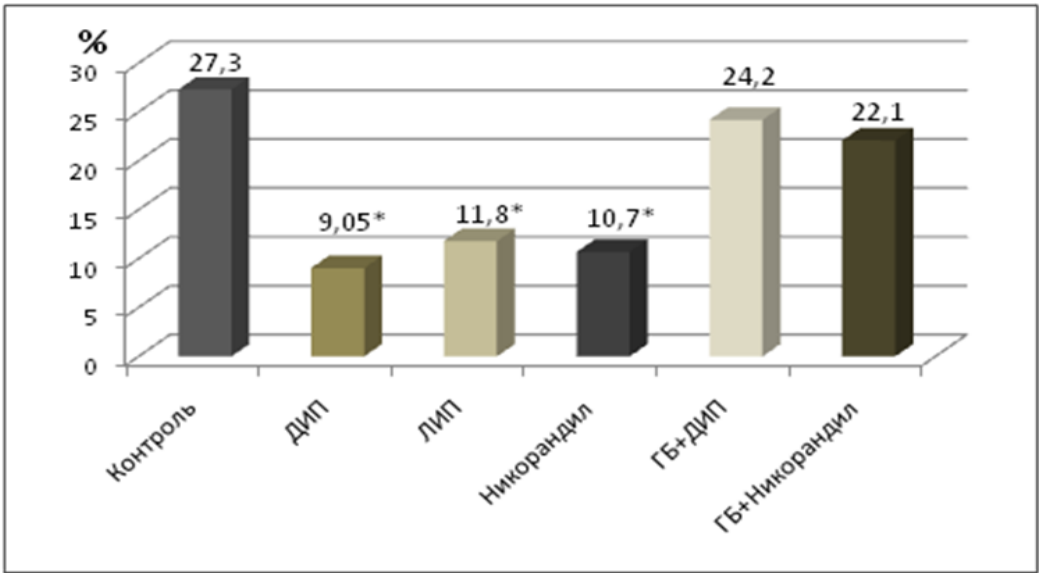


Рис. 1. Размер зоны инфаркта миокарда (%) в экспериментальных группах при изучении АТФ-зависимых калиевых каналов на эффекты никорандила локального и дистантного прекондиционирования при моделировании коронарооккклюзионного инфаркта миокарда.

Примечание: * – p<0,05 в сравнении с контролем; ДИП – дистантное ишемическое прекондиционирование, ЛИП – локальное ишемическое прекондиционирование, ГБ – глибенкламид.

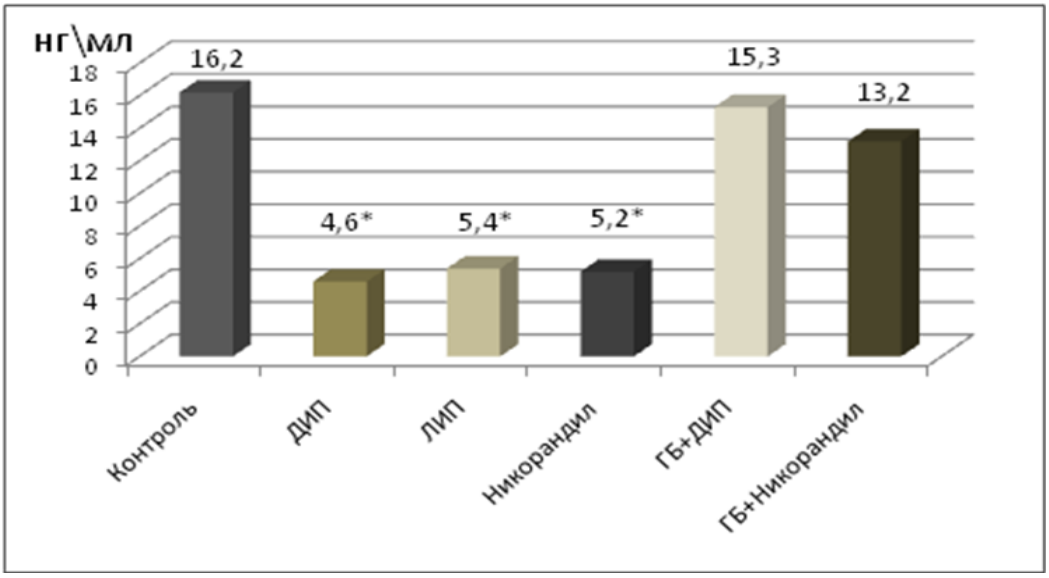


Рис. 2. Уровнь Тропонина I (нг\мл) в экспериментальных группах при изучении АТФ-зависимых калиевых каналов на эффекты никорандила локального и дистантного прекондиционирования при моделировании коронарооккклюзионного инфаркта миокарда.

Примечание: * – p<0,05 в сравнении с контролем; ДИП – дистантное ишемическое прекондиционирование, ЛИП – локальное прекондиционирование, Н – никорандил, ГБ – глибенкламид.

Активаторы АТФ-зависимых калиевых каналов митохондрий (в частности никорандил) предотвращают гиперсокращение кардиомиоцитов во время реоксигенации, которое является основным фактором повреждения миокарда при реперфузионном синдроме [3]. Показано, что

применение активаторов АТФ-зависимых калиевых каналов во время реперфузии обеспечивает защиту миокарда от реперфузионного повреждения [9].

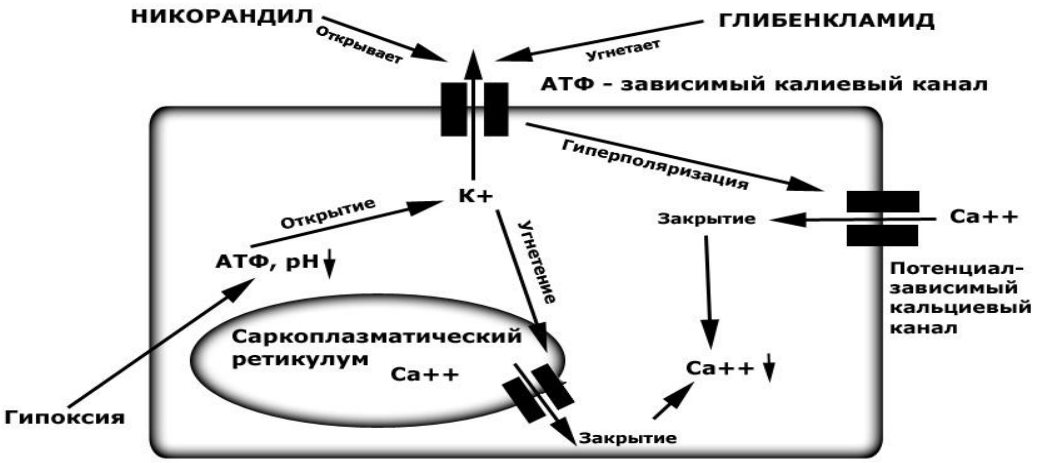


Рис. 3. Предполагаемый механизм работы АТФ-зависимых калиевых каналов в клетках гладких мышц стенки сосудов под влиянием никорандила.

Никорандил открывает АТФ-зависимые каналы гладкомышечных клеток сосудистой стенки, стимулируя выход ионов калия и гиперполяризацию клеточной мембраны, что приводит к снижению потока ионов кальция внутрь клетки, включая закрытие потенциалзависимых кальциевых каналов (рис. 3). Активаторы АТФ-зависимых калиевых каналов митохондрий (в частности никорандил) предотвращают гиперсокращение кардиомиоцитов во время реоксигенации, которое является основным фактором повреждения миокарда при реперфузионном синдроме [2]. Никорандил, открывая АТФ-зависимые калиевые каналы, моделирует, таким образом, феномен ишемического прекондиционирования. Он повышает адаптацию миокарда к прерывистой ишемии, предотвращает гибель миокардиоцитов в результате последующей коронарной окклюзии.

Выводы:

1. Фармакологическое прекондиционирование никорандилом и дистантное прекондиционирование достоверно, относительно контрольной группы животных, уменьшало площадь зоны некроза миокарда левого желудочка при моделировании коронарооккклюзионного инфаркта миокарда.
2. Предварительная блокада АТФ-зависимых калиевых каналов глибенкламидом полностью нивелировала протективное действие дистантного прекондиционирования и никорандила при коронарооккклюзивном инфаркте миокарда.

Литература

1. Покровский, М.В. Эндотелиопротективное действие дистантного ишемического прекондиционирования / М.В. Покровский, О.А. Старосельцева, С.А. Алехин и др. // Научные ведомости БелГУ. – 2012. – Вып. 17/2, № 22(117). – С. 238-242.
2. Полторак, В.В. Блокада $K_{АТФ}$ каналов препаратами сульфонилмочевины и кардиоваскулярная безопасность у больных сахарным диабетом 2-го типа / В.В. Полторак, Н.И. Горбенко, М.Ю. Горбушинская // Украинський медицинский журнал. – 2002. – Т. 32, № 6. – С. 65-68.
3. Abdallah, Y. Preconditioning with diazoxide prevents reoxygenation-induced rigor-type hypercontracture / Y. Abdallah ,C. Wolf , K. Meuter et al. // J. Mol. Cell Cardiol. – 2010. – Vol. 48 (I). – P. 270-276.
4. Hirose, M. Mechanisms of preventive effect of nicorandil on ischaemia-induced ventricular tachyarrhythmiain isolated arterially perfused canine left ventricular wedges / M. Hirose, M. Hirose, N. Tsujino, T. Nakada et al // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. – 2008. – Vol. 102, № 6. – P. 504-514.
5. Holzmann, S. Cyclic GM Pas possible mediator of coronary arterial relaxation by nicorandil (SG-75) / S. Holzmann // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 1983. – Vol. 5, № 3. – P. 364-370.
6. Holzmann, S. Pharmacological interaction experiments differentiate between glibenclamide-sensitive K+ channels and cyclic GMP as components of vasodilation by nicorandil / S. Holzmann, W.R. Kukovetz, C. Braida et al. // Eur.J. Pharmacol. – 2002. – Vol. 215, № 1. – P. 1-7.
7. Kukovetz, W.R. Dual mechanism of the relaxing effect of nicorandil by stimulation of cyclic GMP formation and by hyperpolarization / W.R .Kukovetz, S.C. Holzmann,. Braida. et al // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2001. – Vol. 17, № 4. – P. 627-633.

8. Kukovetz, W.R., Molecular mechanism of action of nicorandil / W.R. Kukovetz, S. Holzmann., G. Poch // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2004. – Vol. 20, Suppl. 3. – P. 1-7.

9. Ozcan, C. Effective pharmacotherapy against oxidative injury: alternative utility of an ATP-sensitive potassium channel opener / C. Ozcan, A. Terzic, M. Bienengraeber // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2007. – Vol. 50, № 4. – P. 411-418.

10. Taira, N. Nicorandil as a hybrid between nitrates and potassium channel activators / N. Taira // Cardiol. – 1989. – Vol. 63, № 21. – P. 18-24.

11. Ueda, H. Intravenous nicorandil can reduce the occurrence of ventricular fibrillation and QT dispersion in patients with successful coronary angioplasty in acute myocardial infarction / H. Ueda, Y. Nakayama, K. Tsumura et al. // Can. J. Cardiol. – 2004. – Vol. 20, № 6. – P. 625-629.

ANTIANGINAL EFFICIENCY OF NICORANDIL –MODULATOR OF POTASSIUM CHANNELS ON A MODEL OF CORONAROOCCLUSION MYOCARDIAL INFARCTION IN RABBITS

L.M. DANILENKO
M.V. POKROVSKIY
O.O. NOVIKOV
K.A. BELYAEV
A.V. HAVANSKY

Belgorod National Research University

e-mail: Danilenkolyudmila@mail.ru

The results of the study of anti-nicorandil efficiency is a new perspective of the drug potassium channel modulators. These results have established a pronounced effect of antiischemic nicorandil at a dose of 1.8 mg / kg per koronarooklution model of myocardial infarction in rabbits. In the myocardial ischemia nicorandil has cardioprotective effects due playback effects of ischemic preconditioning, opening of ATP-dependent potassium channels, it increases adaptation to intermittent myocardial ischemia, prevents the death of the subsequent miokardiotsitov koronarookklution.

Keywords: nicorandil, an ATP-dependent potassium channels, preconditioning.

УДК 616.36-005.8: 616-092.9

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ И СПОСОБЫ ИХ КОРРЕКЦИИ В УСЛОВИЯХ ОТРАВЛЕНИЯ ЭТАНОЛОМ И ВОЗДЕЙСТВИЯ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ

В.В. ДУДКА
А.И. КОНОПЛЯ
Т.В. ЧУЕВА

Курский государственный медицинский университет

e-mail: konoplya51@mail.ru

У экспериментальных животных в условиях отравления этанолом и воздействия постоянного магнитного поля установлены выраженные изменения функциональной активности гепатоцитов и нарушения метаболического статуса. Определена эффективность использования гепона, гипоксена и фосфоглива в коррекции нарушений метаболизма в условиях этанольной интоксикации и воздействия постоянного магнитного поля.

Ключевые слова: отравление этанолом, фармакокоррекция, гепон, гипоксен, фосфоглив.

Установлено, что такой гелиогеофизический фактор среды обитания, как геомагнитное поле аномальных характеристик (например, региона Курской магнитной аномалии), обладает биотропным эффектом: влияет как на здоровый организм, так и на патологически измененный [3, 5].

Повышение магнитного потока в среде обитания приводит к нарушению иммунометаболических процессов, что является причиной ранних заболеваний такими болезнями, как гипертония, аритмия, стенокардия, ишемическая болезнь сердца, щитовидная железа, глаукома, атеросклероз головного мозга, токсическое поражение печени, пародонтоз, мастопатия и др. [4, 6, 8].

Исследования последних лет показывают недостаточную эффективность фармакологических средств для лечения заболеваний, связанных с нарушением иммунного статуса и метаболических процессов. Исходя из этого представления, серьезной задачей, особенно для регионов, в число которых входит Курская магнитная аномалия, является поиск фармакологических средств и способов коррекции нарушений функции паренхиматозных и лимфоидных органов [5, 6].

При этом нельзя забывать, что алкоголизм – явление глобального характера, превосходящее по своей остроте и распространенности все остальные, связанные с употреблением наркотиков, вместе взятые. По данным ВОЗ, в мире насчитывается 120 млн больных с «синдромом алкогольной зависимости», а показатель распространенности заболевания – до 2%. Тем не менее, около 10% пьющих, в той или иной степени, страдают от болезней, связанных с употреблением спиртного. И хотя эта доля в процентном отношении может показаться незначительной, общее число людей, охваченных этим явлением, весьма велико, в том числе и в районах с повышенным геомагнитным фоном [5, 6, 10, 12].

Цель исследования – изучение метаболической активности гепона, гипоксена и фосфоглива у животных, подвергнутых воздействию постоянного магнитного поля и отравлению этанолом.

Материалы и методы.

Эксперименты проводили на 92 здоровых половозрелых крысах линии Вистар, массой 180-200 г. В опытах использовали животных, прошедших карантинный режим вивария Курского государственного медицинского университета и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний. Все исследования проводили в одно и то же время суток, с 8 до 12 ч, с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986) и согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.).

Животным внутрижелудочно вводили этанол в течение 30 дней по 0,3 мл/100 г. Воздействие ПМП проводили в течение 30 дней в специально созданной установке, состоящей из высокостабилизированного источника постоянного тока и колец Гельмгольца с радиусом 1,5 м. Внутри колец создавалось ПМП с индукцией 3х10-4 Тл, вектор которого находился на суперпозиции с вертикальной составляющей вектора геомагнитного поля на территории г.Курска. Испытуемые лабораторные животные помещались в центр установки, где

неоднородность поля не превышала 30%. Введение препаратов начинали с первого дня отравления этанолом. Животных выводили из опыта через 30 дней, исследованию подвергали плазму крови.

Величины всех перечисленных показателей определяли унифицированными методами с использованием стандартных наборов реактивов [7]. Для определения повреждения печени индикаторами синдрома цитолиза являлась активность аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ); синдрома холестаза – активность щелочной фосфатазы (ЩФ), γ-глутамилтранспептидазы (ГГТ) и концентрация билирубина; иммуновоспалительного синдрома – тимоловая проба; нарушения синтетической функции гепатоцитов – концентрация фибриногена [10, 12]. Выраженность перекисного окисления липидов оценивали по содержанию ацилгидроперекисей (АГП) и малонового диальдегида (МДА), кроме этого, в сыворотке крови определяли активность каталазы [1, 2, 7, 11].

Исследовали влияние на метаболический статус следующих фармакологических препаратов: гепон («Иммафарма», Россия; 0,1 мг/кг внутрь), гипоксен («Олифен», Россия; 14,0 мг/кг внутрь) и фосфоглив («Фармстандарт», Россия; 2 мг/кг по глицирризиновой кислоте внутрь). Препараты вводились 1 раз в сутки в течение 14 дней.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя параметрические и непараметрические методы [9].

Результаты.

После 30-дневного поступления этанола у экспериментальных животных повышается активность АЛТ, ГГТП, снижается концентрация билирубина и фибриногена. Кроме этого, у животных при поступлении этанола наблюдается повышение значения ПТИ (см. табл.).

Таблица

Метаболический статус при введении этанола, гепона, гипоксена и фосфоглива у животных в условиях воздействия постоянного магнитного поля (M±m)

Показатели	*Единицы измерения*	*1*	*2*	*3*	*4*
		Контроль	*Этанол*	*ПМП + этанол*	*ПМП + этанол гепон + гипоксен + фосфоглив*
АЛТ	Е/л	20,1±2,38	41,1±6,49^{*1}	67,83±5,15^{*1,2}	26,2±2,89^{*1-3}
ЩФ	Е/л	249,2±18,8	219,17±26,1	322,8±23,3^{*1,2}	324,6±76,1^{*1,2}
ГГТП	Е/л	4,8±0,22	7,63±1,01^{*1}	19,17±1,53^{*1,2}	7,72±1,2^{*1,3}
Билирубин	мкмоль/л	5,74±1,18	8,03±1,09^{*1}	10,4±0,48^{*1,2}	8,62±1,9^{*1,3}
ПТИ	%	60,1±1,63	72,5±0,96^{*1}	69,1±2,25^{*1,2}	53,0±7,27^{*2,3}
Фибриноген	г/л	3,12±0,09	2,34±0,25^{*1}	2,01±0,08^{*1,2}	3,04±0,12^{*2,3}
МДА	мкмоль/л	2,15±0,32	2,37±0,18	4,67±0,2^{*1,2}	2,33±0,4^{*3}
АГП	усл. ед.	0,21±0,05	0,48±0,04^{*1}	0,82±0,04^{*1,2}	0,45±0,09^{*1,3}
ОАА	%	40,33±1,12	41,1±0,65	33,43±1,12^{*1,2}	43,4±5,39^{*3}
СОД	усл. ед./мл	9,03±0,51	8,16±0,41^{*1}	6,13±0,27^{*1,2}	10,6±0,95^{*2,3}
Каталаза	мкат/л	11,31±0,62	13,45±0,59^{*1}	7,12±0,25^{*1,2}	12,3±1,14^{*3}
CM_{NO}	мкмоль/л	6,84±0,29	3,19±0,16^{*1}	4,25±0,33^{*1,2}	4,42±0,34^{*1,2}

Примечание: * – достоверные отличия (p<0,05); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы даны эти различия.

Следовательно, у животных, после отравления этанолом выявлено развитие токсического поражения печени, о чем свидетельствуют синдромы поражения печени: цитолиз, холестаз, угнетение синтетической функции (см. табл.).

После совместного воздействия этанола и ПМП эти синдромы еще более выражены (табл.).

Одновременно в сыворотке крови экспериментальных животных, получавших этанол, повышается концентрация ацилгидроперекисей, активность каталазы, снижается активность СОД и уровень стабильных метаболитов оксида азота. При совместном воздействии этанола и ПМП эти показатели изменяются еще больше, кроме того, возрастает уровень МДА (см. табл.).

Все это свидетельствует о необходимости раннего начала проведения корригирующей фармакотерапии нарушений функциональной активности гепатоцитов и антиоксидантного статуса в условиях воздействия этанолом, а тем более в условиях постоянного нахождения в ПМП (табл.).

Токсическое поражение органов и тканей при многих заболеваниях характеризуется однотипными структурно-функциональными нарушениями, важнейшими следствиями которых являются: усиление генерации активных метаболитов кислорода; снижение

энергетического и окислительного потенциала клеток; повышение активности перекисного окисления липидов. Все это приводит к нарушению структурно-функциональных свойств мембран эритроцитов, играющих важную роль в регулировании иммунологических процессов в организме. В сложный каскад этих процессов вовлечены эритроциты, макрофаги, гепатоциты и выделяющиеся цитокины [5, 6].

Этанол является одновременно источником энергии и сильным фармакологическим агентом. Его чрезмерное поступление в организм нарушает функционирование систем, поддерживающих иммунный и метаболический гомеостаз, характер и степень выраженности которых в настоящий момент до конца не изучены [6, 8].

Эффективность препаратов, влияющих на обменные процессы в клетках организма, зависит от состояния клеточных мембран, в фосфолипидный слой которых интегрированы ферменты, определяющие энергетический потенциал клеток. Естественно было предположить, что повысить выраженность эффектов, вызываемых регуляторами обмена, можно введением фосфолипидов, восстанавливающих структуру мембран, нарушенную введением токсических соединений, в связи с чем нами использовался фосфоглив. С целью воздействия на метаболический статус как гепатоцитов, так и клеток крови нами применялся антигипоксант – гипоксен, а для воздействия на иммунный статус – иммуномодулятор гепон.

На фоне приема комплекса препаратов «гепон + гипоксен + фосфоглив» через 30 суток после хронического отравлении ЧХУ и 30-дневного воздействия ПМП в плазме крови полностью нормализуется ПТИ, уровень фибриногена, МДА, ОАА, активность СОД и снижается, но не до уровня нормы, активность АЛТ, ГГТП, уровень билирубина и АГП (табл.).

Выводы.

Таким образом, применение в условиях токсического поражения печени этанолом и действия магнитного поля комплекса препаратов «гепон + гипоксен + фосфоглив» эффективно корригирует нарушенные показатели функциональной активности гепатоцитов и снижает выраженность оксидантных нарушений.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в основе возникновения любых форм нарушений гомеостаза лежит взаимосвязанное воздействие этанольной интоксикации и ПМП [6]. Протекторный эффект в этих условиях вызывают соединения, корригирующие активность этих процессов [4, 5]. Эффективность иммуномодулирующего действия антигипоксантов в значительной степени определяется состоянием цитоплазматической и внутренних мембран клеток. В условиях стресса и патологии возникает существенное нарушение структуры мембран, обусловленное усилением процессов перекисного окисления их фосфолипидной матрицы. Есть основания предполагать, что эффективность действия антигипоксантов может быть повышена стабилизаторами клеточных мембран, обладающих мембранопротективными свойствами.

Литература

1. Бенисевич, В.И, Образование перекисей непредельных жирных кислот в оболочке эритроцитов при болезни Маркиафава-Микели / В.И. Бенисевич, Л.И. Идельсон // Вопр. мед. химии. – 1973. – Т. 19, Вып. 6. – С. 596-599.

2. Гаврилов, В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперикисей липидов в плазме крови / В.Б. Гаврилов, М.И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1983. – №3. – С. 33–36.

3. Григорьев, Ю.Г. Риск отдаленной неопухолевой патологии при хроническом воздействии ионизирующей и неионизирующей радиации применительно к гигиеническому нормированию / Ю.Г. Григорьев, А.В. Шафиркин, В.Н. Никитина // Электромагнитные поля и здоровье человека. – М. : РУДН, 2004. – С. 141-161.

4. Караулов, А.В. Биологическая активность гликозидных производных N-ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглутамина / А.В. Караулов, О.В. Калюжин, А.Е. Земляков // Российский биотерапевтический журнал. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 14-24.

5. Конопля, А.И. Структурно-функциональные свойства эритроцитов в норме и при патологии / А.И. Конопля, Л.Г. Прокопенко, С.А. Долгарева и др. – Курск : КГМУ, 2011. – 192 с.

6. Кузмицкая, О.Н. Функциональная активность гепатоцитов и антиоксидантного статуса, их фармакологическая коррекция в условиях токсического поражения печени и воздействия постоянного магнитного поля / О.Н. Кузмицкая, Т.В. Чуева, В.Т. Дудка и др. // Человек и его здоровье : Курский науч.-практ. вестн. – Курск, 2010. – № 4. – С. 5-8.

7. Кушманова, О.Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии / О.Д. Кушманова, Е.М. Ивченко. – М. : Медицина, 1983. – С. 98-99.

8. Лазаренко, В.А. Коррекция иммунометаболических нарушений у больных с критической ишемией нижних конечностей атеросклеротического генеза / В.А. Лазаренко, С.Б. Николаев, Н.А. Быстрова, А.И. Конопля // Человек и его здоровье : Курский науч.-практ. вестн. – 2010. – №2. – С. 77-83.

9. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М .: Высш. шк., 1980. – 243 с.

10. Подымова, С.Д. Болезни печени :руководство для врачей / С.Д. Подымова. – М. : Медицина, 1998. – 704 с.
11. Стальная, Н.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Н.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвилли // Современные методы в биохимии. – М., 1977. – С. 66-68.
12. Титов, В.Н. Патофизиологические основы лабораторной диагностики заболеваний печени / В.Н. Титов // Клинич. и лаб. диагностика. – 1996. – №1. – С. 3-9.

METABOLIC DISTURBANCES AND WAYS OF THEIR CORRECTION IN THE CONDITIONS OF THE POISONING WITH ETHANOL AND INFLUENCES OF THE CONSTANT MAGNETIC FIELD

V.V. DUDKA
A.I. KONOPLYA
T.V. CHUEVA

Kursk State Medical University

e-mail: konoplya51@mail.ru

At experimental animals in the conditions of a poisoning with ethanol and influences of a constant magnetic field the expressed changes of functional activity of hepatocytes and disturbance of the metabolic status are established. Efficiency of use of gepon, hypoxen and phosphogliv in correction of disturbances of metabolismin in the conditions of poisoning with ethanol and influence of a constant magnetic field is defined.

Keywords: a poisoning with ethanol, pharmacological correction, gepon, hypoxen, phosphogliv.

УДК 614.7:343.426

ОЦЕНКА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МЕМБРАН ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПОЛИОЛОВ

В.И. ЕВДОКИМОВ
В.А. ТЕЛЕГИН

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: evdokimov@bsu.edu.ru

Обосновано применение методов люминесцентного анализа для оценки структурно-функционального состояния биологических мембран и определения пороговых и максимально недействующих доз в санитарно-токсикологических экспериментах.

Ключевые слова: люминесцентный анализ, биологические мембраны, санитарно-токсикологические исследования.

Состояние мембранных систем клеток различных органов и тканей во многом определяет внутриклеточный метаболизм. Нарушение структур биологических мембран, изменение их состава и физико-химических свойств лежат в основе разнообразных патологических процессов – воспалительных, аллергических, иммунных и др.

В настоящее время показана роль мембранных нарушений в патогенезе состояний, связанных с взаимодействием организма с полиолами. Мембранная патология может быть следствием нарушения процессов свободнорадикального окисления [1].

Среди многих методов исследования, которыми располагает современная наука, видное место принадлежит люминесцентному анализу. Этот метод обладает высокой чувствительностью, информативностью и надежностью. Он дает уникальные возможности изучения возбужденных состояний молекул, фотохимических реакций, динамики быстрых молекулярных процессов, структуры и свойств сложных химических и биологических систем. В практике таких специальностей, как фармакология, токсикология, судебная медицина, лабораторное дело, метод нашел широкое применение [2]. Под люминесценцией понимают свечение, не связанное с тепловым испусканием лучей. В зависимости от источников энергии для свечения физических тел или биологических материалов различают хеми-, электро- или фотолюминесценции. Собственно люминесцирующие тела и субстраты бывают хеми-, электро- или фотолюминофорами [2].

Данные экспериментальных и клинических наблюдений свидетельствуют о больших перспективах люминесцентного анализа в диагностике различных заболеваний и обосновании структурно-метаболических механизмов их формирования.

Являясь высокочувствительными и информативными, методы люминесцентного анализа могут адекватно отражать структурно-функциональное состояние биологических мембран и нарушение гомеостатической функции организма в условиях воздействия на организм вредных антропогенных факторов.

Большое развитие в нашей стране и за рубежом получил метод анализа хемилюминесценции биологических систем (или метод био-хемилюминесценции – БХЛ), таких как органы, ткани, сыворотка и плазма крови. БХЛ плазмы крови в присутствии двухвалентного железа дает возможность уточнить степень мозговой гипоксии на фоне неспецифических заболеваний легких. БХЛ оказалась хорошим тестом на жизнеспособность пересаживаемых и консервируемых органов (почка, роговица и др.) и способом ранней диагностики криза отторжения пересаженного органа [3].

БХЛ нашла широкое применение для оценки состояния свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов, происходящих в сложных биологических системах.

Целью настоящей работы было обоснование применения люминесцентного анализа для оценки структурно-функционального состояния мембран и определения пороговых и максимально недействующих доз в санитарно-токсикологических экспериментах.

Материалы и методы. Исследовали интенсивность сверхслабого свечения гомогенатов внутренних органов, сыворотки и цельной крови у крыс Вистар, подвергавшихся пероральному воздействию в подостром опыте полиоксипропиленполиолами марок Л-294, Л-564, ПГ-100, на хемилюминометре ХЛМЦ1-01. Определяли спонтанную и индуцированную люминолзависимую БХЛ. В качестве индуцентов использовали перекись водорода и хлорное железо [4]. В кварцевую кювету размером 10 х 10 х 45 мм вводили 1,2 мл изотонического раствора натрия хлорида, 10 мкл сыворотки (4 или 10 мкл гомогенатов внутренних органов), 10 мкл 3%-ного раствора люминола и записывали фон сверхслабого свечения (2 измерения каждого

свечения в течение 10 с). После этого в кварцевую кювету для оценки состояния индуцированной БХЛ вносили 3%-ную перекись водорода в количестве 0,05 мл (или хлорное железо в объеме 0,05 мл) и выполняли 6 измерений (каждое в течение 10 с).

Фотолюминесценцию сыворотки крови оценивали по интенсивности фосфоресценции. Для этого исследуемые образцы облучали ультрафиолетовыми лучами. После прекращения действия возбуждающего света регистрировали фосфоресценцию (так как испускание квантов свечения во время облучения светом представляет собой флуоресценцию) [5]. Фосфоресцентный метод не получил такого широкого применения, как биохемилюминесцентный и флуоресцентный. Это связано, во-первых, с тем, что подавляющая часть физических тел и биологических субстратов слабо фосфоресцирует. Во-вторых, в отличие от флуоресценции, наблюдение которой технически не представляет каких-либо трудностей, регистрация фосфоресценции требует специальной измерительной аппаратуры, основу которой составляет фосфороскоп, обеспечивающий разделение во времени процессов облучения образца возбуждающим светом и регистрации его фосфоресценции. Одной из трудностей является обеспечение абсолютной светозащиты фотоприемника от дифракции возбуждающего света. В описанных в литературе приборах данная проблема решена неудовлетворительно, и по этой причине им присуща низкая чувствительность.

Флуоресценция наблюдается преимущественно в жидких и газообразных средах, тогда как фосфоресценция доминирует в твердых средах. Для наблюдения флуоресценции и фосфоресценции необходимо, чтобы изучаемый образец был прозрачным для возбуждающего света. В то же время применительно к фосфоресценции подавляющая часть твердых тел непрозрачна. Это обстоятельство, естественно, усложняет наблюдение фосфоресценции таких образцов и не способствует широкому применению фосфоресцентного метода. В связи с этим был разработан люминометр [5], в котором успешно решены проблемы обеспечения абсолютной светозащиты фотоэлектронного умножителя (ФЭУ) и регистрации фосфоресценции непрозрачных образцов

Фосфоресценцию определяли следующим образом: на кварцевую пластину размером 5 × 5 мм наносили 50 мкл сыворотки. При температуре 30°С нанесенные капли высушивали в термостате в течение 20 мин. для образования твердой пленки. Пластину с высушенной сывороткой помещали в фосфороскоп и измеряли ее фосфоресценцию. Источником возбуждающего света служила ртутная лампа ДРК-120. С помощью монохроматора ДМР-4 выделяли следующие линии возбуждения: 297, 313, 334, 365, 404, 434 нм. Ширина выходной щели монохроматора составляла 2 мм. Область спектральной чувствительности ФЭУ=300-830 нм. Регистрацию фосфоресценции проводили при комнатной температуре в режиме счета фотонов. В качестве измерительной системы служил счетчик СБС-2. Все процессы измерения были автоматизированы, погрешность не превышала 3%.

В последние годы для изучения физических свойств липопротеинов и биомембран используются разнообразные флуоресцирующие соединения, так называемые флуоресцентные метки и зонды. Они позволяют количественно характеризовать такие физические свойства мембран, как поверхностный заряд, трансмембранный потенциал, микровязкость, расстояние между белками и липидами, концентрацию воды, изменение конформации белков и т.д. Использование новых зондов позволило разработать новые методы диагностики многих иммунных заболеваний, включая аллергические состояния, токсикозы, атеросклероз. Качества этих методов, основанных на оценке физических свойств мембран лимфоцитов, эритроцитов и белков плазмы крови, обеспечивают их распространение в клинической практике [2].

О текучести плазматических мембран лимфоцитов и эритроцитов судили по коэффициенту эксимеризации пирена. Он представляет собой отношение количества эксимеров пирена по длине волны испускания $\lambda_{исп}$ =470 нм к количеству его мономеров при длине волны $\lambda_{исп}$ =393 нм. Коэффициент эксимеризации пирена изучали в зоне белок-липидных контактов ($\lambda_{возб}$ =287 нм) и в липидном бислое ($\lambda_{возб}$ =334).

Интенсивность флуоресценции 1-анилино-8-нафталинсульфата (1,8-АНС), изменяющуюся обратно пропорционально поверхностному заряду мембраны лимфоцита, исследовали по методу Ю.А. Владимирова и Е.Г. Добрецова [2]. Флуоресценцию отдельной клетки изучали с помощью микроскопа ЛЮМАМ-И3, $\lambda_{возб}$ =360 нм, $\lambda_{исп}$ =490 нм. Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием критерия Стьюдента-Фишера.

Результаты и их обсуждение. Состояние свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по величине светосуммы и интенсивности сверхслабого свечения H_2O_2 или $FeCl_3$-индуцированной люминолзависимой БХЛ. Согласно данным литературы интенсивность БХЛ в системе индуцированной H_2O_2 отражает образование наиболее реакционно-способных радикалов (ОН-гидроксильный радикал, O_2-супероксидный анион кислорода), с которыми взаимодействуют биологические субстраты [6]. Они инициируют

цепной процесс ПОЛ, протекающий в биомембранах и липопротеинах крови [7]. По мнению многих авторов, накопление активных форм кислорода, перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов потенцирует развитие свободнорадикальной патологии и усиливает скорость старения организма [3, 8]. Результаты исследований свидетельствуют о повышении спонтанной (СХЛ) и индуцированной (ИХЛ) хемилюминесценции сыворотки крови, цельной крови, гомогенатов внутренних органов и тканей экспериментальных животных, подвергавшихся пероральному воздействию 1/10, 1/100, 1/1000 и 1/10000 $ДЛ_{50}$ в условиях подострого опыта. Наиболее существенные различия между интенсивностью свечения сравниваемых групп наблюдали в условиях оценки люминолзависимой БХЛ (табл. 1). Анализ полученных данных свидетельствует, что субтоксическое воздействие изучаемых полиоксипропиленполиолов марок Л-294, Л-564, ПГ-100 во всех дозах, кроме 1/10000 $ДЛ_{50}$, индуцирует свободнорадикальные процессы и ПОЛ, которые сопровождаются генерацией активных форм кислорода и накоплением в организме гидроперекисей, свободных радикалов, способных привести к ингибированию антиоксидантной системы (АОС) и развитию патологических структурно-метаболических состояний. Повышение уровней люминолзависимой хемилюминесценции, индуцированной H_2O_2 и $FeCl_3$, подтверждает цепной свободнорадикальный характер происходящих изменений в биологических системах, которые впоследствии активируют ПОЛ. Исследования свидетельствуют, что в условиях интоксикации полиоксипропиленполиолами образуется супероксидный анион кислорода (O_2) и гидроксильный радикал (OH). Первый из них содержит два неспаренных электрона, возникающих, как правило, в результате разрыва валентной связи. В отсутствие освещения концентрация неспаренных электронов в образце незначительна. В условиях химической индукции или при освещении количество их существенно возрастает. Повышение продукции супероксидного аниона кислорода под влиянием испытуемых соединений свидетельствует о наличии высоких уровней, триплетного в частности, возбужденных электронных состояний.

Таблица 1

Влияние полиоксипропиленполиолов в дозе 1/1000 $ДЛ_{50}$ в подостром опыте на интенсивность хемилюминесценции (ХЛ) сыворотки крови и гомогенатов органов крыс

Полиокси-пропилен-полиол	*Интенсивность ХЛ, (M±m) имп/с*				
	спонтанный	*H_2O_2-инду-цированной*	*$FeCl_3$-инду-цированной*	*люминолзависимой*	
				H_2O_2-инду-цированной	*$FeCl_3$-инду-цированной*
Сыворотка крови					
Контроль	124,5±7,3	130,4±15,6	655,7±12,4	1785,6±28,2	1620,3±24,5
Л-564	265,8±12,4*	1435,3±20,6*	1210,4±16,7*	3726,5±40,8*	3654,7±53,2*
Л-294	230,8±8,5*	1580,6±32,4*	1452,6±20,8*	4205,3±50,6	3962,8±47,6
ПГ-100	254,3±17,6*	1625,7±28,2*	1580,3±31,4*	4365,4±49,6*	4150,3±48,4*
Гомогенат печени					
Контроль	140,6±8,2	810,4±12,3	795,6±15,4	1825,3±17,8	1750,8±21,6
Л-564	265,4±12,8*	1562,3±17,4*	1497,3±15,6*	3920,5±23,8*	3805,4±70,7*
Л-294	380,4±13,3*	1498,3±22,6*	1480,2±19,8*	3865,7±18,9*	3825,2±30,3*
ПГ-100	295,7±11,4*	1503,2±16,5*	1510,4±23,7*	3910,4±23,2*	3850,4±27,3*
Гомогенат почек					
Контроль	150,3±7,2	860,7±11,5	810,6±10,3	4870,8±22,3	1760,5±30,2
Л-564	288,9±12,5*	1570,3±21,6*	1470,2±17,3*	4905,3±60,8*	3986,7±53,4*
Л-294	310,5±17,8*	1580,2±26,3*	1495,1±13,8*	4545,7±56,2*	4050,2±478,3*
ПГ-100	305,2±20,4*	1575,4±18,3*	1506,3±20,7	4236,8±65,4*	4140,3±57,6

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с контролем.

Система энергетических уровней триплетного состояния в белках подтверждалась нами результатами изучения фосфоресценции сыворотки крови опытных и контрольных животных, а многими авторами – методом электронно-парамагнитного резонанса (ЭПР) [6, 7]. Эти результаты свидетельствуют, что исчезновение сигнала ЭПР соответствует исчезновению триплетного состояния, в чем можно убедиться, сравнив кривую затухания ЭПР-поглощения с кривой фосфоресценции триплетного состояния. Ход обеих кривых после выключения света (источника возбуждения) одинаков [6, 7]. Наличие высоких уровней триплетных возбужденных состояний, обусловленных неспаренными электронами, может свидетельствовать об изменении конформации белковых молекул, присутствующих в сыворотке крови. Это связано, по-видимому, с окислительной модификацией белков, свободнорадикальными процессами и активацией ПОЛ, возникающими под влиянием воздействия полиолов.

При изучении фосфоресценции сыворотки крови животных, подвергавшихся воздействию полиоскипропиленполиолов в дозах 1/10; 1/100; 1/1000 $ДЛ_{50}$, обнаружены существенные различия в интенсивности свечения при длинах волны возбуждения анализируемых объектов 297, 313, 334, 365, 404 и 434 нм. Особенно значимым было повышение уровня фосфоресценции в длинноволновой (λ=297 и 313 нм) области возбуждения (табл. 2). Результаты эксперимента показывают, что при субхроническом воздействии на организм полиолов происходит увеличение накопления в биосистемах числа молекул, находящихся в триплетном возбужденном состоянии, то есть имеющих два неспаренных электрона. Эти молекулы более живучи и лишь по истечении сравнительно большого отрезка времени (10^{-4}-10^{-2} с) излучают свет и переходят на низкий, невозбужденный синглетный уровень [6, 7]. Появление в длинноволновой области возбуждения повышенного количества молекул в триплетном состоянии может, по всей видимости, свидетельствовать о разобщении окислительного фосфорилирования и тканевого дыхания, которое сопровождается увеличением рассеивания тепла в организме экспериментальных животных под воздействием полиоксипропиленпо-лиолов. Вещества в дозе 1/10000 $ДЛ_{50}$ не влияли на показатели фосфоресценции сыворотки крови опытных животных под воздействием 1/1000 $ДЛ_{50}$ полиоксипропиленполиолов.

Результаты исследований свидетельствуют об интенсификации под влиянием полиоксипропиленполиолов окислительных процессов, приводящих к развитию дистрофических и деструктивных нарушений клеточных и внутриклеточных структурно-функциональных единиц.

Таблица 2

Активность фосфоресценции сыворотки крови крыс под воздействием 1/1000 $ДЛ_{50}$ полиоксипропиленполиолов

Спектр возбуждения, нм	*I°, (M±m) имп/мин*			
	контроль	*Л-564*	*Л-294*	*ПГ-100*
297	4250,3±69,8	4448,2±50,6*	4490,3±61,3*	4387,4±70,8*
313	3254,3±28,5	3582,6±30,7*	3860,4±41,6*	3657,2±50,7*
334	620,6±21,4	780,3±16,5*	810,3±22,4*	830,5±26,2*
365	1895,4±40,3	2105,8±30,4*	2010,7±33,1*	2260,8±27,4*
404	460,3±18,2	595,3±14,5*	623,8±17,6*	690,4±19,6*
434	610,4±15,6	780,5±17,3*	825,6±22,4*	840,5±16,3*

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с контролем.

Исследование структурно-функционального состояния мембран клеток крови показало значительное снижение текучести (коэффициента эксимеризации пирена $\lambda_{исп}$-470 нм/ $\lambda_{исп}$-393 нм) плазматических мембран лимфоцитов и эритроцитов крови в зонах белок-липидных контактов и липидном бислое по сравнению с таковой у контрольных животных (табл. 3). Интенсивность флуоресценции 1,8-АНС, отражающая изменения поверхностного заряда плазматических мембран, также была снижена, что может свидетельствовать об их гиперполяризации. Нарушений структурно-функциональных и физико-химических свойств мембран при воздействии на организм 1/10000 $ДЛ_{50}$ не наблюдали.

Таблица 3

Текучесть плазматических мембран лимфоцитов и эритроцитов крыс под воздействием 1/100 $ДЛ_{50}$ полиоксипропиленполиолов в подостром опыте

Плазматическая мембрана	*Текучесть мембран (M±m)*			
	контроль	*Л-564*	*Л-294*	*ПГ-100*
Лимфоциты				
белок-липидные контакты	3,820±0,073	1,42±0,06*	1,390±0,076*	1,480±0,054*
липидный бислой	3,700±0,064	1,73±0,03*	1,82±0,04*	1,860±0,025*
Эритроциты				
белок-липидные контакты	2,830±0,035	1,48±0,28*	1,520±0,033*	1,560±0,018*
липидный бислой	2,940±0,042	1,56±0,04*	1,63±0,07*	1,60±0,05*

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с контролем.

Выводы:

1. Полиолы (в частности полиоксипропиленполиолы) при пероральном пути поступления в дозах 1/10; 1/100; 1/1000 $ДЛ_{50}$ стимулируют свободнорадикальные процессы и перекисное окисление липидов, приводящие в условиях подострого опыта к глубоким

изменениям физико-химических свойств мембран и структурно-метаболических процессов, лежащих в основе нарушения ядерно-цитоплазматических взаимодействий и формирования основных симптомов мембранной патологии.

2. Методы люминесцентного и флуоресцентного анализа высокочувствительны и информативны при оценке структурно-функционального состояния мембран и определения пороговых и максимально недействующих доз в санитарно-токсикологических экспериментах.

Литература

1. Жуков, В.И. Детергенты – модуляторы радиомиметических эффектов / В.И. Жуков, В.В. Мясоедов, Ю.И. Козин и др. – Белгород : Полимерсинтез, 2000. – 375 с.

2. Владимиров, Ю.А. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран / Ю.А. Владимиров, Е.Г. Добрецов. – М. : Наука, 1980. – 320 с.

3. Цыганенко, А.Я. Структурно-метаболические механизмы формирования атеросклероза / А.Я. Цыганенко, В.И. Жуков, И.А. Григорова и др. – Белгород : Полимерсинтез, 2001. – 601 с.

4. Жуков, В.И. Использование биохемилюминесценции и фосфоресценции при изучении влияния химических факторов производственной среды на организм / В.И. Жуков, О.В. Зайцева, В.М. Абашин и др. // Тез. докл. 1-й Республ. конф. «Новые методы в медицине». – Ворошиловград, 1990. – С. 51-53.

5. Пат. 2031400 РФ. Устройство для регистрации при комнатной температуре люминесценции биологических мембран. В.М. Абашин, Н.Г. Сергиенко, В.И. Жуков, 1995. Бюл. № 8.

6. Владимиров, Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. – М. : Наука, 1972. – 320 с.

7. Барабой, В.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и при патологии / В.А. Барабой, Д.А. Сутковой. – К., 1997. – Ч. I. – 200 с.; Ч. II. – 220 с.

8. Цыганенко, А.Я. Структурно-метаболические механизмы формирования нарушений клеточного и гуморального иммунитета под воздействием детергентов в связи с проблемой охраны водных экосистем /А.Я. Цыганенко, В.И. Жуков, Г.Н. Щербань и др. – Харьков, 2001. – 414 с.

INVESTIGATIONS OF STRUCTURAL-FUNCTIONAL STATE OF BIOLOGICAL MEMBRANES OF UNDER POLYOLS INFLUENCE

V.I. EVDOKIMOV
V.A. TELEGIN

Belgorod National Research University

e-mail: evdokimov@bsu.edu.ru

The effectiveness of methods of the luminescent analysis for an assessment of a structurally functional condition of biological membranes and definitions threshold and at the most invalid dozes in sanitary-toxicological experiments is proved.

Keywords: luminescent analysis, biological membrane, toxicological investigation.

УДК 612.179

ИЗУЧЕНИЕ СПОСОБОВ КАРДИОПРОТЕКЦИИ НА ИЗОЛИРОВАННОМ ПО ЛАНГЕНДОРФУ СЕРДЦЕ КРЫС

А.Н. КАПЛИН [1]
О.Н. КУЗМИЦКАЯ [1]
А.А. ШАПОШНИКОВ [2]
А.П. ГРИГОРЕНКО [2]

[1] Курский государственный медицинский университет

[2] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: drkaplin@rambler.ru

На сегодняшний день сердечно-сосудистые заболевания занимают ведущее место в структуре смертности и инвалидизации. Современные методы фармакологической коррекции не всегда являются эффективными способами борьбы с поражением миокарда. В данной экспериментальной работе впервые было изучено влияние субэритропоэтических доз рекомбинантного эритропоэтина на площадь повреждения миокарда. Применение фармакологического прекондиционирования эритропоэтином позволило добиться снижения площади повреждения более чем в 4 раза.

Ключевые слова: постреанимационный синдром, реперфузионное повреждение, фармакологическое прекондиционирование, эритропоэтин.

Введение. На сегодняшний день сердечно-сосудистые заболевания занимают ведущее место в структуре смертности и инвалидизации среди трудоспособного населения. Современные методы фармакологической коррекции не всегда являются эффективными способами борьбы с ишемическим и реперфузионным поражением миокарда. Поэтому проводятся поиски и исследования эндогенных механизмов кардиопротекции и фармакологических препаратов, способных к их активации.

Обнаружено, что устойчивость тканей к длительной ишемии может повышаться в результате ишемического прекондиционирования (ИП), вызванного короткими эпизодами ишемии – реперфузии до её наступления [7]. Было отмечено, что применение еще более коротких эпизодов ишемии – реперфузии после восстановления кровотока (ишемическое посткондиционирование) также обладает кардиопротективными свойствами [11]. Естественным механизмом реализации данных феноменов являются нейрогенный, гуморальный и внутриклеточный компоненты, связанные с проницаемостью митохондрий [2, 3, 6]. Последнее указывает на возможность применения фармакологических препаратов, способных воздействовать на данные «эндогенные мишени» для запуска и реализации феноменов ишемического прекондиционирования и посткондиционирования.

С точки зрения практического применения интересным является феномен фармакологического прекондиционирования, суть которого состоит в том, что введение фармакологического препарата в определенной дозе вызывает каскад эндогенных кардиопротективных механизмов [1].

Одним из фармакологических агентов цитопротекции является эритропоэтин (EPO). Хотя его традиционно рассматривают как гемопоэтический гормон, обнаружение рецепторов эритропоэтина за пределами кроветворной ткани (эндотелиальные клетки, нейроны, клетки трофобласта, кардиомиоциты) побудило к поиску негемопоэтических эффектов [4]. Экспериментальные исследования показали высокую эффективность кардипротекции экзогенного введения EPO [5, 8].

Материалы и методы. Опыты проводили на белых крысах линии Wistar массой 250±50г. в возрасте 3-4 месяца, содержащихся при 12-часовом световом дне на стандартном рационе с брикетированным кормом, при свободном доступе к воде и пище.

Экспериментальные животные были разделены на следующие группы:

1 – контрольная (n=10);

2 – с применением ишемического прекондиционирования (n=10);

3 – с применением ишемического посткондиционирования (n=10);

4 – с применением фармакологического прекондиционирования (n=10);

У крыс, находящихся под эфирным наркозом, вскрывали грудную клетку, извлекали сердце. Сердце после извлечения погружалось в ледяной гепаринизированный раствор Кребса-Хензелейта (КХ) В отверстие аорты вставляли канюлю и начинали пропускать через нее нагретый до 37-39 °С, аэрированный раствор КХ. Данный раствор по физико-химическим характеристикам близок к составу крови. Ток перфузируемой жидкости захлопывает полулунные клапаны, и питающий раствор устремляется по коронарным сосудам. Сердца стабилизировались в течение 20 минут до достижения систолического давления не менее 70 мм рт. ст. Первая

опытная группа включала животных, которых подвергли ишемии путем прекращения поступления питающего раствора на 40 минут. Во вторую группу входили животные, которым моделировали ишемическое прекондиционирование, состоящее из трех эпизодов, включающих 5 минут ишемии и последующей реперфузии в течение 5 минут. В конце третьего эпизода ишемии проводили тридцатиминутную реперфузию, после которой проводили тотальную ишемию в течение 40 минут. В третью опытную группу входили животные, которым по истечении 40 минутной тотальной ишемии моделировали ишемическое посткондиционирование, состоящее из трех эпизодов, включающих 5 секунд ишемии и 5 секунд последующей реперфузии. В конце третьего эпизода ишемии проводили тридцатиминутную реперфузию. В четвертую группу входили животные, которым после стабилизации производили перфузию сердца в течение 5 минут раствором Кребса-Хензелейта с добавление в него 0,45 мл препарата «ЭПОКРИН» в дозе 1000МЕ, что соответствует 450МЕ препарата в 1 литре перфузата. Далее следовала 30-минутная тотальная ишемия. После проведенных экспериментов во всех группах наблюдали за сокращением изолированного сердца в течение 2 часов.

По истечении данного времени готовили из каждого сердца макропрепараты в виде срезов толщиной 2 мм и помещали в раствор трифенил тетразолия хлорида (ТТХ) на 15 минут в термостат при температуре 37,5°С. Раствор ТТХ окрашивает живую ткань с сохраненной лактатдегидрогеназной активностью, а ишемизированную ткань с утраченной ферментной активностью не окрашивает. Окрашенные срезы фотографировали, затем обрабатывали с помощью программы Adobe Photoshop CS5. В программе проводился подсчет площади поврежденной ткани в отношении к общей площади ткани в процентах.

При статистической обработке данных рассчитывали среднее значение, величину стандартного отклонения. Различия считали достоверными при $p<0,05$.

Результаты. Результаты оценки отношения поврежденной ткани к общей её площади представлены в таблице.

Таблица

Показатели влияния ишемического прекондиционирования, ишемического посткондиционирования и фармакологического прекондиционирования препаратом «ЭПОКРИН» на площадь повреждения миокарда (M±m) (n=10)

№	*Группа*	*Площадь повреждения в пикселях/1000000*	*Площадь повреждения в %*
1	Ишемия	0,161626±0,014028	55,17%
2	Прекондиционирование	0,104954±0,040851	27,62%
3	Посткондиционирование	0,030598±0,007921	9,28%
4	Прекондиционирование+ЕРО	0,043804±0,009329	13,42%

После проведения морфометрических исследований у животных первой группы площадь поврежденной ткани составила 0,161626±0,014028 пикселей/1000000, что составляет 55,17% от общей площади исследуемой ткани.

Во второй группе на фоне моделирования феномена ишемического прекондиционирования показатель поврежденной ткани – 0,104954±0,040851 пикселей/1000000, т.е. 27,62% – что достоверно ниже показателя в первой группе.

В третьей группе показатели эффективности ишемического посткондиционирования составили – 0,030598±0,007921 пикселей/1000000 (9,28%). Результат значительно ниже, чем в группе ишемии.

В четвертой группе на фоне фармакологического прекондиционирования препаратом «ЭПОКРИН» результат достоверно близок к результату третьей группы – 0,043804±0,009329 пикселей/1000000 (13,42%), что свидетельствует об активировании эндогенных механизмов кардиопротекции.

Заключение. В данной экспериментальной работе впервые было изучено влияние субэритропоэтических доз рекомбинантного эритропоэтина на площадь повреждения миокарда в модели изолированного по Лангендорфу сердце крысы. Известно, что при моделировании ишемического повреждения на изолированном сердце патологическому воздействию подвергается более половины ткани сердца. Применение фармакологического прекондиционирования позволило добиться снижения площади повреждения более чем в 4 раза. Главенствующая роль в механизмах повреждающего действия отводится дисфункции кардиомиоцитов [9]. Механизмы действия прекондиционирования эритропоэтином сопряжены с активацией цитопротекторных сигнальных путей в миокарде (RISK-киназы), что в конечном итоге приводит к увеличению мощности систем транспорта и утилизации кислорода,

систем антиоксидантной защиты, уменьшению дисфункции кардиомиоцитов. Подтверждением этого является доказанное кардиопротективное действие эритропоэтина [10].

Литература

1. Bolli, R. Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade of research / R. Bolli // J Mol Cell Cardiol. – 2001. – Vol. 33. – P. 1897-1918.
2. Dave, K.R. Ischemic preconditioning targets the respiration of synaptic mitochondria via protein kinase C epsilon / K.R. Dave // Nat Rev Neurosci. – 2008. – Vol. 28. – P. 72-82.
3. Gidday, J.M. Cerebral preconditioning and ischaemic tolerance / J.M. Gidday // Nat Rev Neurosci. – 2006. – Vol. 7. – P. 437-448.
4. Henry, D.H. Epoetin alfaClinical evolution of a pleiotropic cytokine / D.H. Henry // Arch Intern Med. – 2004. – Vol. 164. – P. 262-276.
5. Lipsic, E. Timing of erythropoietin treatment for cardioprotection in ischemia/reperfusion / E. Lipsic // J Cardiovasc Pharmacol. – 2004. – Vol. 44. – P. 473-479.
6. Miyawaki, T. Ischemic preconditioning blocks BAD translocation, Bcl-xL cleavage, and large channel activity in mitochondria of postischemic hippocampal neurons / T. Miyawaki // Proc Natl Acad Sci USA. – 2008. – Vol. 105. – P. 92-97.
7. Murry, C.E. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium / C.E. Murry. – 1986. – Vol. 74. – P. 1124-1136.
8. Parsa, C.J. A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart / C.J. Parsa // J Clin Invest. – 2003. – Vol. 112. – P. 999-1007.
9. Rodriguez, M. Apoptosis in myocardial infarction / M. Rodriguez // Ann Med. – 2002. – Vol. 34. - P. 470-479.
10. Tramontano, A.F. Erythropoietin protects cardiac myocytes from hypoxia-induced apoptosis through an Akt-dependent pathway / A.F. Tramontano // Biochem Biophys Res Commun. – 2003. – Vol. 308. – P. 990-994.
11. Zhao, Z-Q. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning / Z-Q. Zhao // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2003. – Vol. 285. – P. 579-588.

STUDYING THE WAYS OF CARDIOPROTECTION IN AN ISOLATED RAT HEART BY LANGENDORFF

A.N. KAPLIN [1]
O.N. KUZMITSKAYA [1]
A.A. SHAPOSHNIKOV [2]
A.P. GRIGORENKO [2]

[1)] Kursk State Medical University

[2)] Belgorod National Research University

e-mail: drkaplin@rambler.ru

At present, cardiovascular diseases take the leading place in the structure of mortality and disability. Modern methods of pharmacological correction are not always effective in ways to combat myocardial damage. This experimental work was the first to study the effect of subhematopoietic doses of recombinant erythropoietin to the area of myocardial damage. The use of pharmacological preconditioning with erythropoietin led to reducing the area of damage to more than 4 times.

Keywords: postresuscitation syndrome, reperfusion injury, pharmacological preconditioning, erythropoietin.

УДК: 616-005.4:612.089.6

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ ЭРИТРОПОЭТИНОМ – ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ В ХИРУРГИИ

И.М. КОЛЕСНИК

Курская горбольница № 2

e-mail: kolesnik_inga@mail.ru

В статье представлены результаты экспериментального изучения влияния дистантного ишемического прекондиционирования на выживаемость изолированного кожного лоскута на питающей ножке и возможности инициации процесса прекондиционирования рекомбинантным эритропоэтином.

Ключевые слова: прекондиционирование, эритропоэтин, цитопротекция, АТФ-зависимые калиевые каналы, оксид азота.

Профилактика и коррекция последствий локальной ишемии, развивающейся при различных хирургических вмешательствах, является актуальной проблемой современной медицины. В связи с этим высок интерес к изучению ишемического прекондиционирования, суть которого состоит в том, что короткие подпороговые периоды ишемии активируют эндогенные защитные механизмы, снижающие степень повреждения клеток в результате последующего продленного ишемического эпизода. Феномен был открыт Murry и соавт. в 1986 г. Ученые впервые продемонстрировали, что четыре коротких эпизода коронарооккклюзии, перемежающиеся пятиминутными периодами реперфузии, перед длительной, сорокаминутной коронарооккклюзией уменьшали размер инфаркта миокарда почти в 2 раза [2, 7].

Исследования последних лет показали, что одного эпизода преходящей ишемии достаточно, чтобы вызвать прекондиционирование. Защитные свойства проявляются уже через 5 минут реперфузии. Тогда наступает первая защитная фаза прекондиционирования. Продолжительность её – 1-2 часа. Затем эффект исчезает и возобновляется в промежуток времени от 24 до 96 часов. Это вторая защитная фаза [2, 8].

В 1993 году было открыто дистантное ишемическое прекондиционирование, при котором кратковременные эпизоды ишемии одного органа (почки, брыжейки, нижней конечности) повышают устойчивость других органов к тяжелым ишемическим повреждениям [2, 10]. Открытие подтвердило предположение о том, что эффект прекондиционирования реализуется не локально, а представляет систему многоуровневого иерархического дублирования, включающую нейрогенный компонент, гуморальный и внутриклеточный. Последнее привело к необходимости поиска гуморального агента выделяющегося в ответ на ишемию и способного при экзогенном введении инициировать процесс без ишемии. С клинической точки зрения прекондиционирование фармакологическими средствами выглядит предпочтительнее, так как технологически проще и лишено потенциальной опасности ишемических эпизодов для измененных тканей [11, 12]. Еще больший интерес для клинического применения представляет возможность дозировать введение фармакологических средств, что делает управляемым временной интервал периода толерантности к ишемии.

Наиболее перспективным для изучения с нашей точки зрения является эритропоэтин. Это гликопротеиновый гормон; главным фактором, регулирующим его продукцию, является гипоксия [4]. Период полувыведения эритропоэтина значительно выше, чем у других гуморальных агентов прекондиционирования (аденозин, брадикинин, опиоиды), следовательно, временной интервал периода толерантности к ишемии, инициируемый им, должен быть существенно шире. Кроме того, открытие рецепторов эритропоэтина на мезангиальных клетках и в миокарде, фибробластах мышечной ткани и нейронов позволило изучить неэритропоэтические функции гормона [4].

В связи с вышеизложенным **целью нашего исследования** явилось: установить влияние дистантного ишемического прекондиционировния на выживаемость изолированного кожного лоскута на питающей ножке и возможность инициации процесса прекондиционирования рекомбинантным эритропоэтином.

Материалы и методы. Опыты проводили на 90 белых крысах линии Wistar массой 220-250 г.

Для исследования взяты крысы без внешних признаков заболевания, прошедшие карантинный режим. В ходе эксперимента животные содержались в условиях стандартной экспериментальной биологически чистой комнаты, температура воздуха составляла 22-24°С,

освещение – 12 ч/12 ч светлый/темный цикл, все крысы получали гранулированный корм и фильтрованную водопроводную воду.

Операции и другие манипуляции на крысах проводились в условиях общего обезболивания внутрибрюшинным введением водного раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг веса. Выведение животных из эксперимента осуществляли в соответствии с «Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», принятой Советом Европы (Strasbourg, Франция, 1986) и Директивой Совета 86/609/EEC от 24.11.1986 «По согласованию законов, правил и административных распоряжений стран участниц в отношении защиты животных, используемых в экспериментальных и научных целях», передозировкой хлоралгидрата, вводимого внутрибрюшинно.

Животных распределяли по группам путем стратифицированной рандомизации со стратификацией по массе тела, условиям содержания и питания, а также по проводимым операциям и манипуляциям.

Всем животным моделирование кожного лоскута на питающей ножке проводилось на вторые сутки эксперимента. После наркотизации животное фиксировали в положении на спине. Шерсть на брюшке тщательно выстригали, кожу обрабатывали 70% раствором этилового спирта. Отступив 1 см от мечевидного отростка по белой линии живота, предварительно наметив по трафарету размер, выкраивали кожный лоскут, 1 см – основание, 4 см – длина, (сохранив питающий сосуд) изолировали в полиэтиленовый пакет, края кожи ушивали узловым швом [3]. Оценку степени выживаемости кожного лоскута на ножке проводили на пятые сутки после моделирования (6-е сутки эксперимента) планиметрически по Автандилову, измеряя площадь выжившей ткани [1]. В дальнейшем рассчитывали показатель выживаемости (отношение площади выжившей ткани к изначальной площади лоскута ×100%).

Блокаду АТФ-зависимых калиевых каналов проводили внутрижелудочным введением глибекламида (Glib., Sigma) 5 мг/кг за 30 мин. до проведения дистантного ишемического прекондиционировния и/или введения рекомбинантного эритропоэтина [6].

Дефицит оксида азота моделировали ежедневным внутрибрюшинным введением с первых суток эксперимента блокатора эндотелиальной NO синтазы N-нитро-L-аргинин метилового эфира (L-NAME, Sigma) в дозе 25 мг/кг/сут. [5].

Дистантное ишемическое прекондиционирование осуществляли 10-минутным пережатием бедренной артерии с последующей 30-минутной реперфузией непосредственно перед моделированием патологии, на 3-и и 5-е сутки. Бедренную артерию пережимали наложением жгута на верхнюю треть бедра. Контролем правильности наложения жгута служило отсутствие пульса на атрериях голени [3].

Рекомбинантный эритропоэтин («Эпокрин» эпоэтин альфа; ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых препаратов» Федерального медикобиологического агентства г. Санкт-Петербург, РОССИЯ) вводили подкожно в дозе 50 МЕ/кг на первые, третьи и пятые сутки эксперимента. Доказано, что при данном режиме введения препарат не обладает эритростимулирующим эффектом.

Экспериментальные животные были разделены на 9 групп, не менее 10 крыс в каждой, которым моделировали изолированный кожный лоскут на питающей ножке. Первая группа – контрольная. Во второй группе проводили коррекцию дистантным ишемическим прекондиционированием. В третьей группе – рекомбинантным эритропоэтином. Животным четвертой группы проводилось комбинированное лечение, включающее сочетание дистантного ишемического прекондиционирования и рекомбинантного эритропоэтина. Животным 5-й группы вводили глибенкламид. В 6-й и 7-й группах проводили коррекцию выживаемости изолированного кожного лоскута на питающей ножке дистантным ишемическим прекондиционированием и рекомбинантным эритропоэтином соответственно на фоне блокады АТФ-зависимых калиевых каналов. Животным 8-й группы вводили L-NAME. В 9-й группе проводили коррекцию выживаемости изолированного кожного лоскута на ножке рекомбинантным эритропоэтином, на фоне блокады эндотелиальной NO синтазы.

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе Microsoft Excel версии 10.0 при помощи средств пакета анализа. «Описательная статистика» применялась для нахождения среднего значения (M) показателей и ошибки среднего (m) в каждой группе животных; данные в тексте и таблицах представлены в виде M±m. «Двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями» использовался для сравнения соответствующих показателей в различных группах животных и определения достоверности различий между ними путем вычисления вероятности возможной ошибки (p). Статистически значимыми считали различия при значениях двустороннего $p<0,05$.

Результаты и их обсуждение. При моделировании кожного лоскута на питающей ножке выживает часть его длины, превосходящая ширину основания не более чем в 2 раза. Мы заведомо моделировали лоскут, длина которого в 4 раза превосходила ширину основания.

На пятые сутки в контрольной группе площадь выжившей ткани составила 1,59±0,03 см², показатель выживаемости – 40% от изначальной площади (4 см²), что соответствует результатам, полученным другими исследователями, применявшими данную модель [3].

Все изучаемые методы коррекции способствовали достоверному увеличению площади выжившей ткани по сравнению с контрольной группой. Проведение дистантного ишемического прекондиционирования – до значения 2,36±0,09 см² (p=0,00001); введение рекомбинантного эритропоэтина – до 2,51±0,05 см² (p<0,05); сочетанное воздействие изучаемых методов – до 2,64±0,16 см² (p=0,00018). Следовательно, показатель выживаемости увеличился в 1,5; 1,6 и 1,7 раза соответственно.

Достоверных отличий между показателями в названных опытных группах нами выявлено не было (p=0,17685 при сравнении показателей в группах ДИП и ЕРО; p=0,15894 и p=0,45228 при сравнении их с группой сочетанного воздействия соответственно). Таким образом, дистантное ишемическое прекондиционирование способствует увеличению выживаемости изолированного кожного лоскута на питающей ножке. Рекомбинантный эритропоэтин в этой модели оказывает аналогичное действие.

Цитопротекторный эффект дистантного ишемического прекондиционирования в данной модели мы обусловливаем запуском каскадных реакций, ведущих к снижению уровня энергопотребления прекондиционированных тканей и активации молекулярных механизмов цитопротекции. Отсутствие достоверных отличий между показателями в опытных группах не опровергло наших предположений о способности эритропоэтина инициировать процесс прекондиционирования и привело к необходимости исследования роли основных звеньев механизма прекондиционирования в реализации цитопротекторного эффекта рекомбинантного эритропоэтина.

Введение глибенкламида животным контрольной группы (без лечения) не повлияло на выживаемость лоскута (p>0,05). Введение его перед проведением дистантного ишемического прекондиционирования способствовало уменьшению площади выжившей ткани изолированного кожного лоскута на питающей ножке до значения 1,62±0,02 см², не имеющего достоверных отличий от показателя в контрольной группе (1,59±0,03 см²) (p=0,43145), аналогичный результат получен при введении глибенкламида животным перед применением рекомбинантного эритропоэтина – 1,60±0,06 см² (p=1,0). Блокада АТФ-зависимых калиевых каналов глибенкламидом полностью нивелировала цитопротекторный эффект как дистантного ишемического прекондиционирования, так и рекомбинантного эритропоэтина. Результат говорит о том, что основным эффекторным звеном в механизме реализации цитопротекторного действия и в том и в другом случае являются АТФ-зависимые калиевые каналы.

В развитии ишемического прекондиционирования имеют значение две различные изоформы NO-синтаз (NOS): кальцийзависимая эндотелиальная (eNOS), участвующая в ранних фазах ИПК, и кальцийнезависимая индуцибельная (iNOS), генерирующая оксид азота поздней защиты [9].

Авторы «гипотезы оксида азота» считают, что именно повышенная активность iNOS, регистрируемая через 24-72 ч после инициируемого ишемического эпизода, является ответственной за реализацию эффектов отсроченной фазы ИПК [2, 8].

Исследование роли эндотелиальной NO-синтазы в реализации цитопротекторного эффекта рекомбинантного эритропоэтина проводили на модели изолированного кожного лоскута на питающей ножке.

Введение L-NAME животным контрольной группы привело к достоверному уменьшению площади выжившей ткани лоскута (0,92±0,05 см²) по сравнению с результатом в контрольной группе (1,59±0,03 см²) (p<0,05). Данный факт еще раз доказывает немаловажную позитивную роль оксида азота в реализации естественных механизмов защиты от ишемии. Блокада эндотелиальной NO-синтазы у животных, которым вводился рекомбинантный эритропоэтин, способствовала уменьшению показателя выживаемости изолированного кожного лоскута на питающей ножке, зарегистрированного нами ранее, до значения (1,68±0,06 см²), не имеющего достоверных отличий от показателя в контрольной группе (1,59±0,03 см²) (p=0,19249). Результат, полученный в данной экспериментальной группе, свидетельствует о существенной роли эндотелиальной NO-синтазы в реализации цитопротекторного эффекта рекомбинантного эритропоэтина. Однако можно отметить, что в группе животных, которым на фоне блокады эндотелиальной NO-синтазы вводился рекомбинантный эритропоэтин, показатель выживаемости достоверно выше, чем в группе животных, которым блокада эндотелиальной NO-синтазы моделировалась без лечения (p<0,05).

Такой результат можно объяснить тем, что активация АТФ-зависимых калиевых каналов осуществляется не только нитритэргической системой, но в некоторой степени протеинкиназами. В литературе есть сведения о возможности активации протеинкиназ эритропоэтином [4]. Нельзя исключать возможность прямого влияния эритропоэтина на АТФ-зависимые калиевые каналы.

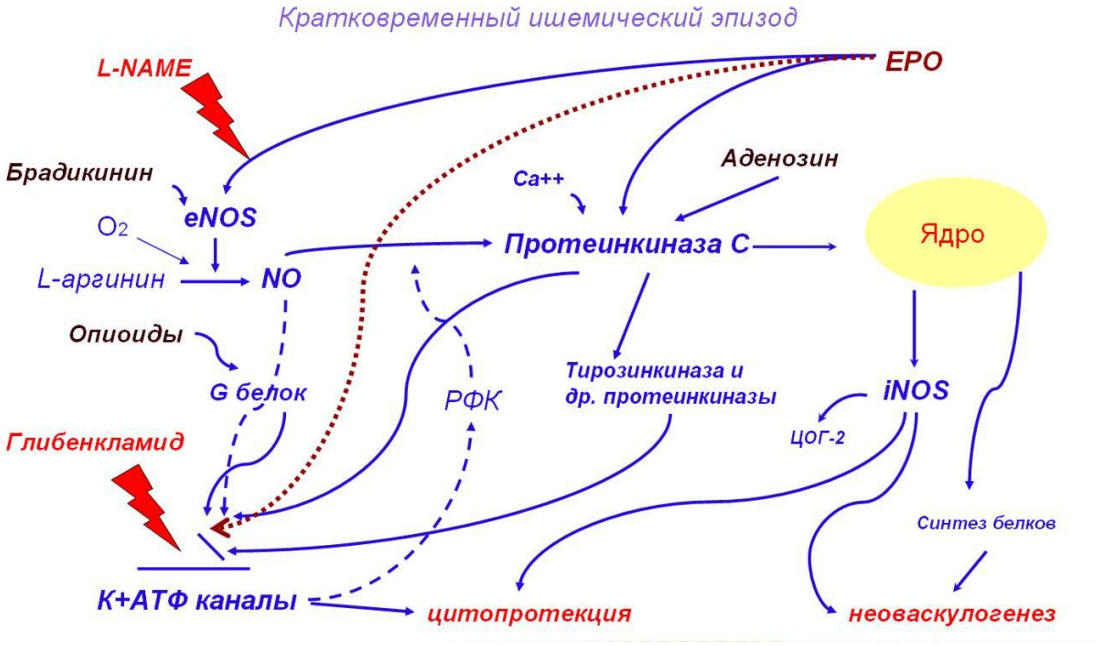


Рис Фрагмент механизма ишемического прекондиционирования и гипотетическая роль эритропоэтина в нем.

Примечание. EPO – эритропоэтин; K^+АТФ каналы – АТФ-зависимые калиевые каналы; eNOS – эндотелиальная NO-синтаза; iNOS – индуцибел-ая NO–синтаза; L-NAME – N-нитро-L-аргинина метиловый эфир; NO – оксид азота; РФК – реактивные формы кислорода; ЦОГ-2 – циклооксигеназа-2.

Выводы. Таким образом, в ходе проведенного исследования было выявлено, что дистантное ишемическое прекондиционирование и рекомбинантный эритропоэтин в субэритростимулирующей дозе обладают в равной степени выраженным цитопротекторным эффектом на модели изолированного кожного лоскута на питающей ножке. АТФ-зависимые калиевые каналы являются эффекторным механизмом в реализации цитопротекторного действия как дистантного ишемического прекондиционирования, так и рекомбинантного эритропоэтина. Оксид азота играет важную роль в реализации цитопротекторного эффекта рекомбинантного эритропоэтина. Синтез его осуществляется за счет активации индуцибельной NO-синтазы, однако в механизме цитопротекции большое значение имеет эндотелиальная NO-синтаза, выполняющая, по всей вероятности, триггерную роль. Из этого следует, что рекомбинантный эритропоэтин в субэритростимулирующей дозе можно рекомендовать как препарат для фармакологического прекондиционирования.

Результаты, полученные в проведенных нами экспериментальных исследованиях, позволяют проводить дальнейшее изучение возможности применения дистантного ишемического прекондиционирования и фармакологического прекондиционирования рекомбинантным эритропоэтином в субэритростимулирующей дозе для профилактики и коррекции ишемических повреждений тканей в хирургии.

Литература

1. Автандилов, Г.Г. Основы патологоанатомической практики / Г.Г. Автандилов. – М. : РМАПО, 1994. – 512 с.

2. Бокерия, Л.А. Природа и клиническое значение «новых ишемических синдромов» / Л.А. Бокерия, И.Н. Чичерин. – М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2007. – 302 с.

3. Влияние дистантного прекондиционирования на выживаемость ишемизированных тканей / И.М. Колесник, М.В. Покровский, В.А. Лазаренко и др. // Вестник экспериментальной и клинической хирургии.– 2010. – Т. 3, № 3. – С. 214-217

4. Захаров, Ю.М. Неэритропоэтические функции эритропоэтина / Ю.М. Захаров // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2007. – Т. 93, № 6. – С. 592-608.

5. Методические подходы для количественной оценки развития эндотелиальной дисфункции при L-NAME-индуцированной модели дефицита оксида азота в эксперименте / М.В. Покровский, В.И. Кочкаров, Покровская и др.// Кубанский науч. мед. вестн. – 2006. – № 10. – С. 72-77.

6. Роль АТФ-зависимых калиевых каналов в процессе гипоксического и ишемического прекондиционирования у крыс с фокальной ишемией мозга / Н.С. Самойленкова, С.А. Гаврилова, А.И. Дубина и др. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 200. – Т.4, № 24. – С. 68-77.

7. Depre, C. Cardioprotection in stunned and hibernating myocardium / C. Depre, S.F. Vatner // Heart Fail. Rev. – 2007. – Vol. 12. – P. 307-317.

8. Dirnagl, U. Preconditioning and tolerance against cerebral ischaemia from experimental strategies to clinical use / U. Dirnagl, K. Becker, A. Meisel // Lancet. – 2009. – Vol. 8, № 4. – P. 398–412.

9. Downey, J.M. Signaling pathways in ischemic preconditioning /J.M. Downey, A. M. Davis, M.V. Cohen // Heart. Fail. Rev. – 2007. – Vol. 12. – P. 181-188

10. Limb remote-preconditioning protects against focal ischemia in rats and contradicts the dogma of therapeutic time windows for preconditioning / C. Ren, X. Gao, G.K. Steinberg, H. Zhao // Neuroscience. – 2008. – Vol. 151. – P. 1099-1103

11. Remote ischaemic conditioning before hospital admission, as a complement to angioplasty, and effect on myocardial salvage in patients with acute myocardial infarction: a randomized trial / H.E. Botker, R. Kharbanda, M.R. Schmidt et al. // Lancet. – 2010. – Vol. 375. – P. 727-734.

12. Sommer, C. Ischemic preconditioning: postischemic structural changes in the brain / C. Sommer // J. Neuropathol. Exp. Neurol. – 2008. – Vol. 67. – P. 85-92.

SURGICAL ASPECTS OF ERYTHROPOIETIN TO CORRECT ISCHEMIC DAMAGE OF ORGANS AND TISSUES

I.M. KOLESNIK

Kursk hospital №2

e-mail: kolesnik_inga@mail.ru

The article presents the results of an experimental study of the influence of distant ischemic preconditioning on the survival of isolated skin graft on feeding pedicle and the possibility of initiating the process of preconditioning with recombinant erythropoietin.

Keywords: preconditioning, erythropoietin, cytoprotection, ATP-dependent potassium channels, nitric oxide.

УДК: 616-005.4:612.089.6

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ МЯГКИХ ТКАНЕЙ СИЛДЕНАФИЛОМ

И.М. КОЛЕСНИК [1], М.В. ПОКРОВСКИЙ [2]
В.А. ЛАЗАРЕНКО [3], Т.Г. ПОКРОВСКАЯ [2]
С.В. ХОДОВ [3], Д.А. ЕФРЕМЕНКОВА [2]
К.С. ТРОФИМОВ [2], М.М. ПАПУАШВИЛИ [2]

[1] Курская горбольница № 2

[2] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

[3] Курский государственный медицинский университет

e-mail: kolesnik_inga@mail.ru

Проведено экспериментальное исследование возможности применения силденафила для профилактики и коррекции последствий локальной ишемии мягких тканей у крыс, в сравнении с эффектами дистантного ишемического прекондиционирования.

Ключевые слова: прекондиционирование, силденафил, цитопротекция, АТФ-зависимые калиевые каналы, неоангиогенез.

Вот уже более 20 лет интерес многих ученых прикован к изучению феномена ишемического прекондиционирования. Открытие механизмов процесса показало, что он развивается через триггеры и медиаторы, которые можно имитировать фармакологическими агентами и таким путем стимулировать полезные эффекты ишемического прекондиционирования без эпизодов ишемии [1, 2, 3].

Силденафил – высокоселективный ингибитор фосфодиэстеразы-5, широко известен как препарат, эффективно влияющий на эректильную дисфункцию. Исследования последних лет выявили, что препараты данной группы обладают стимулирующим влиянием на метаболический путь оксида азота, оказывая выраженный эндотелиопротективный эффект, способны активировать протеинкиназу G и АТФ-зависимые калиевые каналы [4, 5]. Всё это предполагает изучать возможность применения препарата для фармакологического прекондиционирования [1]. Наиболее изучены эффекты прекондиционирования на сердце и головной мозг. Однако предполагаемый механизм реализации феномена указывает на возможность его универсального использования в хирургии для защиты органов и тканей в условиях нарушения кровообращения.

Цель: установить влияние дистантного ишемического прекондиционировния на выживаемость изолированного кожного лоскута на питающей ножке, состояние микроциркуляции в ишемизированной скелетной мышце у крыс и возможность инициации процесса прекондиционировния силденафилом на данных моделях.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на половозрелых самках крыс линии Wistar массой 220-250 г. Для исследования взяты крысы без внешних признаков заболевания, прошедшие карантинный режим вивария НИУ «БелГУ». В ходе эксперимента животные содержались в условиях стандартной экспериментальной биологически чистой комнаты, температура воздуха составляла 22-24°С, освещение – 12 ч/12 ч светлый/темный цикл, все крысы получали гранулированный корм и фильтрованную водопроводную воду.

Все исследования проводили в одно и то же время суток – во второй половине дня с соблюдением принципов, изложенных в «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986). Наркотизацию осуществляли внутрибрюшинным введением водного раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг веса; выведение животных из эксперимента – его передозировкой. Животных распределяли по группам путем стратифицированной рандомизации со стратификацией по массе тела, а также по проводимым операциям и манипуляциям. Каждая группа формировалась не менее чем из десяти крыс.

Влияние дистантного ишемического прекондиционирования и силденафила на выживаемость ишемизированных тканей исследовали на модели изолированного кожного лоскута на питающей ножке. Создание модели производили на вторые сутки эксперимента. Отступив 1 см от мечевидного отростка по белой линии живота, предварительно наметив по трафарету размер, выкраивали кожный лоскут: 1 см – основание, 4 см – длина, (сохранив

питающий сосуд) изолировали в полиэтиленовый пакет, края кожи ушивали непрерывным швом [2]. В дальнейшем рассчитывали показатель выживаемости (отношение площади выжившей ткани к изначальной площади лоскута ×100%).

Влияние дистантного ишемического прекондиционирования и силденафила на состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной скелетной мышце исследовали на модели ишемии мышц голени, которую воспроизводили оперативным удалением бедренной, подколенной, передней и задней большеберцовых артерий правой задней конечности [3]. Уровень микроциркуляции в мышцах голени определяли при помощи оборудования производства компании Biopac systems: полиграфа MP100 с модулем лазерной допплеровской флоуметрии LDF100C и инвазивного игольчатого датчика TSD144. Регистрация и обработка результатов лазерной допплеровской флоуметрии (ЛДФ) производилась с помощью программы AcqKnowledge версии 3.8.1, значения микроциркуляции выражались в перфузионных единицах (ПЕ).

Дистантное ишемическое прекондиционирование (ДИП) проводили 10-минутным пережатием левой бедренной артерии, с последующей 30-минутной реперфузией непосредственно перед моделированием патологии, на третьи и пятые сутки эксперимента. Пережатие бедренной артерии осуществляли наложением жгута на верхнюю треть левого бедра [2, 3]. Контролем правильности наложения жгута служило отсутствие пульса на атериях голени.

Силденафил вводили внутрижелудочно в дозе 0,22 мг/кг за 30 мин. до моделирования патологии на третьи и пятые сутки эксперимента.

Результаты и их обсуждение. При моделировании кожного лоскута на питающей ножке выживает часть его длины, превосходящая ширину основания не более чем в 2 раза. Мы заведомо моделировали лоскут, длина которого в 4 раза превосходила ширину основания.

На пятые сутки в контрольной группе площадь выжившей ткани составила 1,59±0,03 см², показатель выживаемости – 40% от изначальной площади (4 см²). Все изучаемые методы коррекции способствовали достоверному увеличению площади выжившей ткани по сравнению с контрольной группой. Проведение дистантного ишемического прекондиционирования – до значения 2,36±0,09 см² (p=0,00001); введение силденафила – до 3,01±0,05 см² (p<0,05).

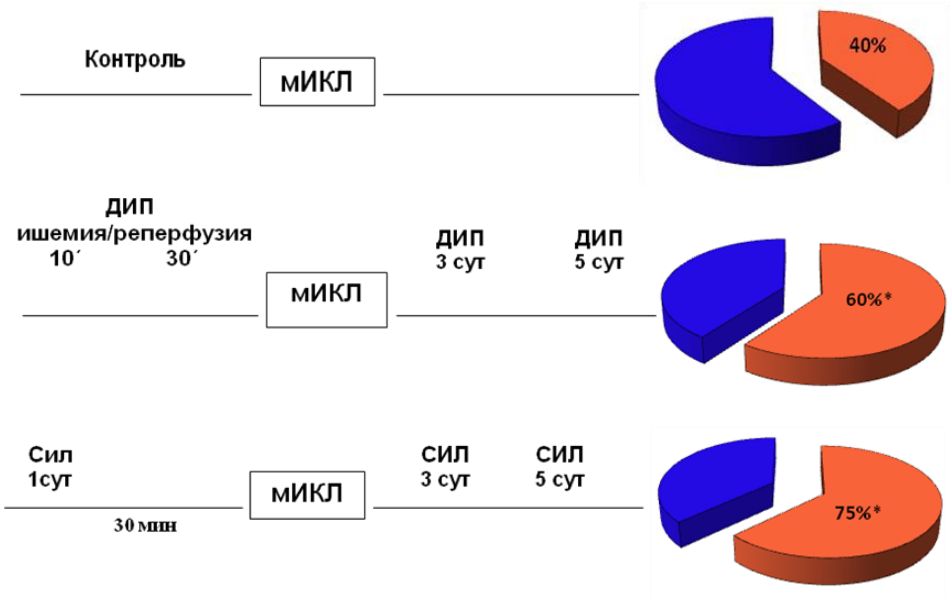


Рис. 1. Эксперимент по изучению влияния дистантного ишемического прекондиционирования и силденафила на выживаемость изолированного кожного лоскута на питающей ножке.

Примечание: ДИП – дистантное ишемическое прекондиционирование, Сил – силденафил внутрижелудочно в дозе 0,22 мг/кг на первые, третьи и пятые сутки эксперимента; мИКЛ – моделирование изолированного кожного лоскута на питающей ножке (на 2-е сутки эксперимента); показатель выживаемости кожного лоскута оценивали на пятые сутки после его моделирования (6-е сутки эксперимента), обозначен процент выжившей ткани.

Таким образом, дистантное ишемическое прекондиционирование способствует увеличению выживаемости изолированного кожного лоскута на питающей ножке. Силденафил в этой модели оказывает аналогичное действие (рис. 1).

Полученные результаты не опровергли наших предположений о способности силденафила инициировать процесс прекондиционирования и привели к необходимости исследования других эффектов.

Прекондиционирование индуцирует экспрессию генных программ, вовлечённых не только в цитопротекцию, но и в восстановительные механизмы. В связи с этим в дальнейшем исследовании нами изучено влияние силденафила на состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной скелетной мышце.

Среднее значение уровня микроциркуляции в интактной мышце голени крыс составляет 526±34 ПЕ. После моделирования ишемии мышц голени уровень микроциркуляции в них резко снижается, восстановление его начинается лишь после 14 суток, однако до 90 суток остается достоверно ниже значения, зарегистрированного в группе интактных животных (рис. 2).

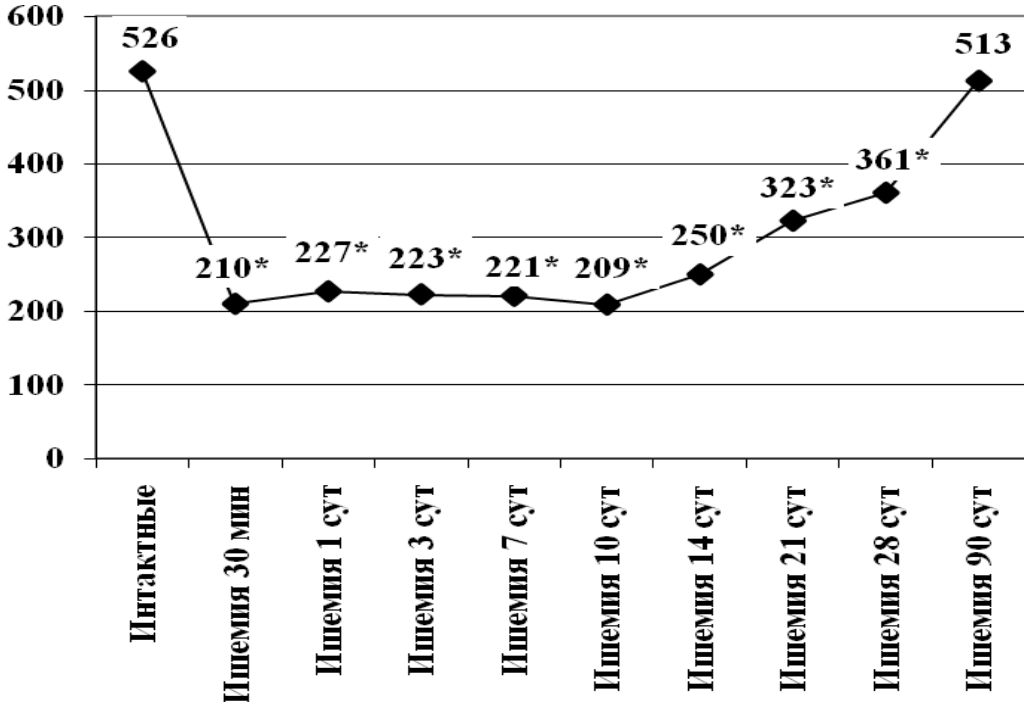


Рис. 2. Динамика уровня микроциркуляции на разных сроках после моделирования ишемии мышц голени крыс контрольной серии в перфузионных единицах.

Примечание: * – p<0,05 при сравнении с показателями в группе интактных животных.

Учитывая результаты, полученные при анализе возможности компенсаторного восстановления регионарного кровообращения в применяемой нами модели, а также литературные данные, как наиболее информативные расценены 28-е сутки, 21-е рассматривались как промежуточные.

В группе ложнооперированных животных среднее значение уровня микроциркуляции в мышцах правой голени составляет на 21-е сутки 527±10 ПЕ, на 28-е сутки – 532±33 ПЕ. На всех сроках результаты лазерной допплеровской флоуметрии не имеют достоверных отличий от показателей в группе интактных животных 526±34 ПЕ (p=0,19; p=0,43 соответственно).

При моделировании ишемии мышц голени уровень микроциркуляции на 21-е сутки 322±7 ПЕ, на 28-е 361±8 ПЕ, что достоверно ниже значения в интактной мышце (p<0,05).

При оценке уровня микроциркуляции в опытных группах было выявлено, что проведение дистантного ишемического прекондиционирования и введение силденафила способствуют эффективному повышению уровня регионарного кровотока в ишемизированной мышце голени крыс. Показатели ЛДФ в этих группах достоверно выше таковых в контрольной группе на соответствующем сроке (ДИП: 21-е сутки – 450±8 ПЕ, p<0,05, 28-е сутки – 702±23 ПЕ, p<0,05; Сил: 21-е сутки – 435±12 ПЕ, p=0,00065, 28-е сутки – 806±42 ПЕ, p<0,05). Уровень микроциркуляции во всех опытных группах на 21-е сутки приближается к показателям в группе интактных животных, а на 28-е сутки значительно выше.

То есть можно говорить о том, что компенсаторное восстановление регионарного кровообращения в ишемизированных мышцах животных опытных групп произошло до 28-х суток эксперимента. В контрольной серии восстановление исходного значения наблюдается значительно позже (в срок до 3 месяцев).

Выводы. В данном экспериментальном исследовании нами показано, что дистантное ишемическое прекондиционирование может рассматриваться как доступный универсальный метод профилактики и коррекции ишемического повреждения мягких тканей в хирургии, а также обоснована возможность применения силденафила в дозе 0,22 мг/кг для фармакологического прекондиционирования. Дистантное ишемическое прекондиционирование и силденафил оказывают выраженный цитопротекторный эффект на модели изолированного кожного лоскута на питающей ножке и способствуют эффективному улучшению уровня микроциркуляции в ишемизированной мышце голени крыс.

Литература

1. Бокерия, Л.А. Природа и клиническое значение «новых ишемических синдромов» / Л.А. Бокерия, И.Н. Чичерин. – М. : НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2007. – 302 с.

2. Влияние дистантного прекондиционирования на выживаемость ишемизированных тканей / И.М. Колесник, М.В. Покровский, В.А. Лазаренко и др. // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2010. – Т. 3, № 3. – С. 214-217.

3. Колесник, И.М. Дистантное и фармакологическое прекондиционирование. Новые возможности применения в хирургии. LAP LAMBERT Acfdemic Publishing, Saarbrucken, 2012. – 123 с.

4. Покровская, Т.Г. Эндотелиопротективные эффекты силденафила и тадалафила при экспериментальном моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота / Т.Г. Покровская, Т.Н. Чулюкова, М.В. Покровский // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – № 4. – С. 136-139.

5. Эндотелиопротективные дозозависимые эффекты силденафила в комбинациях с L-аргинином при экспериментальном моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота / Т.Г. Покровская, Т.Н. Чулюкова, М.В. Покровский [и др.] // Биомедицина. – 2010. – Т. 1, № 5. – С. 118-120.

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF POSSIBILITY OF PHARMACOLOGICAL PRECONDITIONING OF SOFT TISSUES WITH SILDENAFIL

I.M. KOLESNIK [1], M.V. POKROVSKY [2]
V.A. LASARENKO [3], T.G. POKROVSKAYA [2]
S.V. HODOV [3], D.A. EFREMENKOVA [2]
K.S. TROFIMOV [2], M.M. PAPUASHVILI [2]

[1)] Kursk hospital №2

[2)] Belgorod state national research university

[3)] Kursk state medical university

e-mail: kolesnik_inga@mail.ru

An experimental study of the possibility of sildenafil using to prevent and correct the effects of local ischemia of soft tissues in rats in comparison with the effects of distant ischemic preconditioning was led.

Keywords: preconditioning, sildenafil, cytoprotection, ATP-dependent potassium channels, neoangiogenesis.

УДК: 616-005.4:612.089.6

ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ АКТИВАТОРАМИ АТФ-ЗАВИСИМЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ НА СОСТОЯНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА В ИШЕМИЗИРОВАННОЙ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ

И.М. КОЛЕСНИК [1]
М.В. ПОКРОВСКИЙ [2]
В.А. ЛАЗАРЕНКО [3]
Д.А. ЕФРЕМЕНКОВА [2]
Т.Г. ПОКРОВСКАЯ [2]
С.В. ХОДОВ [3]
К.С. ТРОФИМОВ [2]
М.М. ПАПУАШВИЛИ [2]

[1] Курская горбольница № 2

[2] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

[3] Курский государственный медицинский университет

e-mail: kolesnik_inga@mail.ru

В статье представлены результаты изучения влияния фармакологического прекондиционирования никорандилом и миноксидилом на состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной мышце голени крыс, в сравнении с эффектом дистантного ишемического прекондиционирования. Исследована роль индуцибельной NO-синтазы в их механизме.

Ключевые слова: прекондиционирование, никорандил, миноксидил, ишемия, индуцибельная NO-синтаза.

Введение. Эффективность применения прекондиционирования для защиты органов и тканей от ишемических повреждений в последние годы не вызывает сомнений. Наиболее перспективным с клинической точки зрения является фармакологическое прекондиционирование. Метод лишен потенциальной опасности ишемических эпизодов [7]. Кроме того, фармакологические препараты можно точно дозировать, что позволяет управлять продолжительностью периода толерантности к ишемии [1, 5]. Применение средств, имитирующих ишемическое прекондиционирование, кажется многообещающим. Арсенал их широк. АТФ-зависимые калиевые каналы принято рассматривать эффекторным звеном феномена прекондиционирования. Возможность их активации фармакологическими средствами достаточно изучена. Исследования привели к разработке перспективных методов борьбы с ишемическими повреждениями сердца и головного мозга [1, 4, 7]. Но предполагаемый механизм прекондиционирования указывает на возможность его универсального использования в хирургии для защиты органов и тканей в условиях нарушения кровообращения.

В нашем исследовании проведена оценка влияния дистантного ишемического прекондиционирования и фармакологического прекондиционирования открывателями АТФ-зависимых калиевых каналов на состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной скелетной мышце крыс. В качестве исследуемых препаратов рассматривались никорандил и миноксидил. Такой выбор обусловлен тем, что никорандил помимо способности активировать АТФ-зависимые калиевые каналы является донатором оксида азота (NO).

Материалы и методы. Эксперименты проведены на разнополых крысах линии Wistar массой 250-300 г. Каждая группа формировалась не менее чем из десяти животных.

Ишемию скелетной мышцы моделировали на правой голени крысы оперативным удалением бедренной, подколенной, передней и задней большеберцовых артерий. Состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной мышце оценивали при помощи оборудования производства компании Biopac systems: полиграфа MP100 с модулем лазерной допплеровской флоуметрии LDF100C и инвазивного игольчатого датчика TSD144. Регистрация и обработка результатов лазерной допплеровской флоуметрии (ЛДФ) производилась с помощью программы AcqKnowledge версии 3.9.1, значения микроциркуляции выражались в перфузионных единицах (ПЕ) [3].

Дистантное ишемическое прекондиционирование (ДИП) проводили 10-минутным пережатием левой бедренной артерии, с последующей 30-минут-

ной реперфузией непосредственно перед моделированием патологии, затем каждые 46 часов первые семь суток эксперимента [2, 3].

Никорандил вводили внутрижелудочно в суточной дозе 1,3 мг/кг в два приема накануне операции (первые сутки эксперимента) с последующим повтором через 46 часов первые семь суток эксперимента.

Миноксидил вводили внутрижелудочно в суточной дозе 0,5 мг/кг по той же схеме.

Блокаду индуцибельной NO-синтазы (iNOS) проводили внутрибрюшинным введением аминогуанидина в дозе 100 мг/кг за 30 минут до проведения дистантного или фармакологического прекондиционирования.

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе Microsoft Excel версии 10.0 при помощи средств пакета анализа. «Описательная статистика» применялась для нахождения среднего значения (M) показателей и ошибки среднего (m). «Двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями» использовался для сравнения соответствующих показателей в различных группах животных и определения достоверности различий между ними. Статистически значимыми считали различия при значениях двустороннего $p<0,05$.

Результаты. Среднее значение уровня микроциркуляции в интактной мышце голени крыс составляет 526±34 ПЕ. Результат не имеет значимых отличий от результатов, полученных другими авторами, применявшими данную модель. После моделирования ишемии мышц голени уровень микроциркуляции в них резко снижается, восстановление его начинается лишь после 10 суток, однако до 90 суток остается достоверно ниже значения, зарегистрированного в группе интактных животных. Учитывая результаты, полученные при анализе возможности компенсаторного восстановления регионарного кровообращения в применяемой нами модели, а также литературные данные, как наиболее информативные расценены 28-е сутки, 21-е рассматривались как промежуточные.

В группе ложнооперированных животных среднее значение уровня микроциркуляции в мышцах правой голени составляет на 21-е сутки 527±10 ПЕ, на 28-е сутки – 532±33 ПЕ. На всех сроках результаты лазерной допплеровской флоуметрии не имеют достоверных отличий от показателей в группе интактных животных – 526±34 ПЕ ($p=0,19$; $p=0,43$ соответственно). При моделировании ишемии мышц голени уровень микроциркуляции на 21-е сутки 322±7 ПЕ, на 28-е 361±8 ПЕ, что достоверно ниже значения в интактной мышце ($p<0,05$).

При оценке уровня микроциркуляции в опытных группах было выявлено, что проведение дистантного ишемического прекондиционирования, введение никорандила и миноксидила способствуют эффективному и равнозначному повышению уровня регионарного кровотока в ишемизированной мышце голени крыс. Показатели ЛДФ в этих группах достоверно выше таковых в контрольной группе на соответствующем сроке – ДИП: 21-е сутки – 450±8 ПЕ ($p<0,05$), 28-е сутки –702±23 ПЕ ($p<0,05$); никорандил: 21-е сутки – 470±38 ПЕ ($p=0,00065$), 28-е сутки – 758±13 ПЕ ($p<0,05$); миноксидил: 21-е сутки – 428±20 ПЕ ($p=0,00065$), 28-е сутки – 830±35 ПЕ ($p<0,05$). Уровень микроциркуляции во всех опытных группах на 21-е сутки приближается к показателям в группе интактных животных, а на 28-е сутки значительно выше. То есть можно говорить о том, что компенсаторное восстановление регионарного кровообращения в ишемизированных мышцах животных опытных групп произошло до 28-х суток эксперимента. В контрольной серии восстановление исходного значения наблюдается значительно позже (в срок до 3 месяцев).

В развитии ишемического прекондиционирования имеют значение две различные изоформы NO-синтаз: кальцийзависимая эндотелиальная (eNOS), участвующая в ранних фазах ИПК, и кальцийнезависимая индуцибельная (iNOS), генерирующая оксид азота поздней защиты. Авторы «гипотезы оксида азота» считают, что именно повышенная активность iNOS, регистрируемая через 24-72 ч после инициируемого ишемического эпизода, является ответственной за реализацию эффектов отсроченной фазы ИПК [4].

Введение аминогуанидина привело к полной отмене полученного ранее эффекта дистантного ишемического прекондиционирования и фармакологического прекондиционирования миноксидилом. Показатели ЛДФ в данных опытных группах на 28 сутки не имеют достоверных отличий от показателя в контрольной группе на этом сроке: ДИП + аминогуанидин – 341±7 ПЕ ($p=0,14$); миноксидил + аминогуанидин – 324±14ПЕ ($p=0,03$). Однако блокада iNOS не отменила эффекта прекондиционирования никорандилом, а лишь уменьшила уровень микроциркуляции до значения, не имеющего достоверных отличий от такового в интактной мышце голени крысы 545±26 ПЕ.

Обсуждение. В данном экспериментальном исследовании нами показано, что никорандил и миноксидил в применяемых дозах оказывают эффект, аналогичный дистантному ишемическому прекондиционированию на модели ишемии мышцы голени крысы, способствуя восстановлению микоциркуляции до 28 суток эксперимента. Мы применяли никорандил в суточной дозе 15 мг (в пересчете для человека), тогда как общепринятой является доза 40 мг в

сутки. Ishii et al., показали, что терапия никорандилом (15 мг/сут.) улучшала клинический прогноз у находящихся на гемодиализе коронарных пациентов после ангиопластики [6]. Эти данные позволяют предположить, что доза никорандила 15 мг/сут. обеспечивает адекватное открытие К-АТФ каналов и инициацию процесса прекондиционирования. Кроме того, в ряде исследований доказано, что применение препарата в такой дозе лишает его побочных эффектов [6]. Известно, что ежедневное прекондиционирование открывателями АТФ-зависимых калиевых каналов приводит к постепенной отмене эффекта. Учитывая то, что эффект прекондиционирования начинает ослабевать через 46 часов [1, 5], нами выбрана схема введения суточной дозы через соответствующий промежуток времени. Блокада iNOS аминогуанидином полностью нивелировала полученный нами эффект дистантного ишемического прекондиционирования и миноксидила. В группе с применением никорандила полной отмены эффекта прекондиционирования не произошло, отмечено лишь небольшое его уменьшение, что возможно связано с нитратоподобным эффектом препарата.

Выводы. Фармакологическое прекондиционирование никорандилом и миноксидилом наряду с дистантным ишемическим прекондиционированием может рассматриваться как доступный универсальный инструмент профилактики и коррекции последствий локальной ишемии в хирургии. Причем препараты эффективны в минимальной дозе, не имеющей побочных эффектов, характерных для обычной дозы. Эффект прекондиционирования никорандилом на модели ишемии мышц голени крысы сохраняется при блокаде iNOS.

Литература

1. Бокерия, Л.А. Природа и клиническое значение «новых ишемических синдромов» / Л.А. Бокерия, И.Н. Чичерин. – М. : НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2007. – 302 с.

2. Влияние дистантного прекондиционирования на выживаемость ишемизированных тканей / И.М. Колесник, М.В. Покровский, В.А. Лазаренко и др. // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2010. – Т. 3, № 3. – С. 214-217.

3. Колесник, И.М. Дистантное и фармакологическое прекондиционирование. Новые возможности применения в хирургии. LAP LAMBERT Acfdemic Publishing, Saarbrucken, 2012. – 123 с.

4. Bolli, R. Causative role of oxyradicals in myocardial stunning: a proven hypothesis / R. Bolli // Basic. Res. Cardiol. – 1998. – Vol. 93. – P. 156-162.

5. Dirnagl, U. Preconditioning and tolerance against cerebral ischaemia from experimental strategies to clinical use / U. Dirnagl, K. Becker, A. Meisel // Lancet. – 2009. – Vol. 8, № 4. – P. 398-412.

6. Efficacy of oral nicorandil in patients with end-stage renal disease: A retrospective chart review after coronary angioplasty in Japanese patients receiving hemodialysis / H. Ishii, T Toriyama, T. Aoyama et al. // Clin Ther. – 2007. – Vol. 29. – P. 110-122.

7. Sommer, C. Ischemic preconditioning: postischemic structural changes in the brain / C. Sommer // J. Neuropathol. Exp. Neurol. – 2008. – Vol. 67. – P. 85-92.

INFLUENCE OF PHARMACOLOGICAL PRECONDITIONING WITH ACTIVATORS OF ATP-DEPENDENT POTASSIUM CHANNELS ON THE MICROVASCULATURE CONDITION IN ISCHEMIC SKELETAL MUSCLE

I.M. KOLESNIK [1]
M.V. POKROVSKY [2]
V.A. LASARENKO [3]
D.A. EFREMENKOVA [2]
T.G. POKROVSKAYA [2]
S.V. HODOV [3]
K.S. TROFIMOV [2]
M.M. PAPUASHVILI [2]

[1] ***Kursk hospital №2***

[2] ***Belgorod state national research university***

[3] ***Kursk state medical university***

e-mail: kolesnik_inga@mail.ru

The article presents the results of study of the influence of pharmacological preconditioning with nicorandil and minoxidil on the state of the microvasculature in the ischemic leg muscle of rats in comparison with distant ischemic preconditioning effect. The role of inducible NO-synthase in their mechanism was investigated.

Keywords: preconditioning, nicorandil, minoxidil, ischemia, inducible NO-synthase.

УДК 615.244:616-005.4

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ L-НОРВАЛИНА И АДЕМЕТИОНИНА ПРИ ИШЕМИЧЕСКИХ И РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОРАЖЕНИЯХ ПЕЧЕНИ

Д.В. ЛОПАТИН [1]
С.А. АЛЕХИН [1]
М.В. ПОКРОВСКИЙ [2]
П.М. НАЗАРЕНКО [1]
В.П. ТРОШИН [3]
Д.И. КОЛМЫКОВ [1]
Л.В. ИВАНОВА[1]
В.Д. ЛУЦЕНКО [2]
С.Л. СПЕРАНСКИЙ [2]

[1)] Курский государственный медицинский университет

[2)] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

[3)] Брянский патологоанатомический институт

e-mail: s_alehin@mail.ru

В ходе исследования было установлено, что L-норвалин в дозе 10 мг/кг обладает выраженным гепатопротекторным действием, в сравнении с адеметионином в дозе 400 мог/кг, что выражается в снижении активности аминотрансфераз, уменьшении экспрессии антиапоптотического маркера Bcl-2, а также площадей некроза и нейтрофильной инфильтрации в печени.

Ключевые слова: ишемия, реперфузия, печень, ингибитор аргиназ, L-норвалин, адеметионин.

Заболевания печени занимают, по данным ВОЗ, четвертое место в общей заболеваемости. От 10 до 40% всего взрослого населения страдают неалкогольной жировой болезнью печени, которая является, по мнению ряда авторов, причиной цирроза печени и гепатоцеллюлярного рака, что, как правило, диктует необходимость хирургического лечения. Хирургическая травма приводит к ишемическому повреждение ткани печени, добавляя к нему еще и реперфузионную травму, как следствие восстановления кровотока в сосудах органа [1, 9]. В связи с чем немаловажным является фармакологическая коррекция ишемических и реперфузионных повреждений, однако до настоящего момента данный вопрос остается открытым в связи с недостаточной изученностью одних агентов и умеренной либо малой эффективностью других.

Как при прекращении кровотока, так и при его восстановлении одной из основных мишеней является митохондрия [1, 4, 15, 18]. Образование активных форм кислорода, провоспалительных цитокинов, факторов активации апоптоза усиливает развивающееся митохондриальное повреждение, при этом во многом регуляция ишемического и реперфузионного повреждения зависит от уровня универсального мессенджера – оксида азота (NO), образующегося под действием индуцибельной и конституциональной NO-синтаз [5, 6, 7, 13, 17].

В исследованиях было показано, что метаболизм L-аргинина протекает двумя путями: с участием NO-синтаз до цитрулина и участием аргиназ до орнитина и мочевины, при этом активность аргиназ значительно выше таковой NO-синтаз, что проявляется в субстратном ингибировании синтеза NO [5, 6]. Таким образом, становится понятно, что изменение уровеня NO – ключевой точки фармакологической коррекции, сказывается на выраженности как ишемического, так и реперфузионного поражения тканей.

Подавление активности аргиназ приводит к повышению уровня NO, таковой активностью обладает большое количество различных веществ [14], однако наименее изученным и при этом одним из самых активных является L-норвалин (2-аминопентановая кислота) – неметаболизирующийся аналог L-валина, что объясняется его структурным подобием орнитину по механизму обратной связи, угнетающему активность фермента [5, 4]. Ранее в нашей лаборатории изучалась активность L-норвалина в отношении коррекции L-NAME индуцированного дефицита азота, а также его эдотелио- и кардиопротективные эффекты [0, 3, 12].

В связи с вышеизложенным особый интерес приобретает исследование гепатопротекторной активности в сравнении с известными гепатопротекторами, в частности с адеметионином.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 48 самцах крыс линии Wistar массой 180-220 г. Животные были распределены на группы следующим образом: группа интактных животных – А (n=12), группа с реперфузионным поражением печени после эпизода 15-минутной ишемии – В (n=12), группа с применением L-норвалина в дозировке 10 мг/кг внутрибрюшинно при ишемии-реперфузии – С (n=12), группа с применением адеметионина в дозе 400 мг/кг внутрибрюшинно при ишемии-реперфузии – D (n=12).

Ишемию печени воспроизводили путем наложения латексного турникета на аналог печеночно-двенадцатиперстной связки у крыс на 15 минут. L-норвалин и адеметионин вводили животным за 30 мин. до моделирования ишемии и повторно по возобновлении кровотока. Манипуляции выполнялись под общим обезболиванием (хлоралгидрат в дозе 300 мг/кг внутрибрюшинно). Забор крови производился через 24 часа после проведения эксперимента. Для оценки выраженности гепатоцеллюлярного повреждения определялась активность аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) кинетическим фотоколориметрическим способом на автоматическом биохимическом анализаторе «Виталаб Флексор Е» (Нидерланды) с использованием реагентов фирмы «Biocon» и «Human» (Германия). Для проведения гистологического исследования печени забирали участки размером 1 х 1 х 0,5 см в стандартных местах с последующим приготовлением гистологических микропрепаратов и окраской их гематоксилином и эозином по Ван Гизону, Мак Манусу и Паппенгейму.

На гистологических препаратах определяли большой и малый диаметр гепатоцитов и их ядер при помощи специальной установки «µVizo-103», вычисляли площадь поперечного сечения гепатоцитов, их ядер, цитоплазмы, ядерно-цитоплазматическое отношение гепатоцитов.

Результаты. Для определения сравнительной эффективности L-норвалина и адеметиона при влиянии на ишемический и реперфузионный синдром нами определена активность цитолитического синдрома. Активность АСТ у животных, перенесших ишемию-реперфузию печени, превышала показатели контрольной группы в 1,93 раза и составила 100,0±1,8 Ед/л в группе А и 193,0±27,1($p \leq 0,005$) Ед/л в группе В. В то же время активность АЛТ у животных, перенесших ишемию-реперфузию печени, превышала показатели интактной группы в 3,2 раза – соответственно 62,1±3,8 Ед/л у интактных и 196,8±26,9 Ед/л ($p \leq 0,05$), что свидетельствует о выраженном повреждении печени. При применении L-норвалина в дозировке 10 мг/кг внутрибрюшинно нами было отмечено снижение уровня активности АСТ в 1,6 раза и АЛТ в 3,33 раза, применение же адеметионина в дозировке 400 мг/кг приводило к снижению активности АСТ лишь в 1,1 раза, в то время как активность АЛТ падала в 2,7 раза по сравнению с группой В, что наглядно отображено в таблице.

Уменьшение активности трансаминаз, по нашему мнению, обусловлено уменьшением реперфузионного повреждения за счет нормализации кровотока в микроциркуляторном русле и регуляции сосудистого тонуса, к которому приводит угнетение аргиназы II, с последующим увеличением доступности L-аргинина и повышением концентрации NO, что благоприятно сказывается на функциональном статусе гепатоцита, в то время как адеметионин не оказывает существенного влияния на микроциркуляцию, исходя из механизма его действия.

Таблица

Результаты изучения влияния L-норвалина в дозировке 10 мг/кг и адеметионина в дозировке 400 мг/кг на активность печеночных транзаминаз при ишемии-реперфузии печени

Группы животных	*Уровень АСТ (Ед/л)*	*Уровень АЛТ (Ед/л)*
Интактные (группа А, n=12)	100,0±1,8	62,1±3,8
Ишемия/реперфузия (группа В, n=12)	193,0±27,1*	196,8±26,9*
L-норвалин в дозе 10 мг/кг (группа С, n=12)	120,0±2,9**	59,3±2,5**
Адеметионин в дозе 400 мг/кг (группа D, n=12)	174,9±6,5*	72,8±4,3**

Примечание: * – $p<0,05$ в сравнении с интактными, ** – $p<0,05$ в сравнении с ишемией-реперфузией.

Стандартное морфологическое исследование выявило в группе В без фармакокоррекции выраженные изменения ядер, проявляющиеся вакуолизацией, фрагментацией хроматина до полного исчезновения, с остатками хроматина по периферии ядра, с кариолизисом и кариопикнозом, резкий отек цитоплазмы с резко выраженной зернистой и жировой дистрофией, отек и резкое расширение пространств Диссе.

Отличительной чертой данной группы являются выраженные очаги субкапсулярных и перипортальных некрозов с регенераторными гипертрофическими гепатоцитами по периферии, средней площадью до 0,215±0,014 мм². По ходу портальных трактов отмечается диффузная лимфо-лейкоцитарная инфильтрация с участками ступенчатых некрозов. Гликоген в гепатоцитах расположен диффузно, имеется не во всех клетках. При иммуногистохимическом исследовании в гепатоцитах выявлена сниженная по сравнению с контрольной группой локальная экспрессия Bcl-2.

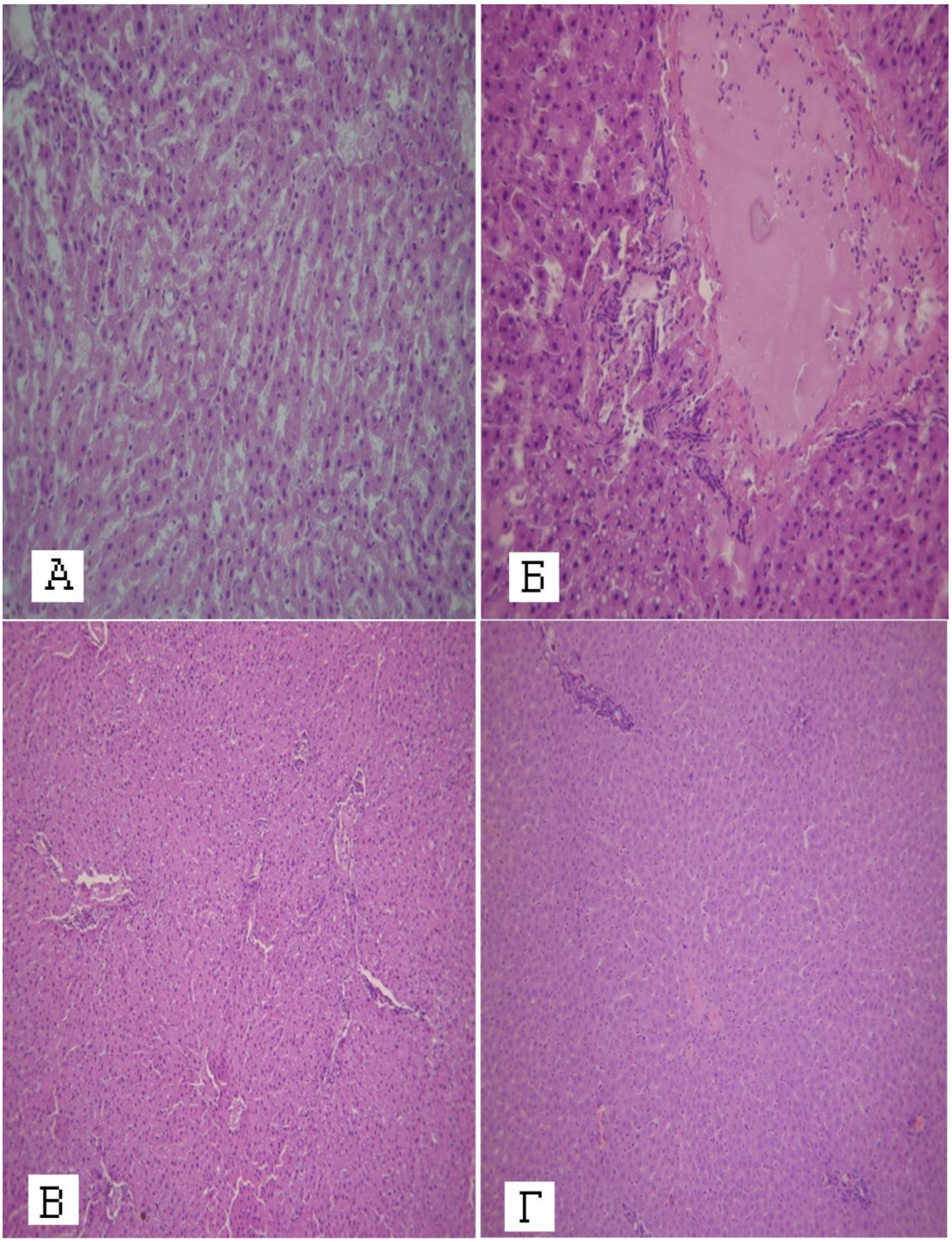


Рис. 1. Морфологические изменения в печени различных групп: группа А интактная - структура ткани печени сохранена, дольки и портальные тракты четкие (А), группа Б - структура нарушена, видны очаги некрозов, жировой инфильтрации гепатоцитов (Б), группа С - умеренные очаги некрозов, отек пространств Диссе (В), группа D - отек пространств Диссе, круглоклеточная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. Микрофото. Х 100.

Морфологические изменения в группе С, получавшей 10 мг/кг L-норвалина, в целом значительно менее выражены, чем в группе В. Так, отмечается умеренный отек и расширение пространства Диссе, лейкоцитарная инфильтрация портальных трактов, что заметно на рисунке. Острые некрозы с лимфоцитарной инфильтрацией имели меньшую площадь, в среднем составлявшую 0,186±0,011 мм². При иммуногистохимическом исследовании в гепатоцитах выявлена локальная экспрессия Bcl-2 от средней до умеренной степени выраженности.

Изменения в группе D хоть и носили менее выраженный характер, чем в контрольной группе, все же не достигали таковых в группе с применением L-норвалина в дозировке 10 мг/кг. Площадь некрозов была больше и составила 0,196±0,011 мм². Отек как самих гепатоцитов, так и пространств Диссе также выражен в большей степени, чем в группе С. При иммуногистохимическом исследовании в гепатоцитах выявлена сниженная локальная экспрессия Bcl-2.

Результаты морфологического исследования в сочетании с данными иммуногистохимического исследования фактора апоптоза Bcl-2 свидетельствуют о явной гепатопротекторной активности L-норвалина 10 мг/кг в отношении уменьшения повреждающего действия ишемии-реперфузии, причем активность L-норвалина выражена в большей степени, чем у адеметионина.

Морфометрические исследования больших и малых диаметров ядер гепатоцитов, ядерно-цитоплазматических взаимоотношений не выявили статистических различий между изучаемыми группами, что позволило сделать вывод о том, что данные изменения, на исследуемом сроке, не носят специфический характер.

Заключение. Полученные данные говорят о выраженной гепатопротекторной активности L-норвалина в дозе 10 мг/кг при ишемической и реперфузионной травме печени, реализующейся, с одной стороны, через изменение энергетического и функционального состояния гепатоцитов и через уменьшение повреждения и повышение экспрессии факторов антиапоптоза – с другой, причем протекторное действие L-норвалина имеет большую выраженность, чем у адеметионина в дозе 400 мг/кг. Таким образом, подавление активности аргиназ при реперфузии печени оказывает положительное защитное действие, приводя к активации синтеза NO, который, в свою очередь, улучшает переносимость и ишемического и реперфузионного повреждения.

Литература

1. Вишневский, В.А. Операции на печени / В.А.Вишневский, В.А. Кубышкин, А.В. Чжао, Р.З. Икрамов. – М., 2003.– 155 с.

2. Цепелева, С.А., Эндотелио- и кардиотропные эффекты L-норвалина в эксперименте / С.А. Цепелева, А.С. Белоус, О.С. Гудырев и др. // Материалы 76-й Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежная наука и современность». – Курск, 2011. – Ч.3. – С. 299 .

3. Цепелева, С.А. Роль L-норвалина в коррекции L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота / С.А. Цепелева, М.В. Покровский, М.В. Корокин и др. // Материалы V конгресса «Рациональная фармакотерапия и клиническая фармакология». – СПб. – Т. 1. – С. 294.

4. Bommarius, A.S. Drauz Bommarius K. An enzymatic route to L-ornithine from arginine — activation, selectivity, and stabilization of L-arginase / A.S. Bomm arius, K. Drauz Bommarius // Bioorganical and Medical Chemistry. – 1994. – Vol .2. – P. 617-626.

5. Chang, C.I. Arginase modulates nitric oxide production in activated macrophages / C.I. Chang, J.C. Liao, L. Kuo // Am J Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 1998. – Vol. 274. – P. 342-348.

6. Chicoine, L.G. Arginase inhibition increases nitric oxide production in bovine pulmonary arterial endothelial cells / L.G. Chicoine, M.L. Paffet, T.L. Young et al. // Am J Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol. – 2004. – Vol.287. – P. 60-68.

7. Jaeschke, H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning/ H. Jaeschke // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2003. – P. G15-G26.

8. Jassem, W. The role of mitochondria in ischemia/reperfusion injury / W. Jassem, S.V. Fuggle, M. Rela et al. // Transplantation. – 2002. – Vol. 73. – P. 493-499.

9. Jia, C. Advances in the regulation of liver regeneration. Expert Rev / C. Jia // Gastroenterol Hepatol. – 2011. – Vol. 5(1). – P. 105-121.

10. Kin, H. Inhibition of myocardial apoptosis by postconditioning is associated with attenuation of oxidative stress-mediated nuclear factor-kappa B translocation and TNF alpha release / H. Kin, N.P. Wang, J. Mykytenko et al. // Shock. – 2008. – Vol. 29(6). – P. 761-768.

11. Lauzier, B. Beneficial effects of myocardial postconditioning are associated with reduced oxidative stress in a senescent mouse model / B. Lauzier, S. Delemasure, R. Debin et al. // Transplantation. – 2008. – Vol. 85(12). – P. 1802-1808.

12. Pokrovsky, M.V. Arginase Inhibitor in the Pharmacological Correction of Endothelial Dysfunction / M.V. Pokrovsky, M.V. Korokin, S.A. Tsepeleva et al. // International Journal of Hypertension. – 2011. – PMCID:PMC3124670.

13. Raat, N.J. Effects of nitrite on modulating ROS generation following ischemia and reperfusion / N.J. Raat, S. Shiva, M.T. Gladwin // Adv Drug Deliv Rev. – 2009. – Vol. 61(4). – P. 339-350.

14. Reid, K. Liver I/R injury is improved by the arginase inhibitor, N-omega-hydroxy-nor-l-arginine (nor-NOHA) / K. Reid et al. // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2006. – Vol. 292. – P. G512-G517.

15. Sínay, L. Ischemic postconditioning reduces peroxide formation, cytokine expression and leukocyte activation in reperfusion injury after abdominal aortic surgery in rat model / L. Sínay, M. Kürthy, S. Horváth et al. // Clin Hemorheol Microcirc. – 2008. – Vol. 40(2). – P. 133-142.

16. Yuan, G.J. Modulation of liver oxidant-antioxidant system by ischemic preconditioning during ischemia/reperfusion injury in rats / G.J. Yuan, J.C. Ma, Z.J. Gong et al. // World J Gastroenterol. – 2005. – Vol. 11. – P. 1825-1828.

17. Zaouali, M.A. Hypoxia inducible factor-1alpha accumulation in steatotic liver preservation: role of nitric oxide / M.A. Zaouali, I. Ben Mosbah, E. Boncompagni et al. // World J Gastroenterol. – 2010. – Vol. 16(28). – P. 3499-3509.

18. Zhou, G. Hypoxia-induced alveolar epithelial-mesenchymal transition requires mitochondrial ROS and hypoxia-inducible factor 1 / G. Zhou, L.A. Dada, M. Wu et al. // Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. – 2009. – Vol. 297(6). – P. 1120-1130.

COMPARATIVE ANALYSIS OF L-NORVALINE AND ADEMETIONINE HEPATOPROTECTIVE ACTION EFFICACY IN ISCHEMIC AND REPERFUSION INJURY OF LIVER

D.V. LOPATIN [1], S.A. ALEHIN [1]
M.V. POKROVSKIY [2]
P.M. NAZARENKO [1]
V.P. TROSHIN [3], D.I. KOLMIKOV [1]
L.V. IVANOVA [1], V.D. LUTSENKO [2]
S.L. SPERANSKIY [2]

[1)] Kursk state medical university

[2)] Belgorod state national research university

[3)] Bryansk pathologic anatomy institute

e-mail: s_alehin@mail.ru

During the research it was determined that L-norvaline at 10 mg/kg has a hepatoprotective effect in comparison with ademetionine at 400 mg/kg showing an aminotransferase action lowering, antiapoptotic marker Bcl-2 expression diminishing and liver necrotic areas and neutrophilic infiltration reduction.

Keywords: ischemia, reperfusion, liver, arginase inhibitor, L-norvaline, ademetionine.

УДК 577.112.34:615.22:616.137.83-005.4-092.9

ПРОБЛЕМА ХИРУРГИИ ИШЕМИИ КОНЕЧНОСТИ: СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНГИОГЕННОГО ЭФФЕКТА L-АРГИНИНА И VEGF – ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ

В.Д. ЛУЦЕНКО [1]
С.Л. СПЕРАНСКИЙ [1]
В.Ф. КУЛИКОВСКИЙ [1]
Н.В. ОЛЕЙНИК [1], М.А. ЕВСЕЕВ [2]
И.В. СУХОТЕРИН [1]
Е.Б. АРТЮШКОВА [3]

[1] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

[2] Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова

[3] Курский государственный медицинский университет

e-mail: lutsenko@bsu.edu.ru

Экспериментальная работа проведена на 24 крысах самцах линии Wistar. Кровообращение в конечностях оценивалось методами лазерной допплеровской флоуметрии (ЛДФ) и иммуногистохимической визуализации сосудов в срезах мышц голени. Моделирование ишемии задней конечности осуществляли путем иссечения бедренной артерии. Лечение проводили при помощи внутримышечных инъекций раствора плазмиды с геном VEGF и внутрибрюшинного введения L-аргинина в дозе 200 мг/кг. В контрольной группе вводили 0,9% раствор хлорид натрия. Результаты оценивали на 14-е сутки. В группах, получавших L-аргинин и VEGF, отмечено увеличение числа сосудов по сравнению с группой плацебо, а уровень перфузии был достоверно выше только у животных, получавших L-аргинин.

Ключевые слова: ангиогенез, эндотелиальный фактор роста, экспериментальная ишемия.

Распространенность хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей составляет более 20% от всех видов сердечно-сосудистой патологии, что соответствует 2-3% от всей численности населения и 35-50% от численности лиц старше 60 лет. По данным Г.Р. Галстян (2006), распространенность данной патологии составляет 9-10% среди лиц старше 50 лет [2]. Несмотря на внедрение эффективных методов медикаментозного лечения, хирургической и эндоваскулярной реваскуляризации, в ряде случаев результаты лечения остаются неудовлетворительными.

В последнее время отмечается распространение нового метода лечения ишемических состояний – терапевтического ангиогенеза, который основан на применении различных факторов роста сосудов в ишемизированных тканях [9]. Основным фактором, использующимся сегодня, остается VEGF [10, 11]. Механизм ангиогенного эффекта VEGF обусловлен его способностью селективно стимулировать миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток, экспрессию в них активаторов плазминогена, увеличивать сосудистую проницаемость, вызывать вазодилатацию, привлекать моноциты и стимулировать мобилизацию прогениторных клеток из костного мозга [11]. Основным регулятором экспрессии VEGF является гипоксия [7]. Оксид азота, аденозин и простагландины также могут влиять на его экспрессию различными клетками [5]. Увеличение образования оксида азота в ишемизированных тканях также приводит к стимуляции ангиогенеза [1].

Целью настоящего исследования явилась оценка ангиогенного эффекта L- аргинина и сравнение его с эффектом VEGF в виде плазмидной генетической конструкции при экспериментальной ишемии конечности у крыс.

Материалы и методы. Экспериментальная работа выполнена на 24 крысах самцах линии Wistar со средней массой тела 230-250 г. Животные были разделены на 4 группы по 6 крыс в каждой. Характеристика групп представлена в таблице.

Таблица

Характеристика групп животных

Группы	n	*Характеристика*	*Методы исследования*
Интактная	6	Здоровые животные	Морфологический
Плацебо	6	Моделирование ишемии + 0,9% раствор NaCl в/м на 5-е сут.	Морфологический
VEGF	6	Моделирование ишемии + VEGF на 5-е сут. в/м	Морфологический
L-аргинин	6	Моделирование ишемии + L-аргинин 200 мг/кг на 2-е сут.	Морфологический

Моделирование ишемии задней конечности крыс проводили в асептических условиях под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг внутрибрюшинно), путем удаления бедренной артерии на всем ее протяжении от паховой связки до бифуркации на a. poplitea и a. saphenus.

Оценку кровообращения в конечности осуществляли методом лазерной допплеровской флоуметрии на 14-е сутки после операции моделирования ишемии. ЛДФ проводили при помощи аппарата Biopac System (USA) и датчика (точечного) TSD-144. Под наркозом на латеральной поверхности голени иссекали участок кожи, обнажали наружную группу мышц. Запись уровня микроциркуляции осуществляли в пяти точках, соответствующих середине длины m. tibialis anterior; точках, отстоящих от первой на 3-5 мм выше, ниже, латеральнее и медиальнее. Обработка данных осуществлялась программой AcqKnowledge 3.8. Величины уровня микроциркуляции в различных группах оценивали в качестве абсолютных показателей, а также рассчитывали относительную величину уровня микроциркуляции в оперированной конечности путем соотнесения с результатами ЛДФ на противоположной стороне.

Плазмиды гена VEGF вводили на 5-е сутки после операции. Процедуру осуществляли под наркозом. Инъекцию раствора плазмиды в стерильном фосфатно-солевом буфере вводили путем транскутанной внутримышечной инъекции в m. tibialis anterior. Раствор объемом 250 мкл с содержанием плазмидной ДНК 250 мкг вводили в пять точек (по 50 мкл в каждую точку). Точками для введения служили середина длины мышцы, точки, отстоящие от первой на 3-5 мм (в зависимости от величины животного) выше, ниже, латеральнее и медиальнее от первой. Введение физиологического раствора в группе плацебо-контроля осуществляли аналогично (пять инъекций по 50 мкл под наркозом) на 5-е сутки после операции моделирования ишемии конечности.

L-аргинин («Ajinomoto Co. INC.», Japan) вводили внутрибрюшинно в виде водного раствора в дозе 200 мг/кг на 2-е сутки после операции моделирования ишемии конечности.

Иммуногистохимическая визуализация сосудов осуществлялась на срезах мышц голени крысы моноклональными антителами к CD 31 (BD). Подсчет сосудов на окрашенных гистологических срезах мышц крысы осуществляли на микроскопе Zeiss Axiovert 200M при увеличении х20. На 5 срезах, сделанных на разных уровнях мышцы, обсчитывали по 5 полей зрения. Данные для каждого животного усредняли.

Результаты флоуметрического и иммуногистохимического исследований статистически обработаны при помощи программного пакета Microsoft Office XP.

Результаты и их обсуждение. Кровоток в мышцах голени здоровых крыс составлял 373,12±11,46 п.е., а среднее количество сосудов в мышцах составляло 862,17±67,93 в поле зрения (п/з). В группе с моделированием ишемии конечностей, получавшей 0,9% раствор хлорида натрия (плацебо-контроль), перфузия мышц кровью достоверно снижалась в среднем до 242,42±10,51 п.е. ($p<0,001$) по сравнению с ее уровнем в конечностях у интактных животных, а число сосудов уменьшалось почти вдвое, составляя 493,50±49,7 в п/з ($p<0,01$).

В группе, получавшей инъекции плазмиды с геном VEGF, уровень перфузии составил 237,69±7,77 п. е., что не отличается от значений в контрольной группе. Относительные величины уровня перфузии (процент от уровня в интактной контралатеральной конечности) в этих группах также не различались (63,24% и 62,55% соответственно, $p>0,5$). Иная картина наблюдалась при анализе плотности сосудов. В группе, получавшей генную терапию VEGF, среднее количество сосудов в поле зрения было увеличено более чем в два раза по сравнению с контролем и составило 1203,67±193,28 сосудов в п/з ($p<0,01$).

В группе, получавшей L-аргинин, уровень микроциркуляции на 14-е сутки составил 271,84,13±10,94 п.е., или 69,76% по отношению к здоровой конечности, а плотность сосудов – 830,14±110,99 в п/з, что достоверно превышало эти показатели в группе плацебо ($p<0,05$).

Результаты флоуметрического и иммуногистохимического исследований однозначно свидетельствуют о том, что выбранная модель экспериментальной ишемии позволяет адекватно воспроизвести экспериментальную ишемию у крыс. Отмечается достоверное снижение перфузии и плотности сосудов в ишемизированных мышцах голени крысы. После операции моделирования ишемии конечности у животных наблюдались акральные некрозы, артериальные трофические язвы, гангрена, ишемический отек конечности и болевой синдром.

Достоверные различия по уровню перфузии между группой плацебо и группой, получавшей L-аргинин, совпадают с литературными данными о стимулирующем влиянии L-аргинина на активность кровообращения в микроциркуляторном русле [6]. При проведении ЛДФ в группе, получавшей L-аргинин, на 30-е сутки величина уровня микроциркуляции составляет 394,00±24,22 п.е., или 91,67% по отношению к контралатеральной конечности. То есть можно говорить о почти полном восстановлении микроциркуляции под влиянием

лечения, в то время как в контрольной группе данный показатель составляет 62,5%. Эти результаты совпадают с теми, которые мы наблюдали в предыдущих опытах, когда L-аргинин способствовал восстановлению кровообращения в конечности [1]. Подобный фармакологический эффект L-аргинина объясняется наличием у него свойств донора оксида азота – под влиянием эндотелиальной NO-синтазы из него образуется монооксид азота, который оказывает вазодилатирующее и эндотелиопротективное действие, что создает оптимальные условия для неоангиогенеза [8]. Стимуляция неоангиогенеза наблюдалась как при введении плазмиды с VEGF, так и при введении L-аргинина. Однако увеличение перфузии конечности было незначительным в группе с введением L-аргинина и вообще отсутствовало на 14-е сутки в группе с введением VEGF. Возможно, эти противоречия могут быть обусловлены тем, что большинство новообразованных сосудов временно не являются функционирующими. Ранее мы наблюдали значимый эффект L-аргинина, который регистрируется лишь к 28-м суткам наблюдения [3].

Полученные данные позволяют объективно говорить о том, что L-аргинин при системном введении способен активировать неоангиогенез и улучшать перфузию ишемизированных мышц. Отсутствие у L-аргинина побочных эффектов и значимое антиишемическое действие делают целесообразным применение препарата у пациентов с хронической ишемией конечностей и диктуют необходимость дальнейших экспериментальных и клинических испытаний.

Выводы.

1. Используемая модель позволяет воспроизвести хроническую ишемию в эксперименте, наличие которой регистрируется при помощи флоуметрического и морфологического методов.
2. VEGF при внутримышечном введении в зону ишемии способствует росту кровеносных сосудов, что регистрируется на 14-е сутки.
3. L-аргинин при системном введении в дозе 200 мг/кг при хронической ишемии способствует активации кровообращения и росту кровеносных сосудов, что регистрируется на 14-е сутки.
4. Механизмом действия L-аргинина является неоангиогенный эффект. Значимую роль в лечебном эффекте L-аргинина играет эндогенный метаболит – оксид азота.

Литература

1. Артюшкова, Е.Б. Возможности фармакологической коррекции хронической ишемии конечности в эксперименте / Е.Б. Артюшкова, Д.В. Пашков, Б.С. Суковатых и др. // Кубанский научно-медицинский вестник. – 2007. – № 1-2. – С. 19-22.
2. Галстян, Г.Е. Алгоритм диагностики и лечения заболеваний артерий нижних конечностей / Г.Е. Галстян // Consilium-Medicum. – 2006. – Т. 8, №12. – С. 34-38.
3. Суковатых, Б.С. Экспериментальное и клиническое обоснование применения реваскуляризирующей остеомиопластики для лечения критической ишемии нижних конечностей / Б.С. Суковатых, Л.Н. Беликов, А.Н. Щербаков, К.С. Магомедалиева, Д.В. Пашков, В.В. Князев // Вестн. хир. им. Грекова. – 2006. – № 4. – С. 24-26.
4. Brevetti, L.S Overexpression of endothelial nitric oxide synthase increases skeletal muscle blood flow and oxygenation in severe rat hind limb ischemia / L.S. Brevetti, D.S. Chang, G.L. Tang et al. // J Vase. Surg. – 2003. – Vol. 38. – P. 820-26.
5. Ferrara, N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress / N. Ferrara // Endocr. Rev. – 2004. – Vol. 25(4). – P. 581-611.
6. Huk, I. L-Arginine Treatment Alters the Kinetics of Nitric Oxide and Superoxide Release and Reduces Ischemia/Reperfusion Injury in Skeletal Muscle / I. Huk et al. // Circulation. – 1997. – Vol. 96. – P. 667-675.
7. Liu, L. Regulation of transcription and translation by hypoxia / L. Liu, M.C. Simon // Cancer Biol. Ther. – 2004. – Vol. 3(6). – P. 492-497.
8. Mendoza, M G. Nitric oxide-dependent neovascularization role in the lower extremity disease / M.G. Mendoza, H.V. Robles, E. Romo et al. // Curr Pharm Des. – 2007. – Vol. 13(35). – P. 3591-3596.
9. Rissanen, T.T. Current status of cardiovascular gene therapy / T.T. Rissanen, S. Yla-Herttuala // Mol. Ther. – 2007. – Vol. 15. – P. 1233-1247.
10. Tirziu, D. Angiogenesis in the human heart: Gene and cell therapy / D. Tirziu, M. Simons // Angiogenesis. – 2005. – Vol. 8. – P. 241-251.
11. Yla-Herttuala, S. Vascular endothelial growth factors: biology and current status of clinical application in cardiovascular medicine / S. Yla-Herttuala, T.T. Rissanen, I. Vajanto // JMCC. – 2007. – Vol. 49. – P. 1015-1026.

THE PROBLEM OF LIMB ISCHEMIA SURGERY: COMPARATIVE STUDY OF ANGIOGENIC EFFICACY OF L-ARGININE AND VEGF – VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR

V.D. LUTSENKO [1]
S.L. SPERANSKIY [1]
V.F. KULIKOVSKIY [1]
N.V. OLEINIK [1]
M.A. EVSEEV [2]
I.V. SUHOTERIN [1]
E.B. ARTYUSHKOVA [3]

1) Belgorod state national research university

2) First Moscow state medical university of I.M. Sechenov

3) Kursk state medical university

e-mail: lutsenko@bsu.edu.ru

The tentative research was made in 24 rats, Wistar line. The microcirculation level was evaluated in Laser-Doppler flowmetry method and by immunohystochemical visualization of the vessels in the muscles. The chronic ischemia was modeling by cutting out of the femoral artery. The intramuscular introduction of VEGF and intraperitoneal introduction of L-arginine 200 mg/kg were used for treatment. The isotonic solution of NaCl was used in control group. The results were valued in 14-th day. The vessels number increased in groups treated by VEGF and L-arginine. It was statistical difference in microcirculation level between control group and group that was treated with L-arginine.

Keywords: angiogenesis, endothelial growth factor, experimental ischemia.

УДК 612.273.2:615.21

ПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ БЕМИТИЛА И ЭТОМЕРЗОЛА В ПЕРИОД РЕОКСИГЕНАЦИИ ПОСЛЕ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

Е.Н. ПАШИН

Курский государственный медицинский университет

e-mail: epach@yandex.ru

В период реоксигенации после 3-минутной однократной гипоксии бемитил и этомерзол оказывали выраженное защитное действие на миокард, что выражалось в более полном восстановлении развиваемого давления, максимальной скорости сокращения и максимальной скорости расслабления, интенсивности функционирования структур, предупреждении развития брадикардии. Указанные протективные эффекты сочетались с более высокими значениями коэффициента восстановления в сравнении с контролем. В период реоксигенации после двукратной гипоксии бемитил и этомерзол также проявляли кардиопротективное действие.

Ключевые слова: гипоксия, реоксигенация, бемитил, этомерзол.

Введение. В последнее время коронарная недостаточность рассматривается как совокупность двух патогенных синдромов – ишемического и реперфузионного, а не только одного ишемического [1, 4, 5]. Анализ и сопоставление клинических и экспериментальных данных привели к заключению о том, что возможность пролонгирования и даже потенцирования степени повреждения ранее ишемизированного миокарда в условиях его реперфузии и реоксигенации представляет реальное и распространенное явление в кардиопатологии человека [1, 4, 9].

В основе развития постишемического реперфузионного синдрома лежит повреждение мембран и ферментов кардиомиоцитов и эндотелия сосудов в результате интенсификации ПОЛ, обусловленных постишемической гипероксией миокарда и притоком прооксидантов, повышением мембраносвязанных и солюбилизированных фосфолипаз, разрушающее действие амфифильных соединений и вымывание из реперфузируемого миокарда ионов, ферментов и других макро- и микромолекулярных соединений [1, 2, 4, 7].

Перспективными в качестве средств защиты миокарда при ишемических и реперфузионных повреждениях являются антигипоксанты – производные бензимидазола [6].

Учитывая изложенное, **целью** наших исследований явилось изучение кардиопротективной активности производных бензимидазола – бемитила и этомерзола – на моделях однократной и двукратной 3-минутной острой гипоксии у крыс с последующей реоксигенацией.

Материалы и методы. Модель острой гипоксии с последующей реоксигенацией была разработана и внедрена в научно-исследовательскую работу сотрудниками кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета для изучения кардиопротективного действия лекарственных средств и широко использовалась при исследовании кардиотропной фармакологической активности антиоксидантов, антигипоксантов, гипотензивных средств [3].

Эксперименты проводили на белых крысах линии Вистар обоего пола массой 200-260 г. Наркотизированным этаминал-натрием (40 мг/кг внутрибрюшинно) животным проводили трахеостомию и переводили их на искусственную вентиляцию легких с помощью аппарата искусственного дыхания для мелких лабораторных животных «АИД».

После торакотомии по парастернальной линии для регистрации левожелудочкового давления и его первой производной (±dp/dt) в полость левого желудочка вводили канюлю, соединенную с датчиком давления P23ID (Швеция) и электроманометром МСК-301 (Польша). Гипоксию моделировали путем отключения аппарата искусственной вентиляции легких. Опыты проводили по следующей схеме: исход → 3 мин. гипоксии → 20 мин. реоксигенации.

Синхронную запись левожелудочкового давления (ЛЖД) и ±dp/dt осуществляли на самописце Н-338-8П. Указанные параметры регистрировали в исходе, а также на 5, 10, 15 и 20-й мин. реоксигенации.

Защитное действие бемитила изучали в дозах 20 и 40, а этомерзола – 10 и 20 мг/кг. Исследуемые средства вводили внутрибрюшинно за 30 минут до опыта на изотоническом

растворе натрия хлорида в объемах 0,1-0,5 мл. Животным контрольной серии вводили изотонический раствор натрия хлорида в аналогичных объемах.

Рассчитывали следующие показатели:

- ИФС (интенсивность функционирования структур) – произведение давления, развиваемого левым желудочком (РД), и ЧСС, при этом под РД понималась разница максимального левожелудочкового давления за исключением конечно-диастолического давления;
- TTI (индекс «напряжение-время», равный интегралу давления в полости левого желудочка сердца за период изгнания крови);
- Vmax = [(+dp/dtmax)]/РД (индекс Sonnenblick, Из);
- ПРС (показатель работы сердца) – рассчитывали по формуле TTI x Vmax x ЧСС;
- Кв (коэффициент восстановления) – рассчитывали по формуле ∑ПРСр/(ПРСисх x 20), где ПРСр – показатель работы сердца в период реоксигенации, ПРСисх – показатель работы сердца до гипоксии.

Поскольку работа сердца прямо пропорциональна таким показателям, как TTI, контрактильность (или индекс Sonnenblick, Из) и частота сердечных сокращений (ЧСС) [8], нами был рассчитан показатель работы сердца (ПРС), представляющий собой произведение TTI, Из и ЧСС. Рассчитав ПРС в период реоксигенации, мы могли определить коэффициент восстановления (Кв), рассчитанный по соответствующим формулам (см. выше).

Для накопления повреждения проводили повторную гипоксию с последующей реоксигенацией. При этом схема эксперимента выглядела следующим образом: исход → 3 мин. гипоксии → 40 мин. реоксигенации → 3 мин. гипоксии → 20 мин. реоксигенации.

Результаты исследования и их обсуждение. В контрольной серии экспериментов период реоксигенации после однократной 3-минутной гипоксии характеризовался повышением показателей сократимости миокарда (табл. 1). Однако восстановление функциональной активности сердца не достигало исходного уровня. Так, значения давления, развиваемого левым желудочком, (РД) на 5 и 10-й мин реоксигенации на 16,5±3,8% и 15,2±3,5% соответственно были ниже, чем в исходе. В дальнейшем наблюдалось умеренное повышение данного параметра и к 20-й мин. реоксигенации снижение РД в сравнении с исходом составляло 9,9±1,6%. Влияние предшествующей 3-минутной гипоксии на максимальную скорость сокращения ($+dp/dt_{max}$) и максимальную скорость расслабления ($-dp/dt_{max}$) миокарда левого желудочка сердца было более выраженным, нежели на РД. Это характеризовалось их меньшей способностью к восстановлению в период реоксигенации: зарегистрированный уровень $+dp/dt_{max}$ (-20,7±6,5%) и $-dp/dt_{max}$ (-30,3±4,6%) на 5-й мин. реоксигенации практически не изменялся на протяжении всего периода наблюдения и к 20-й мин. был на 31,5±3,5 и 35,4±7,7% был ниже исходных значений. Выраженная брадикардия, наблюдаемая к 3-й мин. гипоксии, в период реоксигенации значительно уменьшалась. Однако уровень ЧСС на 5-й мин. после восстановления дыхания был на 21,6±8,3% ниже в сравнении с исходным уровнем. Дальнейший период наблюдения характеризовался снижением ЧСС, уровень падения которого к 20-й мин. реоксигенации составил 48,3±7,2%. Кроме того, в период реоксигенации наблюдалось восстановление ИФС. Так, уровень указанного параметра к 5-й мин. восстановления дыхания был ниже исходного уровня на 21,3±6,4%. Но уже к 10-й мин. реоксигенации отмечалось снижение ИФС на 42,3±7,9% и в последующие периоды наблюдения (на 15 и 20-й мин.) он не претерпевал существенных изменений.

При предварительном введении (за 30 мин. до гипоксии) бемитила в дозе 20 мг/кг в период реоксигенации отмечалось более выраженное восстановление РД (табл. 1) в сравнении с контролем на 5-й мин. наблюдения, что подтверждается возрастанием этого показателя на 8,0±3,% от исходного уровня. В дальнейшие периоды наблюдения РД не отличалось от таковой в контрольной серии наблюдения. Высокие значения развиваемого левым желудочком давления на 5-й мин. после восстановления дыхания сочетались с достоверно белее высокими значениями максимальной скорости сокращения ($+dp/dt_{max}$) и максимальной скорости расслабления ($-dp/dt_{max}$). Так, в указанный период наблюдения они возрастали соответственно на 7,0±35 и 3,0±4,5% от исхода, тогда как в контроле регистрировалось снижение этих параметров ($P<0,05$). ЧСС под влиянием бемитила (20 мг/кг) превышала ее уровень в контрольной серии экспериментов и практически не отличалась от исходных значений на протяжении всего периода реоксигенации (табл. 1). Указанные изменения параметров сократимости сопровождались более высокими значениями ИФС, которая была достоверно выше в сравнении с контролем в течение 15 мин. реоксигенации, а на 5-й мин. превышала ее уровень, регистрируемый в исходном состоянии (табл. 1).

Увеличение дозы бемитила до 40 мг/кг приводило к повышению его кардиопротективного действия в период реоксигенации после однократной острой гипоксии.

Об этом свидетельствуют достоверно более высокие значения РД на 5 и 10-й мин. наблюдения, а также более высокие значения максимальной скорости сокращения (+dp/dt$_{max}$), наблюдающиеся на всем протяжении реоксигенации, и максимальной скорости расслабления (-dp/dt$_{max}$) миокарда, наблюдавшиеся на протяжении 10 мин. реоксигенации (табл. 1). Так, +dp/dt$_{max}$ к 20-й мин. восстановления снижалась только на 16,2±4,0% от исхода, тогда как в контроле – на 35,5±3,5%. ЧСС под влиянием бемитила (40 мг/кг), как и под влиянием бемитила в дозе 20 мг/кг, значительно превышала уровень ЧСС, наблюдавшийся в контрольной серии экспериментов, на всем протяжении периода наблюдения. О выраженном кардиопротективном действии исследуемого вещества говорят и значения интенсивности функционирования структур. Так, на 5-й мин. реоксигенации ИФС превышала на 25,6±4,6% уровень показателя в исходе, а на 10, 15 и 20-й мин. хотя и уменьшалась ниже исходного уровня (-6,6±4,5, -10,4±4,0 и -20,6±3,3% соответственно), однако оставалась выше в сравнении с контролем.

Таблица 1

Влияние бемитила и этомерзола на сократимость миокарда в период реоксигенации после однократной 3-минутной гипоксии (в % от исходного уровня, M±m)

Показатели	*Серии опытов*	*Время реоксигенации*			
		5-я мин.	*10-я мин.*	*15-я мин.*	*20-я мин.*
РД	I	+8,0±3,0*	-9,1±3,2	-19,0±3,2	-29,0±4,1*
	II	+18,6±3,2*	-4,2±2,0*	- 8,2±2,7	-14,1±3,1
	III	+4,6±2,0*	-1,4±3,1*	-13,2±3,5	-26,2±5,3*
	IV	+7,0±3,3*	+4,9±3,3*	-6,1±3,4	-1,2±2,3*
	V	-16,5± 3,8	-15,2±3,5	-10,0±5,4	-9,9±1,6
+dp/dt$_{max}$	I	+7,0±3,5*	-10,6±2,4*	-23,0±4,2	-29,3±4,2
	II	+18,1±3,6*	-2,3±4,2*	-10,3±3,3*	-16,2±4,0*
	III	+4,8±3,6*	-3,0±4,1*	-16,0±4,0	-27,3±4,1
	IV	+7,0±3,1*	+2,4±4,4*	-8,0±3,5*	-5,3±4,4*
	V	-20,7±6,5	-20,3±1,9	-26,7±3,5	-31,5±3,5
- dp/dt$_{max}$	I	+3,0±4,5*	-14,1±3,5*	-26,1±4,5	-30,2±3,5
	II	+12,1±4,5*	-7,0±3,3*	-11,1±4,3	-18,2±3,5
	III	+2,5±4,3*	-9,1±3,5*	-22,1±4,4	-29,1±4,2
	IV	+4,4±5,3*	+0,4±4,0*	-9,5±4,2*	-8,4±4,1*
	V	-30,3±4,6	-30,3±4.2	-32,1±7,8	-35,7±7,7
ЧСС	I	+5,3±3,1*	+1,8±3,3*	+1,7±4,2*	-1,1±3,3*
	II	+5,8±3,3*	-1,1±4,2*	-2,5±3,1*	-6,6±3,6*
	III	+7,7±2,6*	-7,7±3,8*	-6,3±4,2*	-4,1±4,5*
	IV	+10,0±4,0*	+3,1±4,1*	-1,0±3,6*	-10,0±4,1*
	V	-21,6±8,3	-41,8±6,8	-45,5±5,8	-48,3±7,2
ИФС	I	+13,4±4,5 *	-9,0±4,1*	-19,3±4,5*	-38,5±4,3
	II	+25,6±4,6*	-6,6±4,5*	-10,4±4,0*	-20,6±3,3*
	III	+11,5±5,1*	-8,3±4,3*	-18,5±5,1*	-30,5±4,2
	IV	+17,3±5,0*	+7,1±4,6*	-7,2±4,4*	-10,5±4,7*
	V	-21,3±6,4	-42,3±7,9	-41,1±7,1	-43,2±7,8

Примечание: I – бемитил в дозе 20 мг/кг; II – бемитил в дозе 40 мг/к; III – этомерзол в дозе 10 мг/кг; IV – этомерзол в дозе 20 мг/кг; V – контроль. РД – давление, развиваемое левым желудочком; +dp/dt$_{max}$ и - dp/dt$_{max}$ – максимальные скорости сокращения и расслабления левого желудочка; ЧСС – частота сердечных сокращений; ИФС – интенсивность функционирования структур. Индексом * отмечены значения при P<0,05 в сравнении с контролем.

Кардиопротективное действие этомерзола в дозе 10 мг/кг характеризовалось более высокими в сравнении с контролем значениями РД на 5 и 10-й мин. наблюдения, достоверно значимыми отличиями +dp/dt$_{max}$ и -dp/dt$_{max}$ миокарда в течение 10 мин. реоксигенации. Это сочеталось с более высокими значениями ЧСС (табл. 1) и определяло достоверно более высокие значения ИФС, зарегистрированные на 5, 10 и 15-й мин. реоксигенации.

Увеличение дозы этомерзола до 20 мг/кг приводило к повышению кардиопротективного действия. Достоверно более высокие значения РД регистрировались на протяжении 10 мин. наблюдения, а +dp/dt$_{max}$ и -dp/dt$_{max}$ в течение всего периода реоксигенации. Так, +dp/dt$_{max}$ и -dp/dt$_{max}$ к 20-й мин. восстановления незначительно отличались от их исходного уровня и составляли соответственно -5,3±4,4 и -8,4±4,1 от исхода. ЧСС под влиянием этомерзола (20 мг/кг) превышала уровень контрольной серии в течение

всего периода наблюдения. Это сочеталось с достоверно более высокими показателями ИФС в сравнении с контрольной серией экспериментов в течение всего периода реоксигенации. Так, на 5-й мин. наблюдения ИФС превышала исходный уровень (+17,3±5,0%), а в течение последующих 15 мин. наблюдения практически не отличалась от исходных значений и к 20-й мин. реоксигенации составляла -10,5±4,7% от исхода.

При накоплении гипоксического повреждения (двукратная гипоксия) в период возобновления оксигенации достоверно более высокие значения ИФС в сравнении контролем наблюдались при использовании бемитила в дозе 40 мг/кг и этомерзола в дозах 10 и 20 мг/кг (табл. 2). Следует отметить, что защитное действие препаратов реализовывалось, начиная с 10-й мин. наблюдения. При этом этомерзол в дозе 20 мг/кг приводил к более продолжительному эффекту: более высокие значения ИФС регистрировались на 10, 15 и 20-й мин. наблюдения. Под влиянием этомерзола в дозе 10 мг/кг достоверно более высокие значения ИФС отмечены на 10 и 15-й, а под влиянием бемитила в дозе 40 мг/кг – на 10 и 20-й мин. реоксигенации.

Таблица 2

Влияние бемитила и этомерзола на интенсивность функционирования структур в период реоксигенации после повторной гипоксии (в % от исходного уровня, M±m)

Показатели	*Серии опытов*	*Время реоксигенации после повторной гипоксии*			
		5-я мин.	*10-я мин.*	*15-я мин.*	*20-я мин.*
ИФС	I	-23,2±5,1	-33,2±5,2	-51,1±5,6	-57,5±5,6
	II	-20,1±4,8	-18,1±5,3*	-38,1±5,5	-45,5±5,5*
	III	-18,4±5,5	-24,2±4,9*	-33,9±5,6*	-52,5±5,3
	IV	-13,5±4,8	-13,8±5,1*	-14,9±5,0*	-36,4±5,7*
	V	-24,4±6,4	-42,4±6,1	-52,7±5,4	-68,5±5,9

Примечание: I – бемитил в дозе 20 мг/кг; II – бемитил в дозе 40 мг/к; III – этомерзол в дозе 10 мг/кг; IV – этомерзол в дозе 20 мг/кг; V – контроль. V – контроль. Индексом * отмечены значения при P< 0,05 в сравнении с контролем. ИФС – интенсивность функционирования структур.

В контрольной серии экспериментов в результате развивавшейся фибрилляции левого желудочка и остановки сердца в период реоксигенации после двукратной гипоксии в 4 случаях из 10 происходила гибель животных на 7-10-й мин. после восстановления дыхания. Во всех опытах с применением бемитила и этомерзола при повторной гипоксии гибели животных, как в период острой гипоксии, так и в период реоксигенации, не происходило, что само по себе говорит о кардиопротективной активности указанных соединений.

Расчеты показателя работы сердца (ПРС) и коэффициента защиты (Кз) в опытах с однократной гипоксией показали, что как бемитил, так и этомерзол приводят к большему в сравнении с контролем восстановлению работоспособности миокарда в период реоксигенации, о чем свидетельствуют достоверно более высокие значения ПРС и коэффициента восстановления (Кв) (табл. 3). Так, Кв в контрольной серии составил 0,51, тогда как под действием исследуемых препаратов он не опускался ниже 0,8, достигая максимума (0,87) при введении этомерзола в дозе 20 мг/кг.

При реоксигенации после двукратной гипоксии в контрольной серии наблюдалось снижение Кв (0,43) и менее выраженное восстановление ПРС. Протективное действие исследуемых веществ характеризовалось более выраженным восстановлением ПРС в сравнении с контролем и более высокими значения Кв. Наибольшее значение Кв имел при введении этомерзола в дозе 20 мг/кг. При введении этомерзола в дозе 10 мг/кг и бемитила в дозах 20 и 40 мг/кг значения Кв были ниже, однако их уровень превышал значение этого показателя в контрольной серии экспериментов (табл. 3).

Таким образом, в период реоксигенации после 3-минутной первичной острой гипоксии этомерзол оказывал выраженное защитное действие на миокард, которое выражалось в более полном восстановлении РД, максимальной скорости сокращения и максимальной скорости расслабления, предупреждении развития брадикардии. Все это обусловило более высокие значения ИФС под влиянием вещества в периоды наблюдения, начиная с 5-й мин. При этом повышение дозы вещества с 10 до 20 мг/кг приводило к повышению выраженности защитного эффекта. Указанные протективные эффекты этомерзола сочетались с более высокими значениями коэффициента восстановления в сравнении с контролем. При конденсации гипоксического повреждения этомерзол также проявлял выраженное протективное действие, о чем свидетельствуют значения Кв. Достоверно более высокие значения показателей сократимости и, следовательно, ИФС в сравнении с контролем регистрировались в течение 10

мин. наблюдения при введении этомерзола в дозе 10 мг/кг и в течение 15 мин. при введении его в дозе 20 мг/кг.

Бемитил при однократной гипоксии не уступал этомерзолу и оказывал защитное действие на миокард во время реоксигенации. Наибольшее протективное действие отмечено при введении бемитила в дозе 40 мг/кг, которое проявилось более значимым по сравнению с контролем восстановлением сократительной активности и ИФС на 5-20-й мин. наблюдения. При двукратной гипоксии защитный эффект бемитила проявлялся только в дозе 40 мг/кг и по Кв он уступал этомерзолу в дозе 20 мг/кг. На ИФС в период реоксигенации после повторной гипоксии этомерзол также оказывал более выраженное действие.

Таблица 3

Влияние бемитила и этомерзола на показатель работы сердца (ПРС) и коэффициент восстановления (Кв) в периоды реоксигенации после однократной и повторной гипоксии (в % от исходного уровня, M±m)

Показатели	*Серии опытов*	*Время реоксигенации*			
		5-я мин.	*10-я мин.*	*15-я мин.*	*20-я мин.*
Реоксигенация после однократной гипоксии					
ПРС	I	+6,2±4,2*	-12,3±4,4*	-23,3±5,1*	-42,5±4,2*
	II	+15,1±4,3*	-10,1±4,5*	-14,9±4,6*	-28,3±4,5*
	III	+4,2±4,3*	-12,8±4,5*	-26,3±4,8*	-38,9±5,0*
	IV	+10,6±4,2*	-1,2±4,8*	-11,4±4,6*	-14,9±5,1*
	V	-32,2±5,3	-44,7±4,8	-62,7±5,7	-61,2±5,4
Кв	I	0,80			
	II	0,84			
	III	0,82			
	IV	0,87			
	V	0,51			
Реоксигенация после повторной гипоксии					
ПРС	I	-27,1±5,8	-36,0±5,3	-56,7±4,6	-61,3±4,3
	II	-23,5±5,1	-21,4±5,3*	-41,2±4,5*	-47,3±4,5*
	III	-22,4±5,2	-29,5±5,6*	-38,8±5,0*	-57,1±4,2*
	IV	-15,4±4,6	-16,1±4,5*	-18,5±4,5*	-39,9,3±4,5*
	V	-27,5±5,8	-47,1±4,6	-71,7±5,9	-77,7±6,2
Кв	I	0,55			
	II	0,65			
	III	0,63			
	IV	0,75			
	V	0,43			

Примечание: I – бемитил в дозе 20 мг/кг; II – бемитил в дозе 40 мг/к; III – этомерзол в дозе 10 мг/кг; IV – этомерзол в дозе 20 мг/кг; V – контроль. V – контроль. ПРС – показатель работы сердца; Кв – коэффициент восстановления. Индексом * отмечены значения при P< 0,05 в сравнении с контролем.

Наличие указанных свойств у бемитила и этомерзола позволяет характеризовать указанные вещества как перспективные отечественные соединения и рекомендовать их для дальнейшего изучения кардиотропной активности.

Литература

1. Биленко, М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути повреждения и лечения) / М.В. Биленко. – М. : Медицина, 1989. – 368 с.
2. Корокин, М.В. Эндотелиопротективные, кардиопротективные и коронаролитические эффекты производных 3-оксипиридина / М.В. Корокин, Е.Н. Пашин, К.Е. Бобраков и др. // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2009. – № 4. – С. 11-19.
3. Лазарева, И.А. Влияние производных арилалканов на функциональный резерв миокарда при моделировании гипоксии с последующей реоксигенацией и локальной ишемии / И.А. Лазарева, Е.Н. Пашин // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»». – 2003. – № 3. – С. 32-36.
4. Литвицкий, П.Ф. Адаптивные и патогенные эффекты реперфузии и реоксигенации миокарда / П.Ф. Литвицкий, В.А. Сандриков, Е.А. Демуров. – М. : Медицина, 1994. – 320 с.
5. Маршалов, Д.В. Реперфузионный синдром: понятие, определение, классификация / Д.В. Маршалов, А.П. Петренко, И.А. Глушач // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2008. – № 3. – С. 67-72.

6. Марышева, В.В. Антигипоксанты аминотиолового ряда / В.В. Марышева // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2007. – Т. 5, № 1. – С. 17-27.
7. Неймарк, М.И. Предикторы реперфузионного синдрома на фоне острого инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST / М.И. Неймарк, С.В. Заяшников, О.А. Калугина, Л.Н. Берестенникова // Казанский медицинский журнал. – 2011. – Т. 3, № 92. – С. 357-359.
8. Орлов, Л.Л. Сократительная функция и ишемия миокарда / Л.Л. Орлов, А.М. Шилов, Г.Е. Ройтберг. – М. : Наука, 1987. – 247 с.
9. Riksen, N.P. Limitation of myocardial ischemia-reperfusion injury in clinical practice: new hopes and disappointments / N.P. Riksen, D.J. Hausenloy // Curr Opin Lipidol. – 2012. – № 23. – P. 588-590.

PROTECTIVE ACTION OF BEMITHYL AND ETHOMERSOL DURING REOXYGENATION AFTER ACUTE HYPOXIA

E.N. PASHIN

Kursk state medical university

e-mail: epach@yandex.ru

Bemithyl and ethomersol exerted marked protective action on the myocardium at the reoxygenation period following to a 3-minute single hypoxia. This action was expressed in the following: more complete restoration of the developed pressure, highest rates of contraction and relaxation, intensity of structures functioning and bradycardia prevention. The stated protective effects were associated with higher values of restoration coefficient as compared to control. During reoxygenation after double hypoxia bemithyl and ethomersol also showed cardioprotective effects.

Keywords: hypoxia, reoxygenation, bemithyl, ethomersol.

УДК 616.127-005.4:615.22

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АРИЛАЛКАНОВ НА КРОВОСНАБЖЕНИЕ И СОКРАТИМОСТЬ ИШЕМИЗИРОВАННОГО МИОКАРДА

Е.Н. ПАШИН

Курский государственный медицинский университет

e-mail: epach@yandex.ru

Производные арилалканов ЛХТ 51-93 и ЛХТ 52-93 в эксперименте на собаках повышают уровень кровоснабжения ишемизированного миокарда в острый период коронарной недостаточности. Под их влиянием увеличивается объемная скорость коллатерального коронарного кровотока и венозного оттока из зоны ишемии. ЛХТ 51-93 и ЛХТ 52-93 уменьшают депрессию сократительной активности сердечной мышцы при локальной ишемии миокарда.

Ключевые слова: коронарооккклюзия, коллатеральный коронарный кровоток, сократимость миокарда, ЛХТ 51-93 и ЛХТ 52-93.

Введение. Ранее нами были получены данные о кардиопротективном действии производных арилалканов ЛХТ 51-93 и ЛХТ 52-93 в период реоксигенации при моделировании гипоксии у крыс [3, 4]. Существенное значение в реализации защитного действия средств, применяемых при острой коронарной недостаточности, имеет их способность улучшать коллатеральное коронарное кровообращение (ККК). Возможность фармакологической стимуляции ККК в острый период ишемии подтверждена экспериментальными исследованиями, выполненными в нашей лаборатории и другими авторами [1, 2, 6].

Учитывая изложенное, нами на наркотизированных собаках выполнены эксперименты по изучению действия производных арилалканов ЛХТ 51-93 и ЛХТ 52-93 на ККК путем регистрации объемной скорости ретроградного притока крови в зону ишемии и венозного оттока (ВО) от ишемизированного миокарда.

Материалы и методы. Опыты выполнены на беспородных собаках массой 10-14 кг. Наркоз вызывали этаминал-натрием (40 мг/кг внутрибрюшинно). После перевода животного на искусственное дыхание аппаратом РО-6 проводили левостороннюю торакотомию и фиксацию перикарда к краям операционной раны. В правую яремную вену вводили гепарин (1000 ЕД/кг). На уровне предполагаемой окклюзии отсепаровывали одну из ветвей передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии. На 2-3 мм ниже этого уровня канюлировали одну из двух сопровождающих коронарную артерию ветвей большой вены сердца [5].

Для регистрации системного артериального давления через левую бедренную артерию в аорту вводили катетер, соединенный с датчиком давления W-102 (США). Для регистрации внутрижелудочкового давления, dp/dt через левую сонную артерию в полость левого желудочка вводили еще один катетер, соединенный с датчиком W-102 (США).

После лигирования коронарной артерии в ее дистальный отрезок вводили полиэтиленовую канюлю для регистрации объемной скорости коллатерального коронарного кровотока (ККК) [1, 2].

ЛХТ 51-93 и ЛХТ 52-93 вводили в бедренную вену через 5 мин. после лигирования коронарной артерии в дозах, составляющих 10 и 5% от LD_{50}: ЛХТ 51-93 в дозах 3,2, и 1,6, а ЛХТ 52-93 – 4,3, и 2,2 мг/кг соответственно.

Синхронную запись артериального давления, левожелудочкового давления (ЛЖД), ±dp/dt осуществляли на самописце Н-338-8П. Указанные параметры регистрировали в исходе и через 5, 15, 30, 45, 60 мин. после окклюзии коронарной артерии.

Для суждения о зависимости коллатерального коронарного кровотока от изменений артериального давления использовали коэффициент К – отношение сдвигов этих параметров, выраженных в процентах их исходного уровня [1, 2].

Статистическая обработка проведена методами вариационной статистики. При этом вычисляли среднюю арифметическую сдвигов исследуемых параметров (±m) и вероятность возможной ошибки (Р) по таблицам Стьюдента. Различия оценивали как достоверные, начиная с $P<0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. В контрольной серии экспериментов объемная скорость ККК на 5-й мин. ишемии после коронарной окклюзии составила 1,81±0,35 мл/мин., венозного оттока (ВО) – 1,87±0,24 мл/мин. при системном артериальном давлении

(САД) 108±4 мм рт. ст. Уровень параметров кровоснабжения зоны ишемии миокарда в течение 60 мин. наблюдения снижался синхронно со сдвигами САД при значениях коэффициента К<1.

Как следует из табл. 1, под влиянием ЛХТ 51-93 в дозе 10% от LD_{50} отмечается менее выраженное падение уровня ретроградного притока крови в зону ишемии, достоверно отличающееся от контрольной серии экспериментов на 45 и 60-й мин. наблюдения. Так, снижение ККК по влиянием ЛХТ 51-93 в дозе 10% от LD_{50} к 60-й мин. коронарооккклюзии составило 12,1±3,7% от исходного уровня, тогда как в контроле – 48,8±4,1% (P<0,05).

Таблица 1

Влияние производных арилалканов ЛХТ 51-93 и ЛХТ 52-93 на коллатеральное коронарное кровообращение (в % от исходного уровня, M±m)

Время после коронарной окклюзии, мин.	*Серия экспериментов*	*САД*	*ККК*	*ВО*	*Коэффициент К*
15	I	-3,2±3,1	-14,8±3,6	-8,4±5,3	0,88
	II	-4,7±2,7	-11,1±3,7	-7,9±5,5	0,93
	III	-3,6±2,2	-13,4±3,5	-9,6±5,4	0,89
	IV	-4,1±2,7	-13,7±3,6	-8,5±5,2	0,89
	V	-5,1±1,7	-18,4±4,3	-14,7±9,4	0,86
30	I	-18,7±3,9	-13,3±3,7	-10,8±6,2	0,95
	II	-13,1±3,6	-11,3±3,8	-8,4±5,3	0,98
	III	-19,6±3,8	-15,3±3,6	-10,3±5,1	0,95
	IV	-15,9±3,5	-13,2±4,0	-10,7±5,4	0,97
	V	-21,2±3,6	-26,8±3,4	-27,3±7,8	0,92
45	I	-12,6±3,6*	-15,2±3,8*	-14,3±4,8	0,97
	II	-11,6±3,7*	-10,7±3,1*	-9,0±3,3*	0,99
	III	-21,4±4,1	-17,4±4,0	-15,3±5,0	0,95
	IV	-12,9±3,6*	-11,1±3,0*	-10,9±3,1*	0,98
	V	-26,7±4,5	-31,4±4,2	-32,4±7,5	0,90
60	I	-19,9±3,6*	-15,7±3,9*	-12,6±3,7*	0,95
	II	-13,3±3,8*	-12,1±3,7*	-12,7±3,6*	0,98
	III	-24,1±3,9	-17,5±3,6*	-15,1±4,0*	0,92
	IV	-19,8±3,5	-15,3±3,5*	-14,3±3,7*	0,95
	V	-30,8±4,2	-48,8±4,1	-36,6±7,6	0,78

Примечание: I – ЛХТ 51-93 в дозе 5% от LD_{50}; II – ЛХТ 51-93 в дозе 10% от LD_{50}; III – ЛХТ 52-93 в дозе 5% от LD_{50}; IV – ЛХТ 52-93 в дозе 10% от LD_{50}; V – контроль. САД – системное артериальное давление; ККК и ВО – объемные скорости коллатерального кровотока и венозного оттока; К – отношение сдвигов ККК и САД, выраженных в процентах от исходного уровня. Индексом * отмечены значения при P<0,05 в сравнении с контролем.

В эти же интервалы наблюдения зарегистрированы более высокие значения объемной скорости венозного оттока из зоны ишемии в сравнении с контролем (табл. 1). Обращает на себя внимание, что изменения уровня ККК при введении ЛХТ 51-93 были практически сопоставимы с изменениями системного артериального давления, на что указывают значения коэффициента К (отношения сдвигов коллатерального коронарного кровотока и артериального давления), близкие к 1. Следует отметить, что значение коэффициента К при введении ЛХТ 51-93 превышали таковые в контрольной серии экспериментов на протяжении всего периода наблюдения. Это может свидетельствовать том, что ЛХТ 51-93 способствует перераспределению коронарного кровотока в пользу ишемизированного участка миокарда и, возможно, обладает прямым дилатирующим действием на межартериолярные анастомозы. При этом ЛХТ 51-93 в дозе 10% от LD_{50} профилактирует падение артериального давления на 45 и 60-й мин. после окклюзии коронарной артерии. Так, к 60-й мин. после лигирования венечной артерии в опытах с ЛХТ 51-93 в дозе 10% от LD_{50} системное артериальное давление снижалось на 13,3±3,8% по сравнению с исходом, тогда как в контроле уровень САД снижался на 30,8±4,2% (P<0,05).

ЛХТ 51-93 в дозе 5% от LD_{50} также оказывал положительное действие на коллатеральное коронарное кровообращение, практически не отличающееся от эффекта вещества дозе 10% от LD_{50}. Под влиянием средства на протяжении 30, 45 и 60-й мин. наблюдения уровень ККК стабилизировался на более высоких значениях в сравнении с контролем, величина коэффициента К приближалась к 1 (табл. 1). Аналогичную динамику имели и значения ВО.

ЛХТ 52-93 также оказывал влияние на коллатеральное коронарное кровообращение и кровоснабжение ишемизированной зоны миокарда. Это характеризовалось менее выраженным падением ККК и ВО и более высокими значениями коэффициента К в сравнении с контролем. Причем, достоверно более значимые значения ККК и ВО в сравнении с контролем отмечены

при использовании ЛХТ 52-93 в дозе 10% от LD_{50} на 30 и 45-й мин., а в дозе 5% от LD_{50} на 60-й мин. после окклюзии коронарной артерии (табл. 1). Так, к 60-й мин. наблюдения при использовании средства в дозе 10% от LD_{50} снижение ретроградного притока в зону ишемии составило 15,3±3,5, а при введении в дозе 5% от LD_{50} – 17,5±3,6% от исхода. Аналогичное влияние ЛХТ 52-93 оказывал и на уровень венозного оттока из зоны ишемии (табл. 1). Более высокий уровень коллатерального коронарного кровотока сопровождался значениями коэффициента К, приближающимися 1. Обращает на себя внимание, что ЛХТ 52-93 в дозе 10% от LD_{50} стабилизировал уровень артериального давления на более высоких значениях, тогда как в контрольной серии экспериментов наблюдалось прогрессирующее падение этого показателя, а на 45-й мин. после коронарной окклюзии отмечены достоверно более высокие значения САД в сравнении с контролем.

Информация об изменениях кровоснабжения очага ишемии в совокупности с оценкой сократимости сердечной мышцы под влиянием исследуемых фармакологических средств достаточно полно характеризует их действие на сердце в острую стадию инфаркта миокарда. В связи с этим, нами изучено влияние ЛХТ 51-93 ЛХТ 52-93 на сократительную активность сердца с локальной ишемией.

В контрольной серии экспериментов при регистрации левожелудочкового давления, максимальной скорости сокращения и расслабления левого желудочка (±dp/dt) после окклюзии коронарной артерии зарегистрировано угнетение сократимости миокарда, достигавшее максимума к 60-й мин. наблюдения (табл. 2). При этом отмечено более существенное снижение скорости расслабления левого желудочка (на 34,3±6,1% от исхода к 60-й мин.).

Таблица 2

Влияние производных арилалканов ЛХТ 51-93 и ЛХТ 52-93 на сократимость миокарда после коронарной окклюзии (в % от исходного уровня, M±m)

Время после коронарной окклюзии, мин.	*Серии экспериментов*	*ЛЖД*	*+dp/dt max*	*-dp/dt max*	*ЧСС*
15	I	-3,2±2,6	-3,5±4,2	-4,1±3,2	-3,6±2,1
	II	-4,0±2,1	-4,6±3,3	-5,0±3,0	-2,3±1,9
	III	-3,2±2,4	-4,8±4,0	-5,3±3,1	-2,0±2,1
	IV	-3,9±2,5	-4,8±4,1	-5,7±4,0	-2,7±2,3
	V	-5,8±1,7	-7,2±1,8	-9,6±1,9	-1,6±1,1
30	I	-18,5±2,8	-19,4±3,6	-21,3±3,4	-4,3±3,2
	II	-12,2±3,0	-13,5±3,5	-14,9±3,6	-4,1±3,2
	III	-17,9±3,2	-18,1±3,4	-18,1±4,0	-3,5±2,4
	IV	-15,2±3,4	-15,2±3,6	-16,3±3,7	-3,2±2,4
	V	-18,5±2,8	-19,6±3,4	-25,4±5,2	-4,0±2,1
45	I	-12,5±3,5*	-13,1±3,6*	-14,4±3,2	-4,1±2,4
	II	-12,0±3,5*	-12,6±3,5*	-13,0±3,0*	-3,9±3,2
	III	-22,3±3,2	-22,9±3,8	-23,7±3,1	-4,1±3,1
	IV	-12,8±3,1*	-13,2±3,2*	-13,2±3,1*	-5,7±3,1
	V	-23,8±4,0	-24,8±3,9	-27,8±6,1	-3,0±2,2
60	I	-17,2±3,0*	-18,0±3,2*	-19,1±3,5*	-1,9±3,0
	II	-13,1±3,4*	-14,1±3,1*	-15,4±3,3*	-3,5±3,2
	III	-23,1±3,1	-23,9±3,2	-24,6±3,6	-1,1±4,1
	IV	-17,3±3,2*	-18,1±3,1*	-18,9±3,4*	-2,3±3,1
	V	-29,3±3,6	-29,1±4,1	-34,3±6,1	-2,7±1,9

Примечание: I – ЛХТ 51-93 в дозе 5% от LD_{50}; II – ЛХТ 51-93 в дозе 10% от LD_{50}; III – ЛХТ 52-93 в дозе 5% от LD_{50}; IV – ЛХТ 52-93 в дозе 10% от LD_{50}; V – контроль. ЛЖД – левожелудочковое давление; +dp/dtmax и -dp/dtmax – максимальные скорости сокращения и расслабления левого желудочка; ЧСС – частота сердечных сокращений. Индексом * отмечены значения при P<0,05 в сравнении с контролем.

Как следует из табл. 2, ЛХТ 51-93 в дозе 10% от LD_{50} предотвращает депрессию сократительной функции сердца на 45 и 60-й мин. наблюдения. В опытах с введением ЛХТ 51-93 в дозе 10% от LD_{50} отмечена стабилизация левожелудочкового давления, максимальной скорости расслабления и сокращения левого желудочка (±dp/dtmax) на более высоких уровнях, в то время как в контрольной серии экспериментов регистрировалась прогрессирующее снижение этих показателей. Так, к 60-й мин. после окклюзии коронарной артерии изменения ЛЖД, +dp/dt, -dp/dt составили соответственно -13,1±3,4, -14,1±3,1 и -15,4±3,3% от исхода (P<0,05).

ЛХТ 51-93 в дозе 5% от LD_{50} также уменьшал депрессию сократительной активности сердца с локальной ишемией, о чем свидетельствуют более высокие значения ЛЖД и +dp/dt на 45 и 60-й мин., а -dp/dt на 60-й мин. наблюдения в сравнении с контролем (табл. 2). Под влиянием средства величина показателей сократимости на 45 и 60-й мин. стабилизировалась, тогда как в контрольной серии экспериментов наблюдалось их прогрессирующее падение к 60-й мин. эксперимента.

При введении ЛХТ 51-93 в дозах 5 и 10% от LD_{50} частота сердечных сокращений в течение всего периода наблюдения практически не отличалась от контроля (табл. 2).

ЛХТ 52-93 в дозе 10% от LD_{50} также предотвращает депрессию сократительной функции сердца после окклюзии коронарной артерии. Под влиянием средства на 45 и 60-й мин. после коронарной окклюзии отмечалась стабилизация ЛЖД, скорости сокращения и расслабления левого желудочка (±dp/dtmax) на более высоком уровне в сравнении с контролем (табл. 2). К 60-й мин. наблюдения при введении ЛХТ 51-93 в дозе 10% от LD_{50} изменения ЛЖД, +dp/dt и -dp/dt составили соответственно -17,3±3,2, -18,1±3,1, -18,9±3,4% от исхода, что достоверно выше в сравнении с контрольной серией экспериментов.

Под влиянием ЛХТ 52-93 в дозе 5% от LD_{50} ЛЖД, скорости сокращения и расслабления левого желудочка (±dp/dtmax) достоверно не отличались от значений, зарегистрированных в контрольной серии экспериментов. Однако следует отметь, что к 60-й мин. наблюдения намечалась тенденция к их стабилизации на более высоком уровне в сравнении с контролем.

Частота сердечных сокращений в течение всего периода наблюдения в опытах с ЛХТ 51-93 практически не отличалась от контроля (табл. 2).

Таким образом, ЛХТ 51-93 и ЛХТ 52-93 стимулируют уровень кровоснабжения ишемизированного миокарда в острый период коронарной недостаточности, что обусловлено более высокими значениями под их влиянием объемной скорости коллатерального коронарного кровотока и венозного оттока из зоны ишемии.

Установленное благоприятное действие ЛХТ 51-93 и ЛХТ 52-93 на коронарное кровообращение позволяет сделать вывод о том, что их противоишемический эффект реализуется не только за счет противогипоксической и мембраностабилизирующей активности, но и является результатом перераспределения коронарного кровотока в пользу ишемизированного участка миокарда.

Кроме того, ЛХТ 51-93 и ЛХТ 52-93 оказывают протективное действие при локальной ишемии миокарда, что характеризуется уменьшением депрессии сократительной активности сердечной мышцы (ЛЖД, +dp/dt, -dp/dt) в острый период коронарной недостаточности и сохранением насосной функции сердца.

Уменьшение депрессии сократимости сердца с локальной ишемией в экспериментах с ЛХТ 51-93 и ЛХТ 52-93, видимо, является следствием их влияния на кровоснабжение миокарда. Увеличение коронарного кровотока в эндо- и эпикардиальных слоях сердечной мышцы и повышение ретроградного притока крови в ишемизированную зону, наблюдаемые под влиянием ЛХТ 51-93 и ЛХТ 52-93, способствуют оптимизации биоэнергетики кардиомиоцитов и уменьшению выраженности ишемического повреждения, что влечет за собой повышение сократительной функции сердца.

Наличие указанных свойств у ЛХТ 51-93 и ЛХТ 52-93 позволяет характеризовать указанные вещества как новые перспективные отечественные соединения, обладающие кардиопротективной активностью, и рекомендовать их для дальнейшего доклинического исследования.

Литература

1. Гацура, В.В. Коллатеральное коронарное кровообращение и проблемы его фармакологической регуляции / В.В. Гацура // Успехи физиол. наук. – 1990. – № 3. – С. 19-37.

2. Гацура, В.В. Фармакологическая коррекция энергетического обмена ишемизированного миокарда / В.В. Гацура. – М. : Антекс, 1993. – 252с.

3. Лазарева, И.А. Влияние производных арилалканов на функциональный резерв миокарда при моделировании гипоксии с последующей реоксигенацией и локальной ишемии / И.А. Лазарева, Е.Н. Пашин // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2003. – № 3. – С. 32-36.

4. Пашин, Е.Н. Кариопротективное действие некоторых производных арилалканов в период реоксигенации после острой гипоксии / Е.Н. Пашин, И.А. Лазарева, И.А. Татаренкова, М.Е. Пашина // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2011. – № 4. – С. 71-77.

5. Пичугин, В.В. Канюлирование большой вены сердца и передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии как метод изучения кровоснабжения и метаболизма в ишемизированном участке миокарда / В.В. Пичугин, А.П. Должиков // Фармакол. и токсикол. – 1973. – Т. 36, № 6. – С. 728-730.

6. Chilian, W.M. Coronary collateral growth—Back to the future / W.M. Chilian, M.S. Penn, Y.F. Pung et al. // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. – 2012. – № 52, V4. – P. 905-911.

THE INFLUENCE OF SOME ARYLALKANE DERIVATIVES ON THE BLOOD SUPPLY AND CONTRACTILITY OF THE ISCHAEMIC MYOCARDIUM

E.N. PASHIN

Kursk state medical university

E-mail: epach@yandex.ru

Arylalkane derivatives LHT 51-93 and LHT 52-93 in experiment on dogs increase the level of blood flow of ischemic myocardium in acute coronary insufficiency. Under their influence, the space velocity increases coronary blood flow and collateral venous drainage from the area of ischemia. LHT 51-93 and LHT 52-93 reduce depression of the contractile activity of the heart muscle during local myocardial ischemia.

Keywords: coronary occlusion, collateral coronary blood flow, myocardial contractility, LHT 51-93, LHT 52-93.

УДК 616.71-007.234:615.22

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ОСТЕОПРОТЕКТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ ЭНАЛАПРИЛА, ЛОЗАРТАНА, РЕЗВЕРАТРОЛА И ИХ КОМБИНАЦИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ОСТЕОПОРОЗЕ

Н.Ю. КОКЛИНА [1]
А.В. ФАЙТЕЛЬСОН [1]
О.С. ГУДЫРЕВ [2]
М.В. ПОКРОВСКИЙ [2]

[1] Курский государственный медицинский университет

[2] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: vladimirfaitelson@gmail.com

В эксперименте на самках белых крыс линии Вистар (202 животных) изучалось остеопротективное действие эналаприла, лозартана, резвератрола и комбинаций резвератрола с эналаприлом и лозартаном на моделях экспериментального остеопороза. Было выявлено, что после овариэктомии у крыс развивается эндотелиальная дисфункция сосудов микроциркуляторного русла костной ткани, приводящая к возникновению остеопороза. Действие эналаприла, лозартана, резвератрола и комбинированная терапия резвератрола с эналаприлом и лозартаном предотвращают снижение уровня микроциркуляции в костной ткани, что выражалось в замедлении истончения костных трабекул, и предупреждают возникновение в них микропереломов.

Ключевые слова: остеопороз, микроциркуляция, эндотелиальная дисфункция, ингибитор ангиотензин-превращающего фермента, эналаприл, фитоалексин резвератрол, блокатор ангиотензиновых рецепторов, лозартан.

Введение. Остеопороз является мультифакториальным системным заболеванием, в основе которого лежит дисбаланс между двумя процессами костного ремоделирования: резорбцией и регенерацией [4, 7], приводящий к увеличению риска переломов костей скелета. Чрезвычайная распространенность остеопоротических переломов ставит остеопороз в число приоритетных проблем современной медицины. Согласно данным ВОЗ, проблема остеопороза как причина инвалидности и смертности больных от переломов костей занимает четвертое место в мире среди неинфекционных заболеваний, уступая болезням сердечно-сосудистой системы, онкопатологии и сахарному диабету (из реферата).

Значительную роль в процессах костного ремоделирования и репаративной регенерации костной ткани играет кровоснабжение кости [4, 15]. Костные микрососуды имеют только эндотелий и не имеют мышечного и соединительнотканного слоев. Следовательно, именно эндотелий опосредует всю гуморальную регуляцию обмена между остеобластами, остеокластами и кровью [1, 9, 13].

В то же время в доступной литературе мы не нашли сведений о том, чтобы кто-либо использовал эндотелий сосудов костной ткани в качестве мишени для целенаправленного фармакологического воздействия при остеопоротических изменениях. По нашему мнению, одной из причин ухудшения регионарного кровоснабжения костной ткани является эндотелиальная дисфункция, которая посредством негативного влияния на микроциркуляцию может приводить к нарушению процессов остеогенеза и остеорепарации, тем самым вызывая остеопороз. Таким образом, все изложенное свидетельствует об актуальности выбранной темы исследования.

Цель исследования: оценка остеопротективных эффектов препаратов, действующих на сосудистый эндотелий при экспериментальном гипоэстрогенном остеопорозе.

Материалы и методы. Опыты проводили на 202 самках белых крыс линии Wistar массой 250±50 г. Все манипуляции в эксперименте выполнялись под наркозом – внутрибрюшинным введением раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг. Системный остеопороз моделировался путем двухсторонней овариэктомии [16]. Для проведения исследования животные были разделены на 7 групп: I – контрольная (интактные животные) (n = 42);); II – после овариэктомии (n = 30) – модель остеопороза; III – после овариэктомии, ежедневно внутрижелудочно вводился эналаприл 0,5 мг/кг в течение 8 недель (n = 35); IV – после овариэктомии, в те же сроки и тем же способом вводился лозартан 6 мг/кг (n = 35); V – после овариэктомии, ежедневно внутрибрюшинно в течение 8 недель вводился резвератрол 2 мг/кг (n = 20); VI – животные в те же сроки после овариэктомии получали комбинацию препаратов: внутрибрюшинно вводился резвератрол 2 мг/кг и внутрижелудочно эналаприл

0,5 мг/кг (n = 20); VI – крысам (n = 20) после овариэктомии проводилась терапия комбинацией резвератрола 2 мг/кг с лозартаном 6 мг/кг.

Для изучения остеопротективного действия нами были выбраны препараты с выраженными эндотелиопротективными эффектами – это ингибитор ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) эналаприл, блокатор ангиотензиновых рецепторов (АТ) лозартан и фитоалексин резвератрол, а также исследовались комбинации резвератрола с эналаприлом и лозартаном [5, 6, 8].

С целью подтверждения развития остепоротических нарушений и оценки эффективности исследуемых препаратов через восемь недель (на 57-й день) после овариэктомии проводили гистоморфометрию костной ткани, при этом контрольной группой служили животные, которым выполнялась операция ложной овариэктомии. Морфологически исследовали костную ткань праксимальных метафизов бедренной и плечевой костей, а также тел поясничных позвонков [9].

Перед выведением крыс из эксперимента, через 8 недель после овариэктомии, измерялся уровень микроциркуляции в костной ткани проксимального метафиза бедренной кости [10]. После определения внутрикостного уровня микроциркуляции проводились пробы на эндотелийзависимую вазодилатацию (ЭЗВД) в ответ на однократное внутривенное введение раствора ацетилхолина в дозе 40 мкг/кг [12] и эндотелийнезависимую вазодилатацию (ЭНВД) в ответ на однократное внутривенное введение раствора нитропруссида натрия в дозе 30 мкг/кг [1]. Для подтверждения роли дисфункции эндотелия в развитии нарушения регионарной микроциркуляции рассчитывался коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД) на основании данных ЛДФ. В ответ на системное введение ацетилхолина и нитропруссида наблюдается снижение микроциркуляции с последующей нормализацией показателей кровотока. КЭД определялся как отношение площади треугольника над кривой восстановления микроциркуляции в ответ на введение нитропруссида к площади треугольника над кривой восстановления микроциркуляции в ответ на введение ацетилхолина.

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе Microsoft Excel при помощи средств пакета анализа. «Описательная статистика» применялась для нахождения среднего значения (M) показателей и ошибки среднего (m). «Двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями» использовался для сравнения соответствующих показателей в различных группах животных и определения достоверности различий между ними. Статистически значимыми считали различия при значениях двустороннего $p<0,05$.

Результаты. По результатам лазерной допплеровской флоуметрии (ЛДФ) было выявлено, что эналаприл, лозартан и резвератрол в качестве монотерапии эффективно предотвращали снижение уровня регионарного кровотока в костной ткани проксимального отдела бедра, сохраняя значения микроциркуляции на уровне интактных крыс. Результаты ЛДФ в группах животных, получавших эналаприл, лозартан и резвератрол, достоверно не отличались от таковых в группе интактных крыс (p=0,252, 0,926 и 0,455 соответственно) и не различались между собой, а также достоверно отличались от показателей в группе крыс с остеопорозом. Было обнаружено, что комбинированная фармакотерапия резвератролом с эналаприлом и лозартаном полностью предотвращала нарушение микроциркуляции в костной ткани, более того, уровень микроциркуляции при использовании лозартана превышал показатели интактных животных, а также показатели в группах животных, получавших лечение резвератролом, эналаприлом в качестве монотерапии (рис. 1).

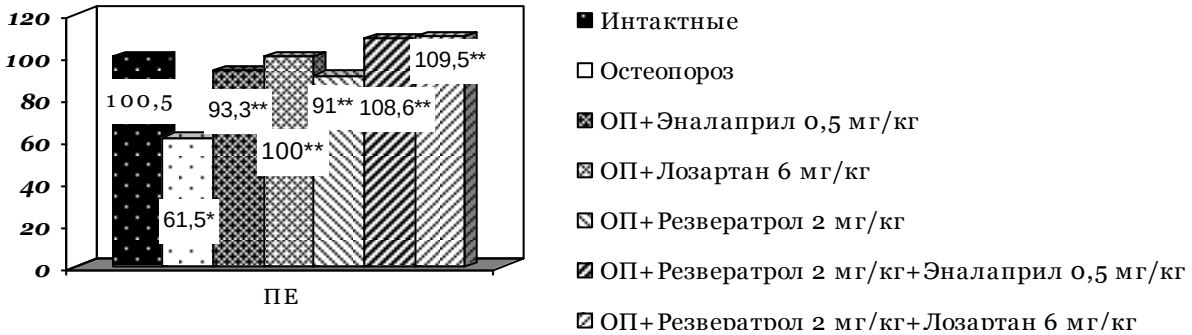


Рис. 1. Влияние эналаприла, лозартана, резвератрола на показатели микроциркуляции в проксимальном метафизе бедренной кости у крыс.

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с группой интактных животных; ** – $p<0,05$ по сравнению с группой крыс с экспериментальным остеопорозом.

Сравнительная оценка результатов функциональных проб показала, что резвератрол, эналаприл и лозартан в качестве монотерапии, а также комбинации резвератрола с эналаприлом и лозартаном приводили пропорции между площадями треугольников над кривыми восстановления уровня микроциркуляции в кости в ответ на внутривенное болюсное введение нитропруссида и ацетилхолина к таковым у интактных животных. Данные препараты и их комбинации статистически значимо снижали коэффициент эндотелиальной дисфункции.

Было выявлено, что эналаприл, лозартан и резвератрол в качестве монотерапии статистически значимо снижали КЭД до значений 1,6±0,1, 1,5±0,2 и 1,3±0,2 соответственно. Как и в случае измерения уровня микроциркуляции в костной ткани, значения КЭД у крыс, получавших эналаприл, лозартан и резвератрол, достоверно не отличались от таковых в группе интактных животных (p>0,1) и не различались между собой.

Также было установлено, что комбинации резвератрола с эналаприлом и лозартаном так же, как и резвератрол, эналаприл и лозартан в качестве монотерапии, статистически значимо снижали КЭД до значений 1,2±0,1 и 1,1±0,1 соотвественно. Как и в случае измерения уровня регионарной микроциркуляции, значения КЭД у крыс, получавших комбинации резвератрола с эналаприлом и лозартаном, достоверно не отличались от таковых в группе интактных животных (p=0,705 и p=0,661 соответственно) и не различались между собой (p=0,894). Эти данные дают возможность предположить, что важную роль в поддержании адекватного кровоснабжения костной ткани играет сохранение функции эндотелия сосудов, питающих кость, а также удержание уровня микроциркуляции в кости на значениях, близких к значениям у интактных животных, способствует поддержанию нормального протекания процессов костного ремоделирования и препятствует развитию остеопороза.

Предложенная гипотеза подтверждается результатами гистоморфометрического исследования костей скелета у крыс, получавших в течение восьми недель после овариэктомии исследуемые препараты и их комбинации. При световой микроскопии срезов костей скелета у крыс, получавших лечение указанными препаратами, обнаружили отсутствие микропереломов трабекул, сохранение структуры костной ткани и большую ширину костных трабекул, чем у крыс с остеопорозом, не получавших лечения, во всех исследуемых локализациях (рис. 2).

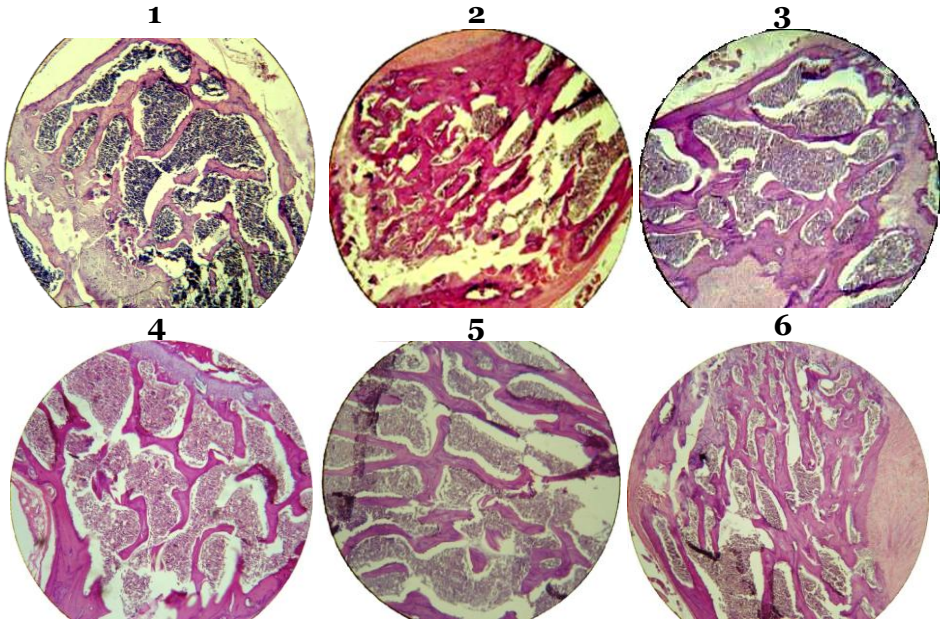


Рис. 2. Морфологическая картина срезов проксимального метафиза бедренной кости (окр. гематоксилин-эозином, ув. 100).

Примечание: 1 – после овариэктомии; 2 – после овариэктомии, лечение эналаприлом; 3 – после овариэктомии, лечение лозартаном; 4 – после овариэктомии, лечение резвератролом; 5 – после овариэктомии, лечение комбинацией резвератрола с эналаприлом; 6 – после овариэктомии, лечение комбинацией резвератрола с лозартаном.

При гистоморфометрии костной ткани срезов костей скелета у крыс выявили, что эналаприл, лозартан, резвератрол и их комбинации эффективно препятствовали снижению средней ширины костных трабекул в исследуемых локализациях (рис. 3, 4, 5). Данные лекарственные средства и их комбинированное применение статистически значимо

увеличивали среднюю ширину костных трабекул во всех изучаемых локализациях. Эналаприл повышал ширину трабекул в среднем на 22%, лозартан на 45%, резвератрол на 51%, комбинация резвератрола с эналаприлом на 61% и комбинация резвератрола с лозартаном на 57% по сравнению с крысами, страдающими остеопорозом.

Показатели средней ширины костных трабекул в проксимальных метафизах бедренной и плечевой костей и в телах поясничных позвонков у крыс, получавших исследуемые препараты, статистически значимо отличались от значений как у животных с остеопорозом, так и у интактных крыс. Большей активностью обладал резвератрол и комбинированная терапия резвератролом с зналаприлом и лозартаном.

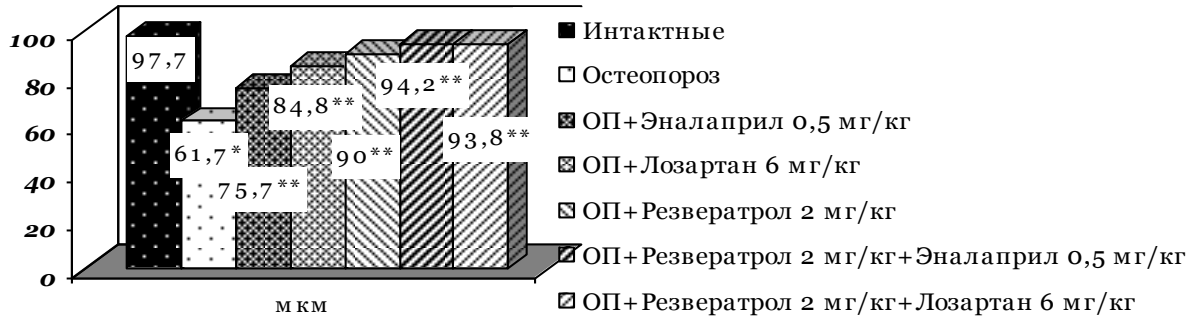


Рис. 3. Сравнительная оценка эффективности влияния эналаприла, лозартана, резвератрола и их комбинаций на значение средней ширины костных трабекул в проксимальном метафизе бедренной кости.

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с группой интактных животных; ** – p<0,05 по сравнению с группой крыс с экспериментальным остеопорозом.

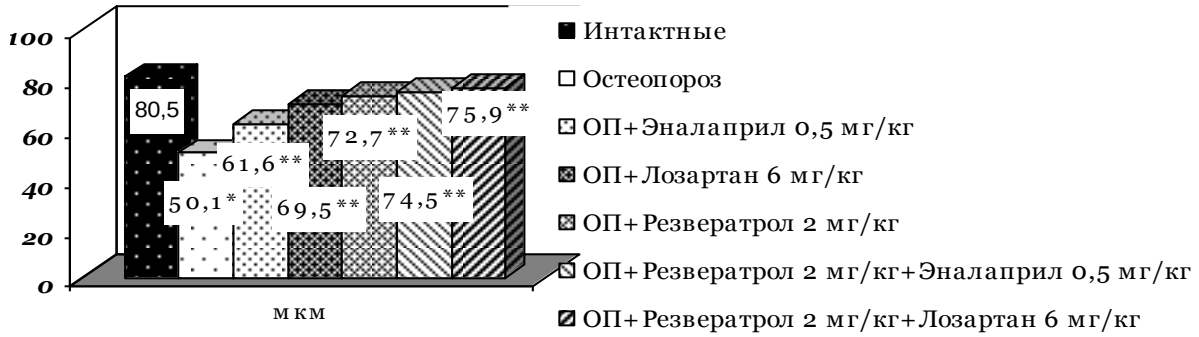


Рис. 4. Сравнительная оценка эффективности влияния эналаприла, лозартана, резвератрола на значение средней ширины костных трабекул в проксимальном метафизе плечевой кости.

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с группой интактных животных; ** – p<0,05 по сравнению с группой крыс с экспериментальным остеопорозом.

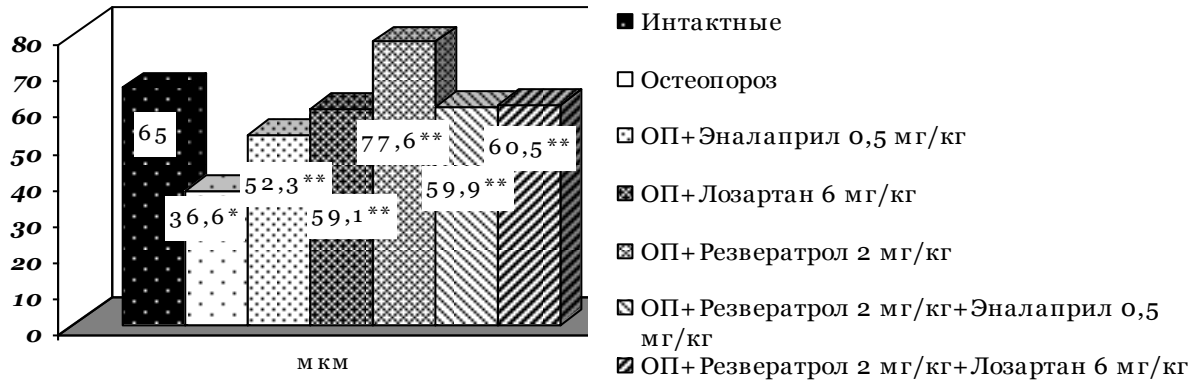


Рис. 5. Сравнительная оценка эффективности влияния, эналаприла, лозартана, резвератрола на значение средней ширины костных трабекул в телах поясничных позвонков.

Примечание. * – p<0,05 по сравнению с группой интактных животных; ** – p<0,05 по сравнению с группой крыс с экспериментальным остеопорозом.

Обсуждение. Таким образом, эналаприл, лозартан и резвератрол в качестве монотерапии и при комбинированном применении через восемь недель после билатеральной овариэктомии в некоторых случаях накапливают и активируют действие оксида азота в тканях [2, 3, 13, 14], тем самым влияют на эндотелий сосудов микроциркуляторного русла, то есть обладают выраженными эндотелиопротективными эффектами, которые сопровождаются снижением коэффициента эндотелиальной дисфункции, по данным лазерной допплеровской флоуметрии, до уровня интактных животных, а также эффективно предотвращают ухудшение регионарного кровотока в костной ткани, что позволяет частично компенсировать нарушения процессов костного ремоделирования при развивающемся генерализованном остеопорозе, свидетельством чего явилось замедление истончения костных трабекул в губчатой костной ткани, сохранение микроархитектоники и предотвращение возникновения микропереломов трабекул. Более выраженным данным эффектом обладал и резвератрол и его комбинации с эналаприлом и лозартаном.

Выводы.

1. Эналаприл в дозе 0,5 мг/кг и лозартан в дозе 6 мг/кг на выбранной модели патологии, обладая выраженными эндотелиопротективными эффектами, проявляющимися в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции до значения 1,6±0,1 и 1,5±0,2 соответственно, по сравнению с 2,4±0,2 у крыс, страдающих остеопорозом, предупреждали уменьшение средних показателей микроциркуляции в костной ткани бедра и удерживали их на значениях, не отличающихся от аналогичных параметров у интактных крыс (93,3±4,5 ПЕ и 100,0±2,3 ПЕ соответственно); увеличивали среднюю ширину костных трабекул в среднем на 22% и 45% соответственно, по сравнению с группой крыс с остеопорозом, и предотвращали возникновение микропереломов, то есть обладали остеопротективным действием.

2. Резвератрол в дозе 2 мг/кг обладал выраженным эндотелиопротективным действием на модели гипоэстрогенного остеопороза, эффективно снижал коэффициент эндотелиальной дисфункции до значения 1,3±0,2, при этом предупреждал снижение уровня регионарной микроциркуляции в костной ткани бедра (91,0±12,8 ПЕ по сравнению с 61,5±3,7 ПЕ у крыс с остеопорозом) и предотвращал истончение костных трабекул (средняя ширина костных трабекул превышает показатели животных с остеопорозом на 51%), обладал остеопротективной активностью.

3. Комбинации резвератрола в дозе 2 мг/кг с эналаприлом в дозе 0,5 мг/кг и с лозартаном в дозе 6 мг/кг обладали более выраженным, чем монотерапия резвератролом, эналаприлом и лозартаном, эндотелиопротективным действием: коэффициент эндотелиальной дисфункции под влиянием указанных комбинаций снижался до значений 1,2±0,1 и 1,1±0,1 соответственно; при этом наблюдались статистически значимые повышения показателей микроциркуляции в проксимальном метафизе бедра до 108,6±19,0 ПЕ и 109,5±7,4 ПЕ соответственно, а также отмечались увеличения параметров средней ширины костных трабекул на 61% и 57% соответственно, что выявляло выраженный остеопротективный эффект.

Литература

1. Брошусь, В.В. Оксид азота как регулятор защитных и гомеостатических реакций организма / В.В. Брошусь // Укр. ревматол. журн. – 2003. – № 4. – С. 3-11.

2. Майчук, Е.Ю. Современные представления об использовании ингибиторов ангиотензин - превращающего фермента для лечения артериальной гипертензии / Е.Ю. Майчук, И.В. Воеводина // Рус. мед. журн.: Кардиология. – 2005. – Т. 13, № 19. – С. 1287-1291.

3. Марков, Х.М. Оксидантный стресс и дисфункция эндотелия / Х.М. Марков // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2005. – № 4. – С. 5-9.

4. Насонов, Е.Л. Вторичный остеопороз: патогенез и клиническое значение при воспалительных заболеваниях суставов / Е.Л. Насонов // Остеопороз и остеопатии. – 1998. – № 3. – С. 18-20.

5. Корокин, М.В. Путь фармакологической коррекции патогенетических нарушений метаболизма оксида азота при моделировании эндотелиальной дисфункции : автореф. дис. … д-ра мед. наук (14.00.25) / М.В. Корокин; Москва, 1-МГМУ. – М., 2012. – 48 с.

6. Кочкаров, В. И. Резвератрол и его комбинации с основными антигипертензивными препаратами в фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции : автореф. дис. … д-ра биол. наук (14.00.25) / В.И. Кочкаров; Курск, КГМУ. – Курск, 2009. – 46 с.

7. Руководство по остеопорозу / под ред. Л.И. Беневоленской. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. – 524 с.

8. Стабровская, Н.В. Исследование эндотелио- и остеопротективных эффектов некоторых антиоксидантов : автореф. дис. … канд. мед. наук (14.03.06) / Н.В. Стабровская; Курск, КГМУ. – Курск, 2011. – 22 с.

9. Остеопротективное действие эналаприла, лозартана и резвератрола при экспериментальном остеопорозе / О.С. Гудырев, А.В. Файтельсон, М.В. Покровский и др. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2011. – № 22 (117), вып. 16/2. – С. 9-14.

10. Фармакологическая коррекция экспериментального остеопороза и переломов на его фоне / А.В. Файтельсон, Г.М. Дубровин, О.С. Гудырев и др. // Вестник травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова. – 2010. – № 3. – С. 47-51.

11. Эндотелиопротективные эффекты резвератрола и его комбинаций с эналаприлом и лозартаном при экспериментальном моделировании дефицита оксида азота / В.И. Кочкаров, М.В. Покровский, М.М. Корнеев и др. // Кубан. науч. мед. вестн. – 2006. – № 9 (90). – С. 150-152.

12. Changes in trabecular bone, hematopoiesis and bone marrow vessels in aplastic anemia, primary osteoporosis, and old age: a comparative histomorphometric study / R. Burkhardt, G. Kettner, W. Bohm et al. // Bone. – 1987. – Vol. 8. – P. 157-164.

13. Laursen, J.B. Role of superoxide in angiotensin II-induced but catecholamine-induced hypertension / J.B. Laursen, S. Rajagopalan, Z. Galis et all. // Chirculation. Laursen. – 1997. – Vol. 95. – P. 588-593.

14. Resveratrol a red wine constituent polyphenol, prevents superoxide-dependent inflammatory responses induced by ischemia/reperfusion, platelet-activating factor, or oxidants / S. Shigematsu, S. Ishida, M. Hara et al. / Free Radic. Biol. Med. – 2003. – Vol. 34. – P. 810-817.

15. Role of vascular factors in osteoporosis / K. Alagiakrishnan, A. Juby, D. Hanley et al. // J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci. – 2003. – Vol. 58. – P. 362-366.

16. Stimpel, M. Impact of antihypertensive therapy on postmenopausal osteoporosis: effects of the angiotensin converting enzyme inhibitor moexipril, 17beta-estradiol and their combination on the ovariectomy-induced cancellous bone loss in young rats / M. Stimpel, W.S. Jee, Y. Ma et al. // J. Hypertens. – 1995. – Vol. 13. – P. 1852-1856.

COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF OSTEOPROTECTIVE EFFECTS OF ENALAPRIL, LOSARTAN, RESVERATROL AND THEIR COMBINATIONS IN EXPERIMENTAL GENERALIZED OSTEOPOROSIS

N.U. KOKLINA [1]
A.V. FAITELSON [1]
O.S. GUDYREV [2]
M.V. POKROVSKIY [2]

[1] Kursk state medical university

[2] Belgorod state national research university

e-mail: vladimirfaitelson@gmail.com

In experiment on white Wistar female rats (202 animals) the osteoprotective after ovariectomy the endothelial dysfunction of microcirculation vessels of osteal tissue develops, resulting in occurrence of an osteoporosis. Enalapril, losartan, resveratrol and combination resveratrol with enalapril and losartan prevented a microcirculation level depression in an osteal tissue, that has shown in retardation of an osteal trabecules thinning and in preventing the occurrence of microfractures.

Keywords: osteoporosis, microcirculation, endothelial dysfunction, angiotensin converting enzyme inhibitor, enalapril, fitoalexine resveratrol, angiotensin receptors blocker, losartan.

УДК 616.71-007.234:615.22

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ РЕЗВЕРАТРОЛА, ЭНАЛАПРИЛА, ЛОЗАРТАНА И ИХ КОМБИНАЦИЙ НА КАЧЕСТВО КОНСОЛИДАЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПЕРЕЛОМОВ НА ФОНЕ МОДЕЛИРОВАННОГО ОСТЕОПОРОЗА

А.В. ФАЙТЕЛЬСОН [1]
О.С. ГУДЫРЕВ [2]
М.В. ПОКРОВСКИЙ [2]
Н.Ю. КОКЛИНА [1]

[1] Курский государственный медицинский университет

[2] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: vladimirfaitelson@gmail.com

В эксперименте на самках белых крыс линии Вистар (140 животных) изучалось остеопротективное действие резвератрола, эналаприла, лозартана и их комбинаций на модели остеопоротических переломов. Резвератрол, эналаприл, лозартан и их комбинации предотвращали снижение уровня микроциркуляции в костной мозоли, а также способствовали увеличению количества сращений экспериментальных переломов.

Ключевые слова: остеопороз, микроциркуляция, эндотелиальная дисфункция, интрамедулярная фиксация, эналаприл, лозартан, резвератрол.

Введение. Вероятность развития остеопоротических переломов в пожилом возрасте очень высока. С учетом возрастающей продолжительности жизни – постарение популяции ведет к двукратному увеличению частоты переломов бедра между 2005–2050 гг. [9, 13, 15, 18]. Достаточно сказать, что смертность при характерном для этого заболевания переломе шейки бедра в течение первых 6 месяцев после перелома достигает 30% [4, 12, 16]. С каждым годом растет число проводимых оперативных вмешательств по поводу переломов в метаэпифизарных зонах длинных трубчатых костей с применением разнообразных имплантатов, включая использование эндопротезов крупных суставов на фоне травматической патологии и ортопедических заболеваний. По имеющимся данным, на каждые пять операций первичного эндопротезирования приходится одно реэндопротезирование, что чаще всего связано с развитием асептической нестабильности на фоне остеопоротических нарушений в костной ткани [5, 6].

Увеличение частоты остеопороза и его осложнений показывает, что на сегодняшний день надежных методов медикаментозного лечения и профилактики этого заболевания нет. Все это указывает на актуальность поиска новых подходов к фармакологическим методам воздействия, а также обосновывает избранное нами исследование.

Современная патогенетическая терапия остеопороза традиционно включает препараты, замедляющие костную резорбцию (эстрогены, кальцитонин), стимулирующие костеобразование (фториды, анаболические стероиды) и препараты многопланового действия (витамин D) [8, 17]. Это разграничение в известной мере условно, поскольку все они действуют в той или иной степени на оба процесса ремоделирования.

Однако увеличение частоты остеопороза и его осложнений показывает, что на сегодняшний день надежных методов медикаментозного лечения и профилактики этого заболевания нет. Все это указывает на актуальность поиска новых подходов к фармакологическим методам воздействия на остеопоротическую патологию при переломах костей скелета. В ходе ранее проведенных нами исследований выявлены положительные остеопротективные эффекты у ингибитора ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) эналаприла, блокатора ангиотензиновых рецепторов (АТ) лозартана и фитоалексина резвератрола на моделях экспериментального остеопороза [7, 10]. Данные результаты свидетельствуют о целесообразности продолжения изучения влияния этих веществ на консолидацию переломов на фоне остеопороза.

Цель исследования: оценка остеопротективных свойств ингибитора АПФ эналаприла и блокатора АТ1-рецепторов лозартана, фитоалексина резвератрола и их комбинаций на качество репаративных процессов при экспериментальных остеопоротических переломах проксимального метафиза бедренной кости.

Материалы и методы. Опыты проводили на 140 самках белых крыс линии Вистар массой 200-300 г. Все манипуляции в эксперименте выполнялись под наркозом (внутрибрюшинным введением раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг). Остеопоротические переломы моделировали через восемь недель после билатеральной овариэктомии, так как за

это время формировались генерализованные остеопоротические изменения костей скелета [11]. На 57-е сутки у животных производили моделирование и остеосинтез переломов проксимального метафиза правой бедренной кости, после чего животных содержали в виварии еще четыре недели.

Для проведения исследования животные были разделены на 4 группы: I – контрольная – интактные животные после остеотомии проксимального метафиза бедра (n – 20); II – животным выполнялась овариэктомия и через восемь недель моделировался перелом проксимального метафиза бедра (n – 20), 12 недель крысам данных групп ежедневно внутрижелудочно вводили в качестве плацебо 1% крахмальный клейстер; III – животным выполнялась овариэктомия и через восемь недель моделировался перелом проксимального метафиза бедра, в течение всего периода внутрижелудочно вводился эналаприл 0,5 мг/кг ежедневно однократно в сутки (n – 20); IV – животным производилась овариэктомия, через восемь недель моделировался перелом проксимального метафиза бедра, в течение всего периода внутрижелудочно вводился лозартан 6 мг/кг ежедневно однократно в сутки (n – 20).

На 29-й день после остеосинтеза переломов у крыс измеряли уровень микроциркуляции в межотломковой зоне в случае сращения перелома, а также макроскопически и рентгенологически оценивали качество консолидации переломов.

Результаты. При выполнении лазерной допплеровской флоуметрии (ЛДФ) в межотломковой зоне проксимального отдела бедренной кости было выявлено, что в группе крыс с остеопорозом, получавших лечение эналаприлом, лозартаном и резвератролом, средний уровень микроциркуляции повышался у животных, которым вводили эналаприл, – на 46%, лозартан, – на 74%, резвератрол, – на 41% по сравнению с группой крыс, не получавших лечения. Комбинация резвератрола с эналаприлом увеличивала данный параметр на 50,6%, а комбинации резвератрола с лозаратном на 60,44%. При этом у животных, которым вводился эналаприл, отмечается достоверное превышение среднего уровня микроциркуляции над аналогичным параметром у животных с переломами бедра без остеопороза. Этот показатель статистической значимости не имел (p=0,088). Среднее значение микроциркуляции в зоне перелома у крыс, получавших лозартан, было достоверно выше такового у крыс с переломами бедра без остеопороза (p=0,0001) (рис. 1).

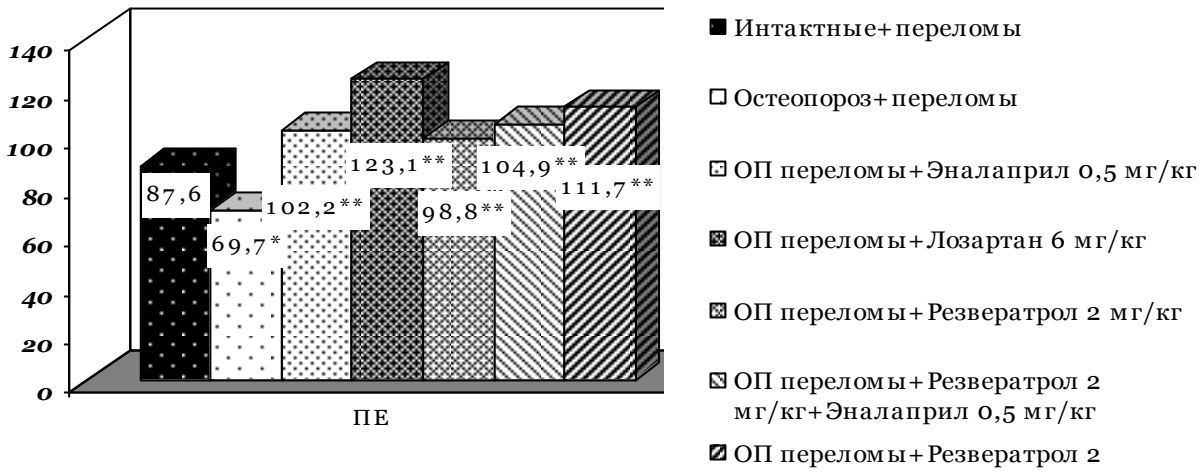


Рис. 1. Влияние эналаприла, лозартана, резвератрола и их комбинаций на показатели микроциркуляции в межотломковой зоне проксимального метафиза бедра через четыре недели после перелома.

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с группой животных с переломом бедренной кости; ** – p<0,05 по сравнению с группой крыс с остеопоротическим переломом бедренной кости.

Показатели микроциркуляции в межотломковой костной мозоли свидетельствуют о том, что комбинации резвератрола с эналаприлом и резвератрола с лозартаном не только эффективно предупреждают снижение регионарного кровотока в этой области, но и сращение поврежденной костной ткани протекает при значительном повышении кровоснабжения. Результаты, полученные в этих группах крыс, в сравнении с группами у интактных животных (переломы без остеопороза) и животных с экспериментальными остеопоротическими переломами достоверно не различались (p=1,703 и p=1,708 соответственно) в группе резвератрола и эналаприла, в группе резвератрола и лозартана (p=1,67 и p=1,697).

При визуальном осмотре с последующей рентгенографей зоны модели остеопоротических переломов обнаружено, что через четыре недели после остеотомии лишь один неудовлетворительный результат – несращение перелома с развитием тугого ложного сустава из 20 крыс, получавших эналаприл. В других группах крыс, которым весь период проводилось лечение лозартаном и резвератролом и комбинацией резвератрола с эналаприлом и лозартаном, консолидация переломов отмечалась в 100% случаев (рис. 2, 3).

Рис. 2. Примеры рентгенограмм бедренных костей крысы, получавших резвератрол и комбинацию резвератрола с эналаприлом, через четыре недели после моделирования и остеосинтеза перелома.

Примечание: 1 – консолидация многофрагментарного перелома проксимального отдела бедра у крысы в боковой проекции; 2 – сращение перелома у этого же животного в прямой проекции; 3 – рентгенограмма бедра крысы с остеопорозом через четыре недели после моделирования и остеосинтеза перелома, получавшей комбинации резвератрола с эналаприлом, фиксатор прошел мимо проксимального фрагмента кости.

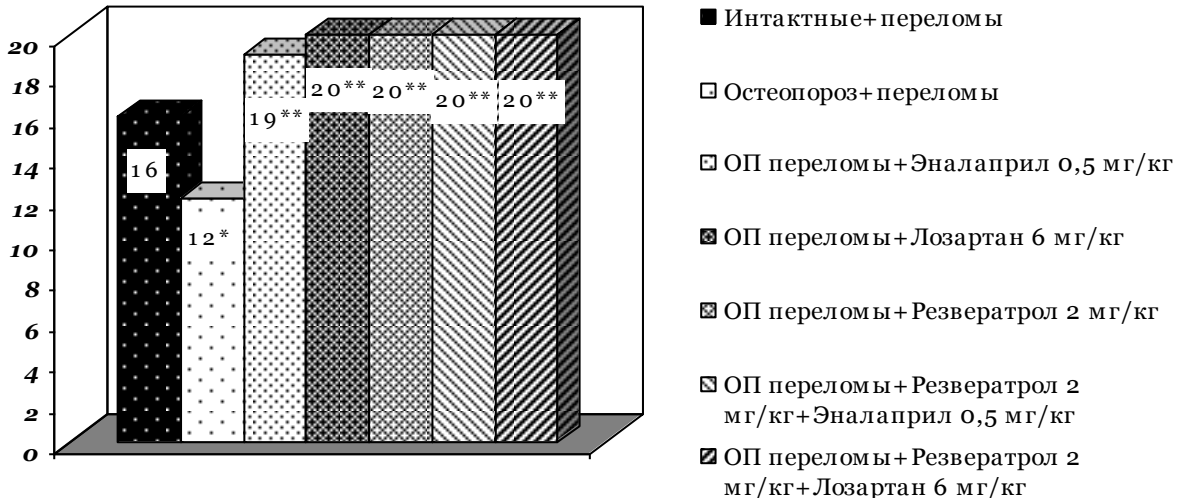


Рис. 3. Влияние эналаприла, лозартана, резвератрола на частоту сращения экспериментальных остеопоротических переломов по данным визуального осмотра и рентгенографии поврежденных конечностей крыс.

Надо упомянуть, что показатели частоты консолидации переломов в группах крыс, получавших эналаприл, лозартан и резвератрол и их комбинации, были достоверно выше, чем таковые в группе крыс с остеопоротическими переломами бедра (p=0,023, p=0,006, p=0,006, p=0,006 и p=0,006 соответственно). Эти результаты статистически значимо не отличались и от группы крыс с переломами бедра без остеопороза (p=0,339, p=0,114, p=0,114, p=0,114 и p=0,114 соответственно).

Качество консолидации экспериментальных межвертельных переломов бедренных костей у крыс на фоне моделированных гипоэстрогенных остеопоротических нарушений было подтверждено морфометрическими измерениями ширины костных трабекул в межотломковой мозоли (рис. 4).

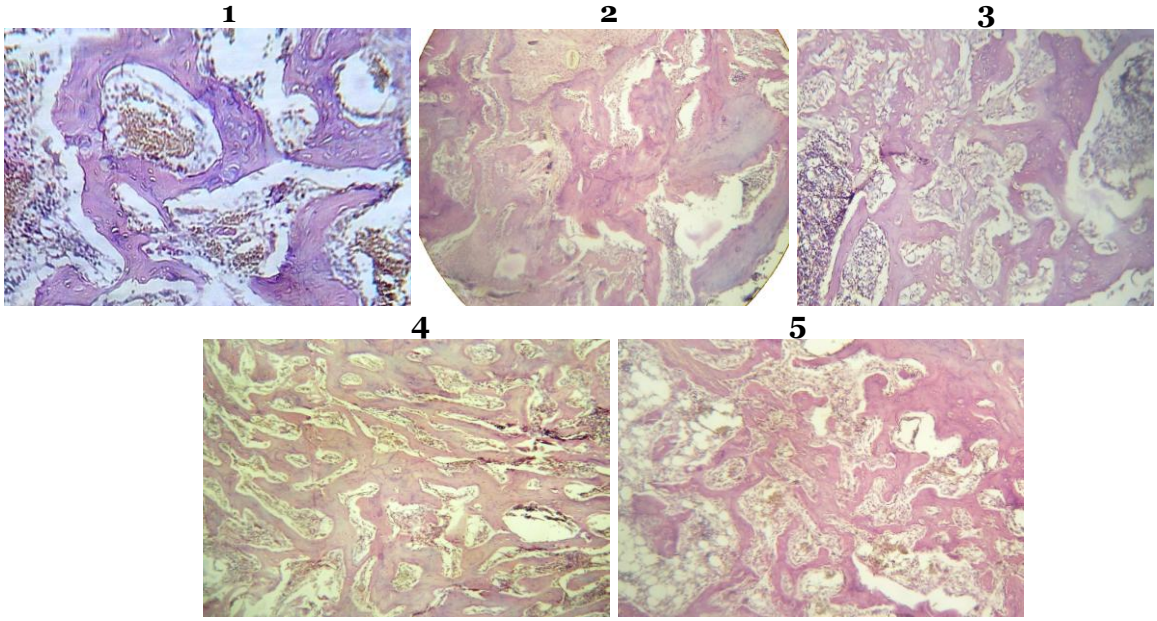


Рис. 4. Трабекулы проксимального метафиза бедра у крыс с экспериментальными переломами на фоне остеопороза (Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 200).

Примечание: 1 – у получавших терапию эналаприлом 0,5 мг/кг; 2 – получавших терапию лозартаном 6 мг/кг; 3 – получавших терапию резератролом 2 мг/кг; 4 – получавших терапию комбинацией резератрола с эналаприлом; 5 – получавших терапию комбинацией резератрола и лозартана.

Надо отметить достоверные увеличения параметров средней ширины трабекул у крыс, которым проводилось лечение указанными препаратами, почти до значений интактных животных. Показатели ширины костных трабекул в межотломковой костной мозоли были достоверно значительно выше, чем у крыс с моделированными остеопоротическими переломами, не получавших лечение. Так, средняя ширина трабекул в спонгиозной ткани проксимального отдела бедренной кости на фоне остеопороза, которым проводилось лечение эналаприлом, на 30% больше, чем у животных без лечения, лозартаном, – на 37%, резератролом, – на 68%. Сочетанное лечение резератролом с эналаприлом и лозартаном увеличивает данный параметр на 53% и 56% соответственно (рис. 5).

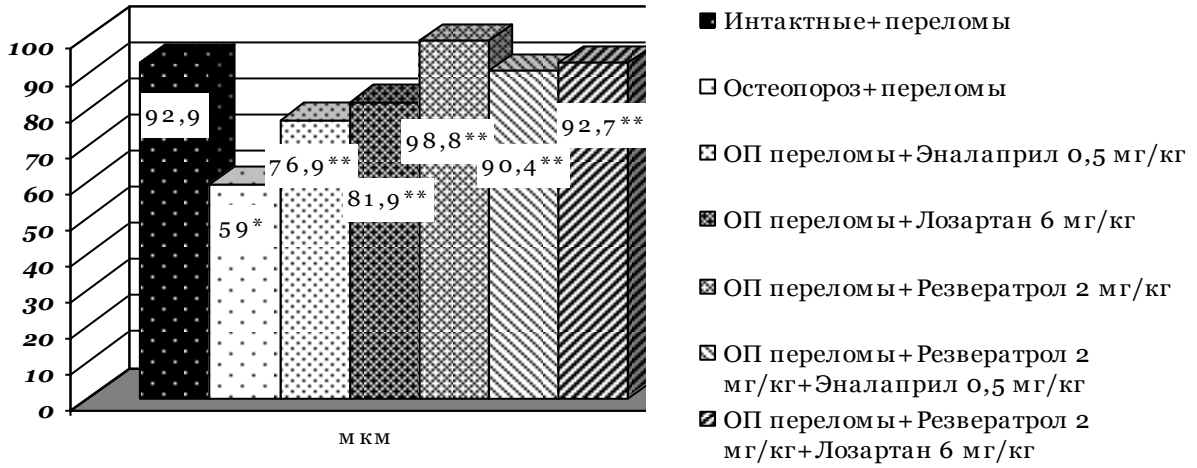


Рис. 5. Сравнительная оценка влияния эналаприла, лозартана, резератрола на значение средней ширины костных трабекул в межотломковой мозолди проксимального метафиза бедренной кости.

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с группой интактных животных; ** – $p<0,05$ по сравнению с группой крыс с экспериментальным остеопорозом.

Таким образом, резвератрол, эналаприл, лозартан, а также сочетания этих веществ статистически значимо улучшают кровоснабжение в микроциркуляторном русле зоны повреждения кости, тем самым увеличивают среднюю ширину костных трабекул в зоне экспериментальных повреждений на фоне гипоэстрогенного остеопороза, что позитивно влияет на процессы консолидации переломов. Наибольшее положительное воздействие на трабекулярную сеть оказывает резвератрол.

Обсуждение. На наш взгляд, дисфункция эндотелия является причиной ухудшения регионарного кровоснабжения костной ткани, которая негативного влияет на микроциркуляцию в кости [1, 7], тем самым вызывает нарушения процессов консолидации переломов костей на фоне гипоэстрогенного остеопороза.

Исследуемые препараты и их комбинации с помощью разных механизмов воздействия на сосудистый эндотелий вызывают эндотелийзависимое расслабление кровеносных сосудов посредством стимуляции выработки оксида азота, что благоприятно влияет на регионарное кровоснабжение в зоне повреждения [2, 3, 14, 19], тем самым позитивно действуя на процессы консолидации переломов.

Таким образом, эналаприл 0,5 мг/кг, лозартан 6 мг/кг, резвератрол 2 мг/кг и их комбинации, оказывая эндотелиопротективное воздействие на эндотелий микроциркуляторного русла, потенцируют процессы ремоделирования и репаративной регенерации костной ткани. Вследствие этого через четыре недели после моделирования и остеосинтеза остеопоротических переломов достоверно увеличивалась частота сращения экспериментальных переломов.

Выводы.

1. Эналаприл и лозартан повышали показатели микроциркуляции в зоне перелома проксимального отдела бедренной кости до 102,2±5,4 ПЕ и 123,1±5,0 ПЕ соответственно, эти значения превышали аналогичные данные у крыс с экспериментальными остеопоротическими переломами; тем самым увеличивали параметры средней ширины трабекул до 76,98± 1,4 мкм и 81,88±1,8 мкм соответственно; а также эффективно повышали количество положительных результатов консолидации остеопоротических переломов (95% сращения в группе животных, получавших эналаприл, и 100% консолидации переломов в группе крыс, которым вводился лозартан).

2. Резвератрол в дозе 2 мг/кг обладал выраженным эндотелиопротективным действием на модели гипоэстрогенного остеопороза, эффективно снижал коэффициент эндотелиальной дисфункции до значения 1,3±0,2, при этом предупреждал снижение уровня регионарной микроциркуляции в костной ткани бедра (91,0±12,8 ПЕ по сравнению с 61,5±3,7 ПЕ у крыс с остеопорозом) и предотвращал истончение костных трабекул (средняя ширина костных трабекул превышает показатели животных с остеопорозом на 51%), обладал остеопротективной активностью.

3. Резвератрол и его комбинации с эналаприлом и лозартаном в исследуемых дозировках эффективно повышали показатели микроциркуляции в межотломковой зоне проксимального отдела бедренной кости до 98,85± 8,7 ПЕ, 104,95±9,9 ПЕ и 111,671±6,9 ПЕ соответственно, эти параметры значительно превышали аналогичные данные у крыс с экспериментальными остеопоротическими переломами, тем самым увеличивали параметры средней ширины трабекул до 98,83±3,97 мкм, 90,37±3,3 мкм и 92,67±3,15 мкм соответственно, а также эффективно увеличивали количество положительных результатов консолидации остеопоротических переломов (у всех животных, получавших монотерапию резвератролом и комбинированное лечение резвератролом с эналаприлом и лозартаном, в 100% случаев наступало сращение экспериментальных переломов).

Литература

1. Корокин, М.В. Путь фармакологической коррекции патогенетических нарушений метаболизма оксида азота при моделировании эндотелиальной дисфункции : автореф.дис. … д-ра мед. наук (14.00.25) / М.В. Корокин; Москва, 1-МГМУ. – М., 2012. – 48 с.

2. Кочкаров, В. И. Резвератрол и его комбинации с основными антигипертензивными препаратами в фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции : автореф. дис. … д-ра биол. наук: (14.00.25) / В.И. Кочкаров; Курск, КГМУ. – Курск, 2009. – 46 с.

3. Майчук, Е.Ю. Современные представления об использовании ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента для лечения артериальной гипертензии / Е.Ю. Майчук, И.В. Воеводина // Рус. мед. журн.: Кардиология. – 2005. – Т. 13, № 19. – С. 1287-1291.

4. Михайлов, Е.Е. Частота переломов проксимального отдела бедренной кости и дистального отдела предплечья среди городского населения России / Е.Е. Михайлов, Л.И. Беневоленская, С.Г. Аникин // Остеопороз и остеопатии. – 1999. – № 3. – С. 2-6.

5. Остеопороз как медико-социальная проблема / С.П. Миронов // III конференция с международным участием «Проблема остеопороза в травматологии и ортопедии» ; Москва, 14-15 февр. 2006 г. – М. : ЦИТО им. Н.Н. Приорова, 2006. – 3 с.

6. Остеопороз как фактор риска асептической нестабильности при эндопротезировании тазобедренного сустава / С.С. Родионова, В.И. Нуждин, А.К. Морозов и др. // Вестник травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова. – 2007. – № 2. – С. 35-40.

7. Протективное действие эналаприла и лозартана при экспериментальном остеопорозе / О.С. Гудырев, А.В. Файтельсон, М.В. Покровский и др. // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2011. – № 2. – С. 9-14.

8. Рожинская, Л.Я. Системный остеопороз / Л.Я. Рожинская // Практическое руководство для врачей. – М. : Издатель Мокеев. – 2000. – С.195.

9. Руководство по остеопорозу / под ред. Л.И. Беневоленской. – М .: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. – 524 с.

10. Стабровская, Н.В. Исследование эндотелио- и остеопротективных эффектов некоторых антиоксидантов : автореф. дис. … канд. мед. наук (14.03.06) / Н.В. Стабровская; КГМУ. – Курск, 2011. – 22 с.

11. Фармакологическая коррекция экспериментального остеопороза и переломов на его фоне / А.В. Файтельсон, Г.М. Дубровин, О.С. Гудырев и др. // Вест. травм. и ортопед. им. Н.Н. Приорова. – 2010. – № 3. – С. 47-51.

12. Abrahamsen, B. Excess mortality following hip fracture: a systematic epidemiological review.Osteoporos / B. Abrahamsen // Int. – 2009. – Vol. 20(10) – P. 1633-50.

13. Adachi, J.D. Impact of prevalent fractures on quality of life: baseline results from the global longitudinal study of osteoporosis in women / J.D. Adachi // Mayo Clin. Proc. – 2010. – Vol. 85(9) . – P. 806-813.

14. Angiotensinconverting enzyme inhibitors and AT1receptor antagonist restore nitric oxide synthase (NOS) activity and neuronal NOS expression in the adrenal glands of spontaneously hypertensive rats / F. Qadri, T. Arens, E.C. Schwartz et al. // Jpn. J. Pharmacol. – 2001. – Vol. 85. – P. 36-59.

15. Burge, R. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005-2025. / R. Burge // J. Bone Miner Res. –2007. – Vol. 22(3). – P. 465-75.

16. Center, J.R. Risk of subsequent fracture after low-trauma fracture in men and women / J.R. Center // JAMA. – 2007.– Vol. 297(4). – P. 387-94.

17. Gillespie, L.D. Interventions for preventing falls in older people living in the community / L.D. Gillespie et al. // Cochrane Database Syst. Rev. – 2009. – Vol. 2. – CD007146.

18. Johnell, O. Epidemiology of osteoporotic fractures. Osteoporos / O. Johnell, J. Kanis // Int. – 2005. – Vol. 16. – Suppl 2. – S. 3-7.

19. Resveratrol a red wine constituent polyphenol, prevents superoxide-dependent inflammatory responses induced by ischemia/reperfusion, platelet-activating factor, or oxidants / S. Shigematsu, S. Ishida, M. Hara et al. / Free Radic. Biol. Med. – 2003. – Vol. 34. – P. 810-817.

ASSESSMENT OF IMPACT OF RESVERATROL, ENALAPRIL, LOSARTAN AND THEIR COMBINATIONS ON QUALITY OF CONSOLIDATION OF EXPERIMENTAL FRACTURES ON THE BACKGROUND OF MODELLED OSTEOPOROSIS

A.V. FAITELSON [1]
O.S. GUDYREV [2]
M.V. POKROVSKIY [2]
N.U. KOKLINA [1]

[1)] Kursk state medical university

[2)] Belgorod state national research university

e-mail: vladimirfaitelson@gmail.com

In an experiment on female Wistar albino rats (140 animals) we studied the osteoprotective effect of resveratrol, enalapril, losartan, and their combinations on the model of osteoporotic fractures. Renzveratrol, enalapril, losartan, and their combinations prevented the reduction of the microcirculation in callus, as well as increasing the number of experimental fractures consolidation.

Keywords: osteoporosis, microcirculation, endothelial dysfunction, intramedullar fixation, enlapril, losartan, resveratrol.

УДК 616.018.74-008.6-085.33

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЗИТРОМИЦИНА В КОРРЕКЦИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВАСКУЛИТЕ

Е.С. ЧЕРНОМОРЦЕВА [1]
М.В. ПОКРОВСКИЙ [2]
Т.Г. ПОКРОВСКАЯ [2]
Э.Н. ДУДИНА [1]
Е.А. КОНОВАЛОВА [1]
О.А. СТАРОСЕЛЬЦЕВА [1]
О.В. ФИЛИППОВА [2]
В.А. РУЖЕНКОВ [2]

[1] Курский государственный медицинский университет

[2] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: cheses11@rambler.ru

На лабораторных животных проведено исследование эндотелиопротективных эффектов азитромицина при моделировании реактивного поствакцинального васкулита.

Исследуемый макролидный антибиотик в значительной степени приводит к коррекции смоделированного патологического состояния.

Ключевые слова: азитромицин, васкулит, коэффициент эндотелиальной дисфункции, эндотелиальная дисфункция.

Эпидемиологические и клинические исследования позволяют предположить связь между инфекцией или воспалением и риском сердечно-сосудистых заболеваний [12].

В настоящее время обнаружено два типа связи: связь между хроническим вялотекущим воспалением/инфекцией и медленным процессом атерогенеза и связь между острой системной воспалительной реакцией и транзиторно повышенным риском острого сердечно-сосудистого заболевания. Последнее может быть основанием повышенной сердечно-сосудистой смертности и заболеваемости, наблюдаемой после инфекции дыхательных путей.

Предполагается, что изменения в эндотелиальной активности могут выявить связь между воспалением и риском острого сердечно-сосудистого заболевания. Отсутствие нормальных сосудорасширяющих, антиагрегантных свойств сосудистого эндотелия могут перевесить баланс в пользу спазма сосудов, тромбоза и воспаления и способствовать переходу от «стабильной» до «нестабильной» атеромы.

Несмотря на очевидное значение воспалительной реакции при атеросклерозе, пусковой механизм ее неизвестен. В настоящее время внимание сосредоточено на инфекционных источниках как потенциальных инициаторах атеросклеротического поражения сосудов. Наряду с традиционными подходами к разработке средств профилактики и лечения эндотелиальной дисфункции как предшественника атеросклероза разрабатываются и новые направления. Работами последних лет показана роль инфекционного (цитомегаловирусы, Ch. Pneumoniae, H. Pylori) и воспалительного факторов в развитии и волнообразном течении атеросклероза [6].

Коррекция эндотелиальной дисфункции (ЭД) при сердечно-сосудистой патологии на сегодняшний день является одним из наиболее перспективных направлений. Точками приложения терапии ЭД являются восстановление равновесия провоспалительных и противовоспалительных медиаторов, обеспечивающих в норме оптимальное течение всех эндотелийзависимых процессов.

Оксид азота, как мощный эндогенный вазодилататор, принимает участие в регуляции системного и легочного сосудистого сопротивления и процессах коагуляции крови. Кроме того, он подавляет пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов. В этой связи, закономерным является тот факт, что при снижении выработки оксида азота активируются и перемещаются в ядро факторы транскрипции, неактивные в нормальной эндотелиальной клетке, что приводит к транскрипции генов, запускающих каскад реакций, ведущих к активации цитокинов (интерлейкина I и фактора некроза опухоли α) и экспрессии молекул адгезии (Е-селектин, VCAM-1, ICAM-1) на поверхности эндотелиоцитов. Данные процессы стимулируют воспалительную реакцию в сосудистой стенке за счет увеличения связывания и трансэндотелиальной миграции лейкоцитов, таким образом запуская атерогенез [5].

Последние сведения о неантибактериальных противовоспалительных, антиоксидантных и антикоагулянтных свойствах макролидов [3, 14] позволяют предпринять

попытку медикаментозно оптимизировать экспериментальную посвакцинально-васкулитную эндотелиальную дисфункцию с помощью 15-членного азалида азитромицина.

Цель работы. Изучение эндотелиопротективных эффектов азитромицина при моделировании экспериментальной поствакцинально-васкулитной эндотелиальной дисфункции.

Материалы и методы. Опыты проводили на кроликах самцах породы шиншилла массой 3,0-3,5 кг. Моделирование воспалительной реакции сосудов осуществляли путем введения вакцины Salmonella Typhi («Тифивак» вакцина брюшнотифозная спиртовая сухая, РN№ 000661/01, Санкт-Петербургский НИИ вакцин и сывороток и предприятие по производству бактерийных препаратов) однократно подкожно в дозе 0,02 мл/кг. Температуру тела животного измеряли электронным термометром per rectum перед вакцинированием, через 8, 24, 36, 48 и 72 часа после вакцинации.

Через 8, 24, и 48 часов после вакцинации брались анализы крови из краевой вены уха. Сыворотка, полученная путем центрифугирования, была помещена в емкость и хранилась при -70°С для последующего измерения количества фактора некроза опухоли (ФНОα). Через 48 часов от начала эксперимента под наркозом вводили катетер в левую сонную артерию, болюсное введение фармакологических агентов осуществляли в бедренную вену. Посредством датчика TSD104A MP100 Systems и аппаратно-программной системы производства Biopac Systems Inc., USA, измеряли и непрерывно регистрировали показатели кардиогемодинамики: систолическое артериальное давление, диастолическое артериальное давление и частоту сердечных сокращений (ЧСС). Функциональные пробы: эндотелийзависимая вазодилатация (ЭЗВД) – внутривенное введение ацетилхолина, эндотелийнезависимая вазодилатация (ЭНВД) – внутривенное введение нитропруссида натрия.

Исследуемый препарат зитромицин (субстанция азитромицина моногидрата, серия 0001/2 (Chem-East LTD)) вводился внутрижелудочно через зонд за 15 минут до коронароокклюзии в дозе 30 мг/кг.

При действии исследованных препаратов достоверность наблюдавшихся изменений параметров, как абсолютных, так и в процентах от исходного уровня, определяли разностным методом вариационной статистики с нахождением средних значений сдвигов (М), средней арифметической (+m) и вероятности возможной ошибки (Р) по таблицам Стьюдента. Различия оценивали как достоверные, начиная с $p<0,05$. Для расчётов использовали программу для статистического анализа Microsoft Excel 7.0.

Результаты. Температура тела перед вакцинированием животных в среднем составляла 38,6±0,1°С. В течение 8 часов после вакцинации температура закономерно повышалась на 0,8°С, затем ее значение постепенно снижалось, что отражало динамику реактивных воспалительных изменений организма.

Уровень в плазме важнейшего регулятора воспалительных и иммунных процессов – провоспалительного цитокина ФНОα составлял 12,8±0,5пг/мл. Через 8 ч после назначения полисахаридной вакцины наблюдалось значительное увеличение уровня ФНОα до 61,0±6,3 пг/мл. Затем, в исследованные промежутки времени, этот показатель постепенно повышался и на вторые сутки эксперимента достигал значения 84,1±0,3 пг/мл. В дальнейшем его содержание снизилось до 50,1±1,3 пг/мл, что отражало интенсивность происходящих воспалительных реакций в организме.

Показатели гемодинамики были определены у интактных животных и у вакцинированных кроликов через 48 и 72 часов после введения вакцины. Вакцинация не оказала эффект на кровяное давление или уровень сердцебиения. Так, среднее артериальное давление у интактных кроликов составляло 104,7±3,2 мм рт. ст., у вакцинированных животных существенно не изменилось – 114,4±4,2 мм рт. ст. (48 часов) и 102,3±1,7 мм рт. ст. (72 часа). ЧСС составляла 292,1±33,0 уд./мин. в контрольной группе, 302,4±20,1 уд./мин. (48 часов) и 300,1±53,0 уд./мин. (72 часа) соответственно при вакцинации.

Дилатацию артериальных сосудов определяли после местного внутривенного вливания вещества, чье расширяющее действие зависит от функции сосудистого эндотелия – ацетилхолина (АХ), и вещества, чье действие напрямую расслабляет гладкую мускулатуру сосудов, – нитропруссида натрия (НП). Ацетилхолин широко применяется для тестирования способности эндотелия генерировать сосудорасширяющие факторы; действует путем стимулирования продукции оксида азота в этом сосудистом слое. Пониженная действенность ацетилхолина в эндотелии наблюдается у пациентов с широким разнообразием сердечно-сосудистых заболеваний и была признана индикатором эндотелиальной дисфункции.

В данном исследовании время сосудистой реакции на ацетилхолин через 48 ч после вакцинации было подавлено на 52,2%. Следует отметить, что реакция на донор оксида азота (нитроглицерин) несколько увеличилась. Эффект эндотелийзависимой вазодилатации вернулся к нормальному уровню через 72 часа.

Показатель, характеризующий степень эндотелиальной дисфункции, – коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД) составил 1,1±0,2 усл. ед. у интактной группы, 3,9±0,5 усл. ед. – через 48 часов у животных, получавших «Тифивак». Через 72 часа КЭД снизился до нормальных значений. Полученная на 2-е сутки вакцинации достоверная разница КЭД в 3,5 раза может свидетельствовать о возможности использования модели реактивного васкулита в оценке фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции (табл.).

Таблица

Влияние азитромицина в дозе 30 мг/кг на коэффициент эндотелиальной дисфункции и уровень ФНОα при моделировании поствакцинально-васкулитной эндотелиальной дисфункции (M±m, n=10)

Группы животных	*Функциональная проба*	*САД*	*ДАД*	*Время сосудистой реакции, с*	*КЭД, усл. ед.*	*ФНОα, пг/мл*
Интактные кролики	Исходные	121,8±3,6	96,1±4,3		1,1±0,2	12,8±0,5
	АХ	70,2±2,4	54,1±2,9	72,8±5,0		
	НП	87,5±3,6	68,8±2,8	103,5±10,4		
Вакцина (0,02 мл/кг)	Исходные	126,5±6,0	107,5±3,9		3,9±0,5#	84,1±0,3#
	АХ	69,4±4,2	51,9±4,3	38,0±3,5#		
	НП	79,5±3,9#	53,4±2,2#	145,6±7,4#		
Вакцина (0,02 мл/кг)+ азитромцин (30 мг/кг)	Исходные	138,8±7,1	109,1±3,5		0,9±0,1##	43,6±0,04##
	АХ	79,5±5,1	54,0±2,4	82,9±7,2##		
	НП	101,6±5,8##	77,3±2,6##	129,0±6,6##		

Примечание: # – p<0,05 в сравнении с интактными; ## – p<0,05 в сравнении с вакцинированными животными.

Концентрация в плазме провоспалительного цитокина ФНОα повысилась в 6,5 раза, и можно предположить, что ФНОα может быть важным цитокином, способствующим реакциям, наблюдаемым после этого вида вакцинации.

Животные на 2-е сутки вакцинации получали внутрижелудочно азитромицин в дозе 30 мг/кг, при этом КЭД достоверно снижался и соответствовал значению 0,9±0,1 усл. ед., что характеризует выраженное эндотелиопротективное действие азитромицина (табл.).

Противовоспалительная активность азитромицина подтверждалась данными о снижении содержания в крови ФНОα. Данный макролид достоверно понизил концентрацию провоспалительного цитокина на 51,8% (табл.).

Моделирование системного васкулита привело к развитию острого гломерулита в виде резкого увеличения количества в клубочках ядросодержащих клеток – лейкоцитов, мезангиальных макрофагов, пролиферирующих эндотелиальных клеток. Введение азитромицина на фоне предварительного вакцинирования достоверно снижает степень иммуно-воспалительной реакции в клубочках почек.

Обсуждение результатов. Исследования в области молекулярной биологии, генетические исследования на животных позволили получить убедительные доказательства воспалительной теории атеросклероза [1]. В ответ на воспалительное повреждение клетки эндотелия активируются и экспрессируют различные цитокины — интерлейкин-1 (ИЛ-1), фактор некроза опухолиа, а также хемокины (хемоаттрактант-протеин моноцитов МСР-1, ИЛ-8), факторы роста. Провоспалительные цитокины (ИЛ-1, ФНОα), секретируемые моноцитами или лимфоцитами, выполняют ключевую роль в привлечении лейкоцитов к эндотелию. ФНОα играет центральную роль в развитии острой фазы воспаления, стимулируя эндотелий к продукции адгезивных молекул, коагулянтов, увеличивая выработку фактора активации тромбоцитов и усиливая приток фагоцитов в очаг воспаления [8].

Учитывая вышеперечисленное, нами определялась концентрация ФНОα как основного информативного маркера воспаления.

В нашем эксперименте подкожная инъекция полисахаридной вакцины вызывала незначительную воспалительную реакцию у здоровых животных, сопровождающуюся повышением температуры тела и количества ФНОα в крови и развитием картины острого гломерулита почек в виде резкого увеличения количества в клубочках ядросодержаших клеток, и привела к значительному, но временному подавлению зависимого от эндотелия расслабления артерий, о чем свидетельствует достоверное повышение КЭД через 48 часов после вакцинации в 3,5 раза с 1,1±0,2 у интактной группы, до 3,9±0,5 у вакцинированных животных. Эти результаты демонстрируют, что даже относительно слабая системная воспалительная реакция

приводит к значительным изменением эндотелиальной функции, обычно связанной с повышенным риском сердечно-сосудистых заболеваний.

Механизмы, путем которых острое воспаление может нарушить зависимое от эндотелия расслабление, полностью не ясны. Одна из возможностей – в том, что определенные цитокины и фактор транскрипции нуклеарный фактор каппа-В (NF-кВ) вызывают экспрессию индуцибельной изоформы синтазы оксида азота (iNOS) в стенке сосуда (изоформа, вызывающая значительную продукцию оксида азота, наблюдаемую при воспалении и сепсисе), и это значительное производство NO, совмещенное с генерированием супероксида, вызывает повреждение эндотелия [7]. Альтернативная возможность – в том, что цитокины вызывали понижение экспрессии конституциональной эндотелиальной NOS (eNOS).

Ингибиторное влияние ФНОα на ЭЗВД возможно посредством влияния не только на NO продукцию, но также блокировкой вазодилатации в ответ на арахидоновую кислоту (прекурсору синтеза простаноидов) [5, 9]. Предполагается также, что ФНОα может угнетать или извращать сосудистые реакции посредством разнообразных механизмов, а именно: уменьшения экспрессии субъединиц eNOS, ассоциированной с повышением содержания ее индуктивной формы (iNOS) в эндотелии и гладкомышечных клетках сосудов.

Среди возможных механизмов изученного нами протективного действия азитромицина при ЭД предполагаются следующие: ингибирование экспрессии или инактивация eNOS и снижение синтеза NO за счет прямых противовоспалительных, антиоксидантных, иммуномодуляторных и антитромботических свойств антибиотиков. Показано, что макролиды оказывают воздействие на фагоциты и, как следствие, снижают продукцию цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНОα), лизосомальных ферментов, С-реактивного белка, фактора Виллебранда и активных форм кислорода, через которые реализуются эффекты ЭД [10, 11, 13]. Эти препараты активируют NOS, снижают активность ксантиноксидазы, малонового диальдегида, которые являются важными индикаторами оксидативного стресса при ЭД [2].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об эффективном снижении КЭД и ФНОα под влиянием азитромицина у животных с моделированием поствакцинальной эндотелиальной дисфункции. Это может объясняться тем, что макролиды препятствуют понижению уровня регуляции эндотелиальной синтазы окиси азота, снижая количество провоспалительных цитокинов ФНОα, его стимулирующего. Антиоксидантные свойства азитромицина способствуют уменьшению действия повреждающих эндотелий факторов.

Дальнейшее изучение фармакологического действия макролидов позволит расширить диапазон показаний для назначения этих препаратов в качестве корректоров эндотелиальной дисфункции при сердечно-сосудистой патологии.

Выводы. Результаты демонстрируют, что вакцинация полисахаридной вакциной S. Typhi временно, но значительно нарушает способность артериального эндотелия производить эндогенные расширители сосудов в ответ на агонист, при этом наблюдались явления гломерулита в почках и рост уровня провоспалительного цитокина ФНОα в крови.

Азитромицин в дозе 30 мг/кг проявлял выраженное эндотелиопротективное действие на модели реактивной поствакцинально-васкулитной эндотелиальной дисфункции, что выражалось в преобладании эндотелийзависимого расслабления сосудов и снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции КЭД до уровня интактных животных, а также в достоверном снижении содержания индикатора острого воспаления ФНОα. Позитивные морфологические изменения в клубочках почек подтверждают протективный эффект азитромицина.

Исходя из вышеизложенного, существует необходимость исследования потенциальной роли и перспективности терапии макролидными препаратами с плейотропными эндотелиопротективными свойствами как дополнения к существующим парадигмам коррекции дефицита оксида азота при сердечно-сосудистых заболеваниях.

Литература

1. Моисеев, В.В. Роль воспаления в процессах атерогенеза и в развитии сердечно-сосудистых осложнений / В.В. Моисеев // Врач. – 2003. – № 3. – С. 3-6.

2. Aktan, B. Effect of macrolide antibiotics on nitric oxide synthase and xanthine oxidase activities, and malondialdehyde level in erythrocyte of the guinea pigs with experimental otitis media with effusion / B. Aktan, S. Taysi, K. Gümüştekin // Pol. J. Pharmacol. – 2003. – Vol. 55, № 6. – P. 1105-1110.

3. Anti-inflammatory and immunomodulating effects of clarithromycin in patients with cystic fibrosis lung disease / A.L. Pukhalsky, G.V. Shmarina, N.I. Kapranov et al. // Med. Inflamm. – 2004. – Vol. 13. – P. 111-117.

4. Culic, O. Anti-inflammatory effects of macrolide antibiotics / O. Culic, V. Erakovic, M.J. Parnham // Eur. J. Pharmacol. – 2001. – Vol. 429. – P. 209-229.

5. Diminished NO release in chronic hypoxic human endothelial cells / L. Ostergaard, E. Stankevicius, M. R. Andersen et al. // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2007. – Vol. 293, № 5. – P. 2894-2903.
6. Dunne, M. Infectious Agents and Cardiovascular Disease / M. Dunne // The Infectious Etiology of Chronic Diseases: Defining the Relationship, Enhancing the Research, and Mitigating the Effects – Washington, D.C.: The National Academic Press, 2004.
7. Ialenti, A. Role of nuclear factor-kappaB in a rat model of vascular injury Naunyn Schmiedebergs / A. Ialenti, A. Ianaro, P. Maffia // Arch. Pharmacol. – 2001. – Vol. 364, № 4. – P. 343-350.
8. Intra-Arterial Tumor Necrosis Factor-{alpha} Impairs Endothelium-Dependent Vasodilatation and Stimulates Local Tissue Plasminogen Activator Release in Humans / S. Chia, M. Qadan, R. Newton et al. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2003. – Vol. 23, № 4. – P. 695-701.
9. Pacher, P. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease / P. Pacher, J.S. Beckman, L. Liaudet // Physiol. Rev. – 2007. – Vol 87. – P. 315-424.
10. Parchure, N. Effect of azithromycin treatment on endothelial function in patients with coronary artery disease and evidence of Chlamydia pneumoniae infection / N. Parchure, E.G. Zouridakis, J.C. Kaski // Circulation. – 2002. – Vol. 105, № 11. – P. 1298-1303.
11. Sharma, S. Immunomodulatory effects of macrolide antibiotics in respiratory disease: therapeutic implications for asthma and cystic fibrosis / S. Sharma // Paediatr Drugs. – 2007. – Vol. 9, № 2. – P. 107-118.
12. Smeeth, L. The role of infection in cardiovascular disease: more support but many questions remain / L. Smeeth, J. P. Casas, and A. D. Hingorani // Eur. Heart J. – 2007. – Vol.28(10). – P. 1178-1179.
13. Tamaoki, J. Clinical implications of the immunomodulatory effects of macrolides / J. Tamaoki, J. Kadota, H. Takizawa // Am. J. Med. – 2004. – Vol. 117 (Suppl. 9A). – P. 5S-11S.
14. The effect of clarithromycin on inflammatory markers in chronic obstructive pulmonary disease: preliminary data / I. Basyigit, R. Yildiz, S. Ozkara et al. // Ann. Pharmacother. – 2004. – Vol. 38, № 9. – P. 1400-1405.
15. Xue-Mei, O.U. Macrolides attenuate mucus hypersecretion in rat airways through inactivation of NF-Kb / O.U. Xue-Mei // Respirology. – 2008. – Vol. 11, Issue 1. – P. 63-72.
16. Zhang, H. Role of TNF-alpha in vascular dysfunction / H. Zhang, Y. Park, J. Wu // Clin. Sci. – 2009. – Vol. 116, № 3. – P. 219-230.

AZITROMYCIN EFFECTS IN CORRECTION OF THE ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN EXPERIMENTAL VASCULITIS

E.S. CHERNOMORTSEVA [1]
M.V. POKROVSKIY [2]
T.G. POKROVSKAYA [2]
E.N. DUDINA [1]
E.A. KONOVALOVA [1]
O.A. STAROSELTSEVA [1]
O.V. FILIPPOVA [2]
V.A. RUZHENKOV [2]

[1)] Kursk state medical university

[2)] Belgorod state national research university

e-mail: cheses11@rambler.ru

The investigation of the endothelioprotective effects of the macrolide antibiotic Azythromycin with the simulation of the reactive postvaccinal vasculitis is carried out in laboratory animals.

The analyzed macrolide antibiotic largely leads to correction of the simulated pathological condition.

Keywords: Azythromycin, vasculitis, coefficient of endothelial dysfunction, endothelial dysfunction.

УДК 617.764.5-089.819.1

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НАНОСТРУКТУРНОГО СТЕНТА ПРИ ОБСТРУКЦИИ МОЧЕТОЧНИКА

С.В. ШКОДКИН [1,2]
М.И. КОГАН [3], С.В. ИВАНОВ [4]
Ю.Б. ИДАШКИН [2], О.И. СТЕПЧЕНКО [2]
А.В. ЛЮБУШКИН [1]
О.В. МИРОШНИЧЕНКО [1]

[1] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

[2] Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа

[3] Ростовский государственный медицинский университет

[4] Курский государственный медицинский университет

e-mail: shkodkin-s@mail.ru

Внутреннее стентирование – приоритетный способ дренирования при хирургическом лечении обструктивных поражений верхних мочевых путей. Адекватность функционирования внутреннего стента обеспечит успех реконструкции и позволит снизить частоту осложнений.

В основной экспериментальной группе отмечено статистически достоверное снижение ретенционных изменений лоханки и ренального кровотока.

Ключевые слова: мочеточниковый стент, рефлюкс, гидронефроз, пиелонефрит.

Введение. Восстановление пассажа мочи по верхним мочевым путям рутинно обеспечивается установкой наружного (нефростомия, пиелостомия) или внутреннего (самоудерживающийся катетер-стент) дренажа [1, 2, 4, 11, 13]. Такие безусловные преимущества последнего способа, как простота установки, необязательность рентгенологического или ультразвукового контроля, отсутствие наружного дренажа и риска дренажной нозокомиальной инфекции создает ему большую популярность среди практикующих урологов [1, 5, 10, 20]. Поэтому внутреннее дренирование с успехом используется и рекомендуется многими авторами после эндоурологических манипуляций (нефро- и уретеролитотрипсия, эндоуретеро- и пиелотомия) на верхних мочевых путях, при выполнении реконструктивно-пластических операций на мочеточнике и лоханочно-мочеточниковом сегменте, радикальной хирургии мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря [2, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11, 17, 19]. Менее изучена в литературе проблема дренажных осложнений. К недостаткам внутреннего дренирования следует отнести: трудности или невозможность эндоскопической установки и удаления стентов при обструктивной патологии пузырно-уретрального сегмента, миграцию стента и неадекватное его позиционирование при установке без рентгенологического контроля, обструкцию стента воспалительным детритом, солями, сгустками крови, ограниченные сроки внутреннего дренирования, пузырно-мочеточниковый рефлюкс с развитием рефлюкс-нефропатии и восходящей инфекции [5, 7, 11, 15, 16, 18, 21]. Встречаются единичные публикации, в которых сообщается о выявленных экспериментально нарушениях моторики и микроциркуляции в стентированном мочеточнике, склеротических изменениях в его стенке даже на фоне непродолжительного дренирования [8, 12, 14, 22].

Цель работы: оценить эффективность использования экспериментального наноструктурного стента в дренировании уретерогидронефроза.

Материал и методы. Исследование эффективности использования экспериментального наноструктурного стента при обструкции полого органа малого диаметра изучено на модели дилатированного мочеточника кролика. Двухнедельный уретерогидронефроз моделировали созданием фиксированного перегиба юкставезикального отдела правого мочеточника лигатурой (рис. 1), фиксированной к мышцам передней брюшной стенки. На этом сроке смоделированной обструкции у всех животных развилась облитерация юкставезикального отдела мочеточника. Проходимость верхних мочевых путей восстановлена экстравезикальным уретероцистоанастомозом с антирефлюксной защитой по Litbetter-Politano. Влияние стента на дилатированный мочеточник изучено на 20 кроликах самцах породы Серый великан массой 4020-4460 граммов с соблюдением правил гуманного обращения с животными

соответственно «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», принятой Советом Европы (Strasbourg, Франция, 1986) и директивой совета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 «По согласованию законов, правил и административных распоряжений стран-участниц в отношении защиты животных, используемых в экспериментальных и научных целях». В основной группе (10 животных) выполнена имплантация экспериментального стента (патент РФ №112045 от 04.04.2011) наружным диаметром 3 Ch и длиной 4 см, изготовленного из никелид-титановой проволоки диаметром 100 мкм, защищенного оригинальным наноразмерным покрытием на основе аморфного углерода и атомарного серебра. В качестве контроля установлен внутренний полиуретановый мочеточниковый стент «White-star standart» фирмы Urotech (ФРГ) аналогичного диаметра длиной 8 см. Экспериментальные стенты изготовлены силами Научно-образовательного и инновационного центра «Наноструктурные материалы и нанотехнологии» НИУ «БелГУ», научный руководитель центра – д.ф.-м.н., профессор Ю.Р. Колобов, и Научно-исследовательской лаборатории ионно-плазменных технологий НИУ «БелГУ», начальник – к.ф.-м.н., профессор А.Я. Колпаков. Статистических различий по возрасту в группах наблюдения выявлено не было (p>0,1).

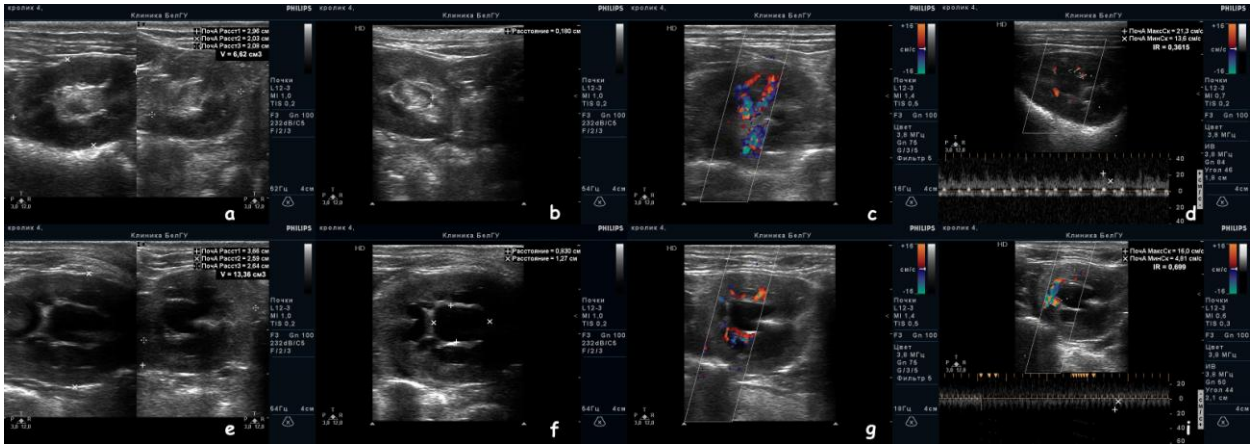


Рис. 1. Ультразвуковая картина до (a – d) и спустя две недели (e – i) после моделирования уретерогидронефроза

Ультразвуковое исследование почек проводили в вентральном положении из поясничного или межреберного доступа на сканере Philips с использованием линейного датчика 8 МГц до моделирования уретерогиднонефроза, на фоне двух недельной обструкции и еженедельно после реконструкции. Регистрировали морфометрические размеры и объем почки (максимальные значения), толщину паренхимы, размер пирамидок (среднее четырех измерений), кортико-медуллярное соотношение, наибольший передне-задний размер лоханки и диаметр чашечек (четыре измерения), диаметр проксимального отдела мочеточника. Физиологию почечного кровотока на различных уровнях (почечная, сегментарная, кортико-медуллярная артерии) исследовали в совмещенном В+ЦДК+М – режиме, измеряли линейные систолическую и диастолическую скорости кровотока и вычисляли индекс резистентности сосудистой стенки.

Исследование выполнено в рамках государственного контракта № 14.740.11.0182 по теме: «Биомедицинское исследование изменений структур органов и тканей при имплантации стентов нового поколения».

Результаты и их обсуждение. Исходные показатели ультразвуковой морфометрии почек и ренального кровотока (имели нормальное распределение) не выходили за рамки доверительных интервалов. Ультразвуковая картина двухнедельной обструкции в обеих группах наблюдения характеризовалась развитием уретерогидронефроза со статистически достоверным увеличением объема почки, истончением паренхимы, расширением чашечно-лоханочной системы и мочеточника относительно исходных значений и контрлатеральной почки (p<0,01, рис. 1, табл.). Статистически достоверных различий в морфометрических и гемодинамических данных между исследуемыми группами на этом сроке наблюдения отмечено не было (p>0,05, табл.). Сонографические показатели первых двух недель после стентирования также достоверно не различались в исследуемых группах (p>0,05, табл.). На этом сроке в обеих группах отмечен частичный регресс ретенционных изменений: передне-задний размер лоханки к концу первой и второй недели стентирования составил в основной группе 7,52±1,95 мм и

5,07±1,33 мм, в контрольной 7,11±1,04 мм и 7,61±1,45 мм соответственно (p>0,05), при этом отсутствовала существенная динамика по отношению к объему стентированной почки, толщине паренхимы и гемодинамическим показателям (p>0,05, табл.).

Таблица

Динамика ультразвуковой морфометрии и допплерографии почки кролика

Сроки / *Показатели*	*Исходные показатели*	*14-е сутки эксперимента (обструкции)*	*Сутки после стентирования уретероцистоанастомоза*			
			7-е сутки	*14-е сутки*	*21-е сутки*	*30-е сутки*
основная группа						
Объем почки, см³	5,71±1,14	13,05±2,83	11,55±2,74	11,23±2,18	8,83±2,15	8,67±1,88
Толщина паренхимы, мм	3,14±0,25	2,41±0,18	2,33±0,19	2,48±0,23	2,55±0,14	2,62±0,14
Переднее-задний размер лоханки, мм	2,27±0,22	10,26±1,53	7,52±1,95	5,07±1,33	3,81±0,69*	3,06±0,75*
IR на паренхиматозной артерии	0,38±0,06	0,73±0,09	0,65±0,11	0,61±0,11	0,66±0,08	0,51±0,07*
контрольная группа						
Объем почки, см³	6,04±1,21	12,54±3,17	12,05±2,98	12,11±2,14	10,58±1,61	10,08±1,85
Толщина паренхимы, мм	3,02±0,17	2,57±0,13	2,40±0,29	2,59±0,17	2,37±0,28	2,53±0,19
Переднее-задний размер лоханки, мм	2,25±0,22	9,72±1,17	7,11±1,04	7,61±1,45	6,83±1,24*	6,38±0,89*
IR на паренхиматозной артерии	0,39±0,04	0,77±0,12	0,66±0,1	0,67±0,09	0,64±0,06	0,68±0,05*

Примечание: * – имеются статистически значимые различия в группах наблюдения (p<0,05).

На третьей и четвертой неделе стентирования в основной группе зарегистрировано статистически достоверное снижение передне-заднего размера лоханки по сравнению с контролем, что составило 3,81±0,69 мм и 3,06±0,75 мм в основной и 6,83±1,24 мм и 6,38±0,89 мм в контрольной группах соответственно (p<0,05, табл. 1). К четвертой неделе стентирования в основной группе отмечено отсутствие ретенционных изменений в верхних мочевых путях и, соответственно, статистически достоверных различий с исходными показателями (табл., p>0,05). В контрольной группе на данном сроке персистировали нарушения уродинамики в верхних мочевых путях: к концу месяца стентирования передне-задний размер лоханки составил 6,38±0,89 мм, тогда как в основной группе передне-задний размер лоханки равнялся 3,06±0,75 мм, мочеточник не визуализировался (рис. 2, p<0,05). Ультразвуковая динамика снижения объема и увеличения толщины паренхимы стентированной почки в основной группе была несколько лучше, но не имела статистически достоверных различий с контролем. Данные показатели в обеих группах статистически достоверно не улучшились относительно модели уретерогиднонефроза и через месяц стентирования, что связано с необратимыми изменениями, произошедшими при моделировании уретерогиднонефроза и не зависящими от способа дренирования почки (табл.). Кроме того, различия в исследуемых группах отсутствовали: в контрольной объем почки на этом сроке составил 10,08±1,85 см³, толщина паренхимы 2,53±0,19 мм, в основной – 8,67±1,88 см3 и 2,62±0,14 соответственно (p>0,05).

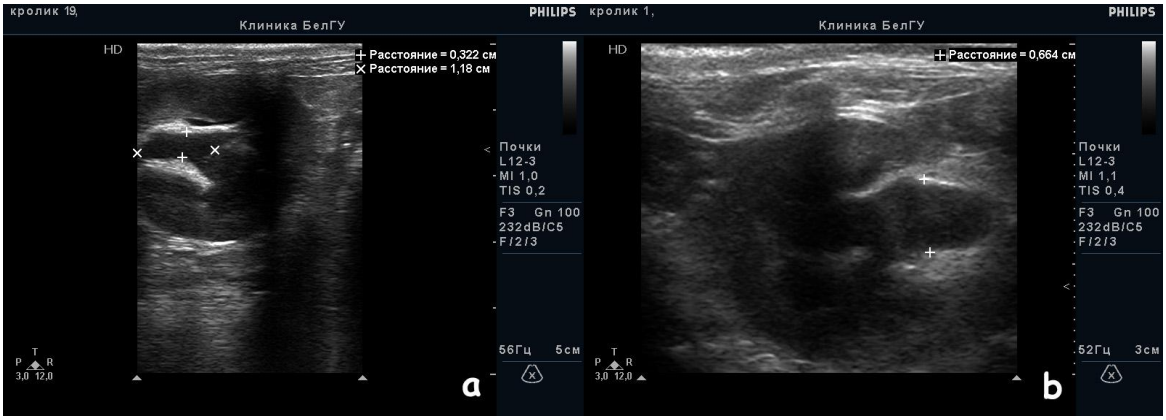


Рис. 2. Ретенционные изменения лоханки в основной (a) и контрольной (b) группах через месяц после стентирования уретероцистоанастомоза

Аналогичные тенденции были отмечены при исследовании ренального кровотока. На фоне двухнедельной обструкции мочеточника отмечены достоверные гемодинамические нарушения, проявившиеся ростом индексов резистентности на сегментарных и паренхиматозных артериях, различий между исследуемыми группами на данном сроке наблюдения выявлено не было (табл.). К моменту выполнения уретероцистоанастомоза и установки стента индексы резистентрости на паренхиматозных артериях в основной группе составили 0,73±0,09, в контрольной – 0,77±0,12 соответственно (p>0,05). Тенденция к снижению индексов резистентности на ренальных артериях прослеживалась только в основной группе с третьей недели после имплантации стентов, и только к выводу из эксперимента данные показатели имеют статистически достоверные различия с контролем и аналогичными значениями после моделирования уретерогидронефроза, составив на паренхиматозных артериях – 0,51±0,07, 0,68±0,05 и 0,73±0,09 соответственно (рис. 3, табл., p<0,05). В контрольной группе колебания индексов резистентности не имели статистически достоверных различий на протяжении всего срока наблюдения (табл., p>0,05).

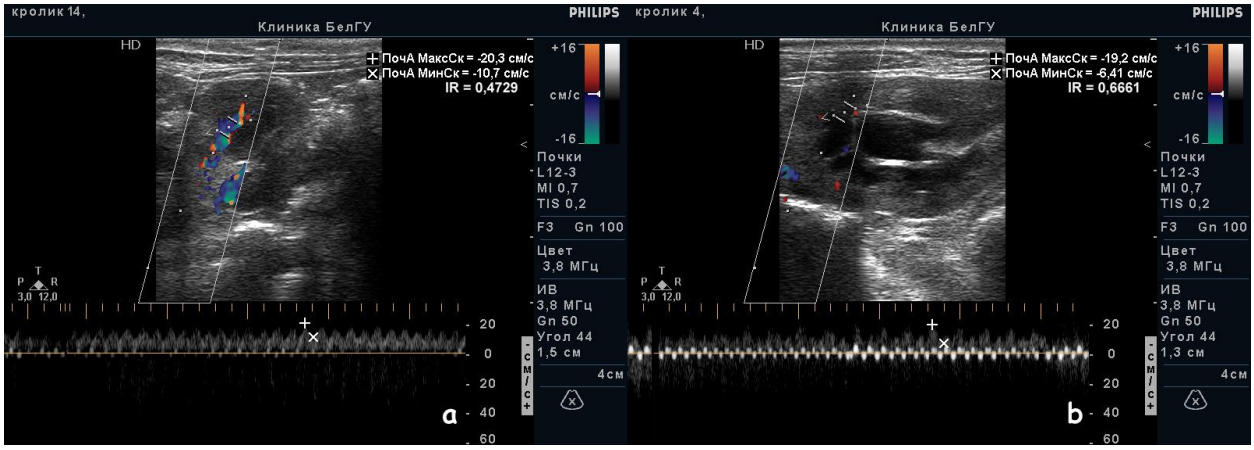


Рис. 3. Показатели ренального кровотока в основной (a) и контрольной (b) группах через месяц после стентирования уретероцистоанастомоза

Полученные сонографические данные, а именно, увеличение объема почки, истончение паренхимы, рост индексов резистентности на ренальных артериях и длительная персистенция этих показателей в обеих группах наблюдения, говорят о значимом повреждении почки даже на фоне непродолжительной (двухнедельной) обструкции. Константное сохранение ретенционных изменений в верхних мочевых путях на фоне стентирования полиуретановым стентом, вероятнее всего, связано с наличием пузырно-мочеточникового рефлюкса. Именно наличием рефлюкса и прогрессией рефлюкс нефропатии можно объяснить сохраняющиеся гемодинамические нарушения в стентированной почке животных контрольной группы.

Выводы:

1. На фоне дренирования экспериментальным наноструктурным стентом отмечен статистически достоверный регресс ретенционных изменений со стороны лоханки 3,06±0,75 мм, против 6,38±0,89 в контроле (p<0,05);
2. Сохранение нарушений уродинамики в верхних мочевых путях в контрольной группе вероятнее всего обусловлено пузырно-мочеточниковым рефлюксом, что объясняет ультразвуковые признаки нефросклероза в этой группе, на выходе из эксперимента IR – 0,68±0,05, в основной группе на этом сроке IR – 0,51±0,07 (p<0,05);
3. Изменения объема и толщины паренхимы связаны с моделью уретерогидронефроза, не зависели от вида используемого стента и явились необратимыми, несмотря на адекватное восстановление уродинамики в основной группе.

Литература

1. Аляев, Ю.Г. Мочекаменная болезнь. Актуальные вопросы диагностики и лечения / Ю.Г. Аляев, Л.М. Рапопорт, В.И. Руденко, Н.А. Григорьев // Врач. сословие. – 2004. – № 4. – С. 4-9.
2. Аполихин, О.И. Состояние урологической заболеваемости в Российской Федерации по данным официальной статистики / О.И. Аполихин, Е.П. Какорина, А.В. Сивков и др. // Урология. – 2008. – № 3. – С. 3-9.
3. Глыбочко, П.В. Стенты мемокат (MEMOKATH) в лечении обструктивных заболеваний мочевых путей / П.В. Глыбочко, Ю.Г. Аляев, М.А. Газимиев и др. // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. – Т. 6, № 2. – С. 227-231.

4. Дорончук, Д.Н. Выбор метода дренирования верхних мочевых путей при мочекаменной болезни / Д.Н. Дорончук, М.Ф. Трапезникова, В.В. Дутов // Урология. – 2010. – № 3. – С. 7-10.
5. Дорончук, Д.Н. Оценка качества жизни больных мочекаменной болезнью в зависимости от метода дренирования верхних мочевыводящих путей / Д.Н. Дорончук, М.Ф. Трапезникова, В.В. Дутов // Урология. – 2010. – № 2. – С. 14.
6. Комяков, Б.К. Паллиативное дренирование верхних мочевых путей при опухолевой обструкции мочеточников / Б.К. Комяков, Б.Г. Гулиев, А.Ж. Давранов // Амбулаторная хирургия. Стационарозамещающие технологии. – 2006. – № 2. – С. 17-19.
7. Мартов, А.Г. Улучшение качества жизни пациентов с внутренними стентами путем изменения их формы / А.Г. Мартов, Д.В. Ергаков, С.И. Корниенко и др.// Урология. – 2011. – № 2. – С. 7-13.
8. Мудрая, И.С. Функциональные состояния верхних мочевых путей при урологических заболеваниях : дис. ... д-ра мед. наук / И.С. Мудрая. – М., 2002.
9. Новикова, Е.Г. Структуры мочеточников у больных раком шейки матки / Е.Г. Новикова, А.А. Теплов, С.В. Смирнова, В.Ф. Онопко, И.Г. Русаков // Российский онкологический журнал. – 2009. – № 3. – С. 28-34.
10. Стентирование почек при уретерогидронефрозе у больных гиперплазией простаты больших размеров / Ю.Г. Аляев, Л.М. Рапопорт, Д.Г. Цариченко, С.В. Стойлов, В.О. Бушуев // Андрол. и генитал. хир. – 2008. – Вып. 3. – С. 43-44.
11. Трапезникова, М.Ф. Выбор способа дренирования мочевыводящих путей / М.Ф. Трапезникова,В.В. Дутов, А.А. Румянцев, Е.В. Русанова, А.Н. Злобин, В.В. Беляев // Урология. – 2011. – № 2. – С. 3-7.
12. Чепуров, А.К. Влияние длительного дренирования верхних мочевых путей мочеточниковыми стентами на функциональные способности почки / А.К. Чепуров, С.С. Зенков, И.Э. Мамаев, Е.А. Пронкин // Андрология и генитальная хирургия. – 2009. – С. 172.
13. Чепуров, А.К. Роль инфицирования верхних мочевых путей у больных с длительным дренированием мочеточниковыми стентами / А.К. Чепуров, С.С. Зенков, И.Э. Мамаев, Е.А. Пронкин // Андрология и генитальная хирургия. – 2009. – С. 173-173.
14. Чигоряев, В.К. Критерии определения сроков удаления стентов после операций по поводу гидронефроза / В.К. Чигоряев, А.В. Гудков, В.А. Давыдов и др. // Сибирский медицинский журнал (г.Томск). – 2008. – Т. 23, № 2. – С. 63-65.
15. Яненко, Э.К. Окклюзия мочевыводящих путей – основная причина развития ряда осложнений мочекаменной болезни / Э.К. Яненко, В.Б. Румянцев, Р.М. Сафаров, Н.В. Ступак // Урология. – 2003. – № 1. – С. 17-20.
16. Al-Kandari, A.M. Effects of proximal and distal ends of double-J ureteral stent position on postprocedural symptoms and quality of life: a randomized clinical trial / A.M. Al-Kandari, T.F. Al-Shaiji, H. Shaaban et al. //. J. Endourol. – 2007. – № 21. – P. 698-702.
17. Borin, J.F. Initial experience with full-length metal stent to relieve malignant ureteral obstruction / J.F. Borin, O. Melamud, R.V. Clayman // J. Endourol. – 2006. – № 20. – P. 300.
18. Chew, B.H. Pilot study of ureteral movement in stented patients: First step in undestanding dynamic ureteral anatomy to improve stent discomfort / B.H. Chew, B.E. Knudsen, L. Nott et al. // J. Endourol. – 2007. – № 21. – P. 1069-1075.
19. Evangelos, N. Metal stents in the urinary tract / N. Evangelos, A. Liatsikos, Dimitrios Karnabatidis, G.C. Kagadis // EAU-EBU Update series 5 (2007). – P. 77-88.
20. Haleblian, G. Ureteral stenting and urinary stone management: a systematic review / G. Haleblian, K. Kijvikain, J. de la Rosette, G. Preminger // J. Urol. (Baltimore). – 2008. – Vol. 179. – P. 424-430.
21. Sur, R.L. Efficacy of intravesical ropivacaine injection on urinary symptoms following ureteral stenting: a randomized, controlled study / R.L. Sur, G.E. Haleblian, D. Cantor et al. // J. Endourol. – 2008. – № 22. – P. 473-478.
22. Wong, L.M. Malignant ureteral obstruction: outcomes after intervention. Have things changed? / L.M. Wong, L.K. Cleeve, A.D. Milner, A.G. Pitman // J Urol. – 2007. – Vol. 178. – P. 1708.

ULTRASONIC EVALUATION OF EXPERIMENTAL NANOSTRUCTURED STENTS IN URETERAL OBSTRUCTION

S.V. SHKODKIN [1,2], M.I. KOGAN [3]
S.V. IVANOV [4], Y.B. IDASHKIN [2]
O.I. STEPCHENKO [2], A.V. LUBUSHKIN [1]
O.V. MIROSHNICHENKO [1]

[1] Belgorod state national research university

[2] Belgorod St. Joasaph regional hospital

[3] Rostov state medical university

[4] Kursk state medical university

e-mail: shkodkin-s@mail.ru

Internal stenting is the main way the drainage in the surgical treatment of obstructive diseases of the upper urinary tract. Proper functioning of the internal stent ensure the success of reconstruction and will reduce the incidence of complications.

The study group had a statistically significant decrease in retention changes of pelvis and renal blood flow.

Keywords: ureteral stent, reflux, hydronephrosis, pyelonephritis.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Алехин С.А.	–	кандидат медицинских наук, докторант кафедры хирургических болезней №2 Курского государственного медицинского университета
Алехина В.В.	–	аспирант кафедры акушерства и гинекологии Курского государственного медицинского университета
Артюшкова Е.Б.	–	доктор фармацевтических наук, директор НИИ экологической медицины Курского государственного медицинского университета
Арустамова А.А.	–	кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ «БелГУ»
Бахтина Н.Г.	–	врач первой категории, врач клинической лабораторной диагностики Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа
Беляев К.А.	–	студент 5 курса фармацевтического факультета НИУ «БелГУ»
Березников А.И.	–	кандидат медицинских наук, ассистент кафедры офтальмологии Курского государственного медицинского университета
Бесхмельницына Е.А.	–	клинический ординатор кафедры хирургии ИПМО НИУ «БелГУ»
Боева М.И.	–	аспирант кафедры клинической иммунологии и аллергологии Курского государственного медицинского университета
Бочарова К.А.	–	кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней №2 НИУ «БелГУ»
Воронков А.В.	–	доктор медицинских наук, заведующий кафедрой фармакологии и патологии, заместитель директора Пятигорского филиала Волгоградского государственного медицинского университета
Григоренко А.П.	–	доктор медицинских наук, профессор кафедры нервных болезней и восстановительной медицины НИУ «БелГУ»
Гудырев О.С.	–	кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ «БелГУ»
Даниленко Л.М.	–	кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ»
Денисюк Т.А.	–	кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
Дудина Э.Н.	–	аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
Дудка В.В.	–	ассистент кафедры анатомии человека Курского государственного медицинского университета
Евдокимов В.И.	–	доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой медико-профилактических дисциплин НИУ «БелГУ»
Евсеев М.А.	–	доктор медицинских наук, профессор кафедры общей хирургии лечебного факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова
Ершов И.Н.	–	кандидат медицинских наук, докторант кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ «БелГУ»
Ефременкова Д.А.	–	аспирант кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ «БелГУ»
Жуков С.В.	–	аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
Иванов С.В.	–	доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней №1 Курского государственного медицинского университета
Иванова Л.В.	–	аспирант кафедры хирургических болезней №2 Курского государственного медицинского университета
Идашкин Ю.Б.	–	врач высшей категории, врач уролог урологического отделения Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа
Илюхин С.А.	–	аспирант кафедры фармакологии Смоленской государственной медицинской академии

Ирхин В.Н.	–	доктор педагогических наук, профессор, профессор кафедры теории и методики физической культуры НИУ «БелГУ»
Каплин А.Н.	–	аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
Кашуба А.С.	–	аспирант кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ «БелГУ»
Коган М.И.	–	доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой урологии и репродуктивного здоровья человека с курсом детской урологии-андрологии ФПК и ППС Ростовского государственного медицинского университета
Коклина Н.Ю.	–	ассистент кафедры травматологии, ортопедии и ВПХ Курского государственного медицинского университета
Колесник И.М.	–	кандидат медицинских наук, заведующая лечебно-диагностическим отделением ОБУЗ «Курская горбольница №2»
Колмыков Д.И.	–	аспирант кафедры хирургических болезней №2 Курского государственного медицинского университета
Коновалова Е.А.	–	аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
Конопля А.А.	–	доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФПО Курского государственного медицинского университета
Конопля А.И.	–	доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии, проректор по учебной работе Курского государственного медицинского университета
Корнеева С.И.	–	кандидат медицинских наук, ассистент кафедры клинической фармакологии Курского государственного медицинского университета
Корокин М.В.	–	доктор медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ «БелГУ»
Корокина Л.В.	–	кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапии ИПМО НИУ «БелГУ»
Котельникова Л.В.	–	кандидат биологических наук, ассистент кафедры мобилизационной подготовки здравоохранения и медицины катастроф Курского государственного медицинского университета
Кочкаров В.И.	–	доктор биологических наук, профессор кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ»
Кузмицкая О.Н.	–	ассистент кафедры патологической анатомии Курского государственного медицинского университета
Куликовская В.А.	–	аспирант кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ «БелГУ»
Куликовский В.Ф.	–	доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней №2 НИУ «БелГУ»
Лазаренко В.А.	–	доктор медицинских наук, профессор, ректор Курского государственного медицинского университета
Лебедев К.А.	–	аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
Левченкова О.С.	–	кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры фармакологии Смоленской государственной медицинской академии
Лесовая Ж.С.	–	аспирант кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ»
Лопатин Д.В.	–	аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
Лосенок П.И.	–	аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
Луценко В.Д.	–	доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей хирургии с курсом оперативной хирургии и топографической анатомии НИУ «БелГУ»

Любушкин А.В.	–	аспирант кафедры хирургических болезней №2 НИУ «БелГУ»
Мальцева А.Н.	–	кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии ФПО Курского государственного медицинского университета
Мирошниченко О.В.	–	аспирант кафедры хирургических болезней №2 НИУ «БелГУ»
Михайлова Е.Ф.	–	врач высшей категории, врач клинической лабораторной диагностики Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа
Муравьева Н.А.	–	клинический ординатор кафедры медицинской реабилитации и спортивной медицины с курсом медицинской реабилитации, лечебной физкультуры, спортивной медицины, физиотерапии ФУВ Волгоградского государственного медицинского университета
Назаренко П.М.	–	доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕН, заслуженный врач РФ, заведующий кафедрой хирургических болезней №2 Курского государственного медицинского университета
Незнамова Н.В.	–	аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
Новиков В.Е.	–	доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии Смоленской государственной медицинской академии
Новиков О.О.	–	доктор фармацевтических наук, заведующий кафедой фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ»
Олейник Н.В.	–	доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургии ИПМО НИУ «БелГУ»
Омашарифа Ж.П.	–	аспирант кафедры акушерства и гинекологии ФПО Курского государственного медицинского университета
Папуашвили М.М.	–	соискатель кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ «БелГУ»
Пашин Е.Н.	–	кандидат медицинских наук, доцент, и.о. зав. кафедрой фармакологии Курского государственного медицинского университета
Покровская Т.Г.	–	доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ «БелГУ»
Покровский М.В.	–	доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕН, заведующий кафедрой фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ «БелГУ»
Раджкумар Д.С.Р.	–	аспирант кафедры травматологии, ортопедии и ВПХ Курского государственного медицинского университета
Руженков В.А.	–	доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой психиатрии, наркологии и клинической психологии НИУ «БелГУ»
Саввин В.А.	–	аспирант кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ»
Сароян К.В.	–	аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
Слиецанс А.А.	–	кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармакологии и биофармации ФУВ, научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета
Смольнякова О.В.	–	аспирант кафедры клинической фармакологии Курского государственного медицинского университета
Сперанский С.Л.	–	доктор медицинских наук, профессор кафедры общей хирургии с курсом оперативной хирургии и топографической анатомии НИУ «БелГУ»
Старосельцева О.А.	–	кандидат медицинских наук, ассистент кафедры анатомии человека Курского государственного медицинского университета
Степченко О.И.	–	врач высшей категории, врач ультразвуковой диагностики отделения лучевой диагностики Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа

Сухотерин И.В.	–	кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры хирургических болезней №1 НИУ «БелГУ»
Сытник М.В.	–	аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
Телегин В.А.	–	кандидат медицинских наук, доцент кафедры гуманитарных и естественнонаучных дисциплин Алексеевского филиала НИУ «БелГУ»
Титарева Л.В.	–	кандидат медицинских наук, ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии Курского государственного медицинского университета
Трофимов К.С.	–	соискатель кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ «БелГУ»
Трошин В.П.	–	доктор медицинских наук, заслуженный врач РФ, директор Брянского патологоанатомическогог института
Тюренков И.Н.	–	доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, заведующий кафедрой фармакологии и биофармации ФУВ, заведующий лабораторией фармакологии сердечно-сосудистых средств НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета
Файтельсон А.В.	–	кандидат медицинских наук, ассистент кафедры травматологии, ортопедии и ВПХ Курского государственного медицинского университета
Филиппенко Н.Г.	–	доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕН, НАН, заслуженный врач РФ, заведующий кафедрой клинической фармакологии Курского государственного медицинского университета
Филиппова О.В.	–	доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ «БелГУ»
Хаванский А.В.	–	студент 5 курса фармацевтического факультета НИУ «БелГУ»
Ходов С.В.	–	аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
Черноморцева Е.С.	–	доктор медицинских наук, профессор кафедры анатомии человека Курского государственного медицинского университета
Чефранова Ж.Ю.	–	доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой нервных болезней и восстановительной медицины НИУ «БелГУ»
Чуева Т.В.	–	кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии человека Курского государственного медицинского университета
Шабельникова А.С.	–	аспирант кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ «БелГУ»
Шапошников А.А.	–	доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии и фармакологии НИУ «БелГУ»
Шкодкин С.В.	–	кандидат медицинских наук, врач уролог урологического отделения Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа
Якушев В.И.	–	аспирант кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ИПМО НИУ «БелГУ»
Ярош А.А.	–	аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

Уважаемые коллеги!

Продолжается прием статей для публикации в журнале «НАУЧНЫЕ ВЕДОМОСТИ Белгородского государственного университета» серии «Медицина. Фармация», который входит в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

Материалы необходимо высылать в двух экземплярах:

- по адресу: Белгородский государственный университет. Медицинский факультет. Редакция серии журнала «Медицина. Фармация», ул. Победы, 85, г. Белгород, Россия, 308015;
- по e-mail: efremova.bgu@gmail.com или doctor_ol@bk.ru (тема – журнал).

Материалы, присланные без соблюдения настоящих требований, редколлегией не рассматриваются.

ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЕЙ В ЖУРНАЛ «НАУЧНЫЕ ВЕДОМОСТИ БелГУ» СЕРИИ «МЕДИЦИНА. ФАРМАЦИЯ»

В материалы статьи включается следующая информация:

1) УДК научной статьи;
2) аннотация статьи (не более 1200 знаков);
3) ключевые слова;
4) сведения об авторах (Ф.И.О., должность с указанием места работы (без сокращений), ученая степень, ученое звание, почтовый адрес, адрес электронной почты (если имеется), контактные телефоны);

на русском и английском языках

5) внешняя рецензия доктора наук;
6) текст статьи;
7) ссылки.

на русском языке

Технические требования к оформлению текста

1. Текст набирается в Microsoft Word. Параметры станицы: лист А4, без переносов. Поля: правое – 2,0 см; левое – 3,0 см; нижнее – 2,0 см; верхнее – 2,0 см.

2. Шрифт: **Impact** (размер в УДК – 11 пт, в названии статьи – 14 пт, Ф.И.О авторов – 11 пт); текст – **Georgia** (размер в тексте – **11 пт**; в таблице – **9 пт**; в списке литературы – **10 пт)**.

3. Абзац: отступ 1,25 мм, выравнивание – по ширине; межстрочный интервал – одинарный.

4. Ссылки: номер ссылки размещается в квадратных скобках перед знаком препинания (перед запятой, точкой); нумерация – автоматическая, сквозная; текст сноски внизу каждой страницы; размер шрифта – 10 пт.

5. Объем статей: до **8 страниц.**

6. Статья должна иметь визу руководителя кафедры или института (на втором экземпляре). К текстовому варианту статьи прилагается версия в формате Word. На титульном листе статьи делается запись: «Текст вычитан, термины проверены»,

заверенная подписями всех составителей. В конце статьи сообщаются фамилии, полные имена и отчества, места работы, должности, ученые степени, научные звания, контактные адреса и номера телефонов **всех** авторов.

7. При изложении результатов оригинальных исследований рекомендуется оформлять их по следующей схеме: введение, цель, материалы и методы, результаты, обсуждение результатов, выводы, список литературы.

8. При наличии большого количества ошибок текст возвращается составителям на доработку. Повторно в редакцию представляется готовый исправленный материал на диске и на бумаге, распечатанный в одном экземпляре. Для иногородних авторов возможна пересылка статьи по электронной почте.

9. Представляемый материал должен являться оригинальным, не публикованным ранее в других печатных изданиях.

10. Все буквенные обозначения и аббревиатуры должны быть объяснены в тексте при первом использовании.

11. Указывать только международное название препаратов с маленькой буквы. Химические и математические формулы, дозировки, цитаты визируются автором. Единицы измерения приводятся в метрической системе СИ.

12. При написании десятичных чисел для обозначения разрядов использовать только запятые (0,5 или 25,45 и т.д.). Писать без пропуска: «%»(10%), «больше»—«меньше» (P>4), «±» (0,3±7). Тире между цифрами использовать без пропуска (10–20%). Сокращения года давать как: 2001 г., 1998-2005 гг.

13. Изображение графического объекта не должно выходить за пределы полей страницы и не должно превышать одной страницы.

14. Рисунки, фотографии, рентгенограммы вставляются в текст после ссылки на них, но не далее следующей страницы. Графические файлы рекомендуется сохранять в режимах TIFF, PCX, JPG; если нет возможности обработать иллюстрацию самостоятельно, следует вложить ее в текстовый оригинал с указанием номера и места в работе; она должна иметь четкое, контрастное изображение (зернистость мешает обработке и не позволяет добиться хорошего результата); обязательна последовательная нумерация иллюстраций в соответствии с расположением в тексте; рентгенограммы должны хорошо читаться на просвет и не иметь значительных повреждений в рабочей зоне.

15. Все ссылки на исследования и работы других авторов приводятся в квадратных скобках, с нумерацией согласно соответствующему документу в списке литературы.

16. Библиографический список должен содержать работы за последние 7 лет. Лишь в случае необходимости допускаются ссылки на отдельные более ранние публикации. В оригинальных статьях цитируется не более 20, а в передовых статьях и обзорах литературы – не более 40 источников. В список литературы не включаются неопубликованные работы.

17. Список литературы к статье должен соответствовать стандарту библиографического описания ГОСТ 7.1-2003 "Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления". Литературные источники необходимо перечислять в алфавитном порядке или в порядке упоминания в статье.

18. Требования к оформлению статей, таблиц, рисунков приведены в прил. 1, 2, 3.

Условия публикации. В одном номере журнала каждым автором (авторским коллективом) может быть опубликовано не более двух статей.

Приложение 1. **Оформление статьи**

УДК 616.36

ФАКТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕДИАТОРЫ СТЕАТОЗА ПЕЧЕНИ

А.В. ИВАНОВ[1]
Л.Н. ПЕТРОВ[2]

[1] Белгородский государственный университет

[2] Городская больница №2, г. Белгород

e-mail: aybolit@bk.ru

В статье изложены данные о молекулярных нарушениях при стеатозе печени и неалкогольном стеатогепатите. Синтез жирных кислот в печени регулируется инсулином и глюкозой с помощью активации липогенеза связанными с мембраной медиаторами транскрипции – белка, связывающегося с регуляторным элементом стерола-1с и белка, который связывается с карбогидрат-ответственным элементом. Третьим фактором транскрипции, причастным к развитию стеатоза печени, признан рецептор, активирующийся пролифератором пероксисом. Совокупность таких факторов можно объединить в две большие категории: факторы, которые вызывают повышение окислительного стресса, и экспрессы провоспалительных цитокинов.

Ключевые слова: стеатоз печени, стеатогепатит, окислительный стресс, цитокины, жирные кислоты, факторы транскрипции.

Далее идет текст статьи:

Инсулинорезистентность (ИР), ожирение, диабет, дислипопротеидемия и неалкогольная жировая печень – компоненты метаболического синдрома, комплексной болезни, приобретающей широкую распространенность [1, 3, 6].

TRANSCRIPTION FACTORS AND MOLECULAR MEDIATORS OF HEPATIC STEATOSIS

A.V. IVANOV[1]
L.N. PETROV[2]

[1] Belgorod State University

[2] Municipal hospital №2, Belgorod

e-mail: aybolit@bk.ru

In the review the data on molecular events contributing to hepatic steatosis and nonalcoholic steatohepatitis have been presented. Synthesis of fatty acids in liver is regulated independently by insulin and glucose with activation of lipogenesis of transcriptionally mediated by the membrane-bound transcription factors – sterol regulatory element-binding protein-1 c and carbohydrate response element-binding protein. The third transcription factor that participates in the development hepatic steatosis is peroxisome proliferator-activated receptors. A large number of these factors can be grouped into two big categories: factors causing an increase in oxidative stress and factors promoting expression of pro-inflammatory cytokines

Key words: hepatic steatosis, steatohepatitis, oxidative stress, cytokines, fatty acids, transcription factors.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Иванов Александр Васильевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней Белгородского государственного университета
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Белгородский государственный университет
e-mail: aybolit@bk.ru, тел. 33-22-44

Приложение 2. **Оформление таблиц**

1. Каждая таблица должна быть пронумерована справа, иметь заголовок в полужирном наборе, расположенный по центру вверху.
2. Таблицы не должны выходить за границы полей страницы слева и справа.
3. Если таблица располагается на двух страницах, ее столбцы должны быть пронумерованы на каждой новой странице так же, как на первой.
4. Большие горизонтальные таблицы необходимо набирать в этом же файле, выбрав альбомный параметр страницы.

Таблица 1

Рейтинговая оценка ЦФО за 1999-2004 гг., баллы

Регионы	1999 г.	2000 г.	2001 г.	2002 г.	2003 г.	2004 г.	В среднем за	
							1999-2001 гг.	2002-2004 гг.
1	2	3	4	5	6	7	8	9
РФ	1,3222	1,5091	1,3470	1,4661	1,5940	1,6954	1,3928	1,5852
ЦФО	1,5028	1,9389	1,7210	1,6149	1,6888	1,6930	1,7209	1,6656

Таблица, расположенная на первой странице.

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Белгородская область	1,2620	0,4169	2,2612	1,0176	1,2012	0,6413	1,3134	0,9534
Брянская область	0,9726	0,4817	0,5612	1,8653	0,9064	1,6898	0,6718	1,4872

Таблица, расположенная на следующей странице.

Приложение 3. **Оформление графических объектов**

1. Изображение каждого графического объекта должно иметь номер и заголовок, расположенные по центру рисунка внизу.

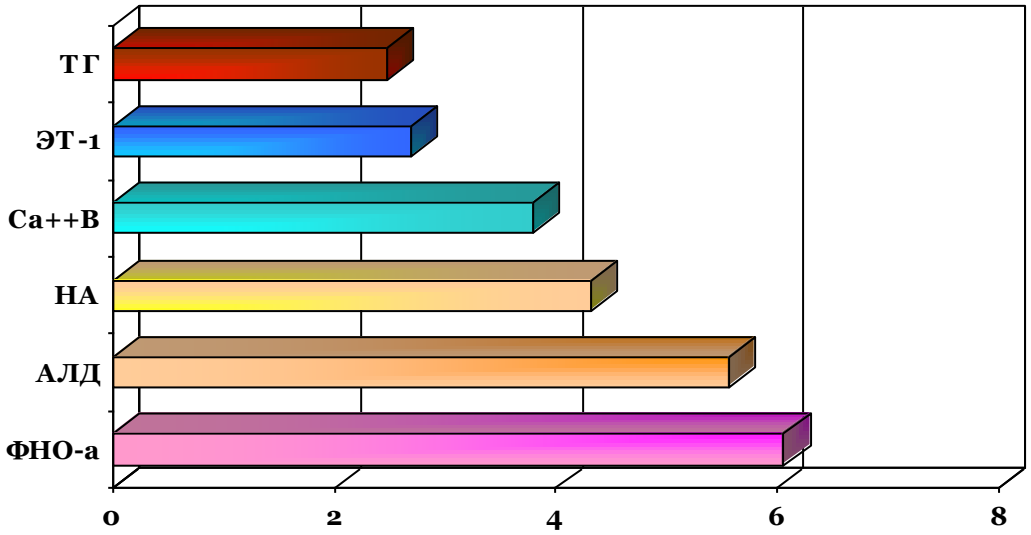


Рис. 1. Степень разницы значений гуморальных показателей между группами больных эксцентрической и концентрической ГЛЖ

2. Изображение графического объекта должно быть в виде рисунка или сгруппированных объектов.

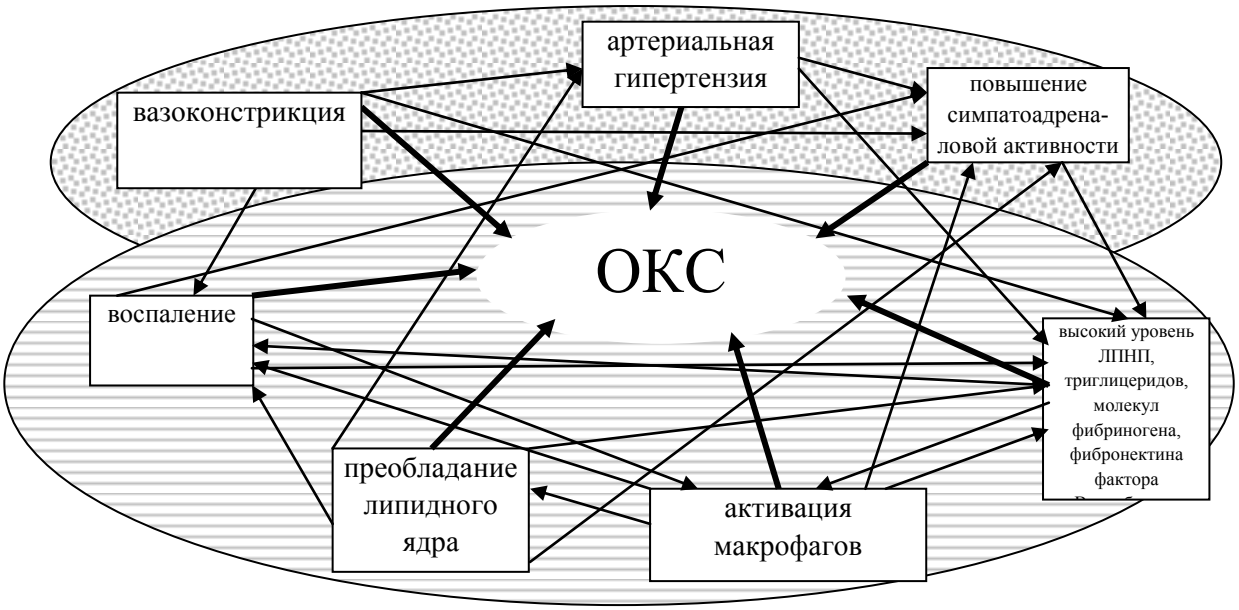


Рис. 2. Факторы, способствующие развитию ОКС

Редакция оставляет за собой право сокращения и исправления присланных статей. Статьи, отосланные авторам для доработки, должны снова поступить в редакцию не позднее, чем через 10 дней после получения. Возвращение статьи в более поздние сроки соответственно меняет и дату ее поступления в редакцию.