

**ПОЧТОВЫЙ АДРЕС:**

125315, Москва, ул. Балтийская, 8.  
Федеральное государственное  
бюджетное учреждение  
«НИИ Общей патологии и патофизиологии»  
Российской академии медицинских наук  
Редакция журнала  
«Патологическая физиология  
и экспериментальная терапия».  
Home page: www.medlit.ru  
E-mail: path.physiol@yandex.ru

Зав. редакцией  
Н.Р.Соболь  
+7 906 793 5467  
Техническая редакция  
А.С.Акопов

ЛР №010215 от 29.04.97.

Подписные индексы  
по каталогу агентства «Роспечать»:  
для индивидуальных подписчиков **71456**  
для предприятий и организаций **72151**

Входит в Перечень ведущих рецензируе-  
мых научных журналов и изданий,  
рекомендованных ВАК России для пуб-  
ликации значимых результатов диссертаци-  
онных исследований на соискание ученой степени докто-  
ра и кандидата наук.

Журнал «Патологическая физиология и  
экспериментальная терапия» индексиру-  
ется в следующих иностранных изданиях:  
*Index Medicus; Excerpta Medica;*  
*Apicultural Abstracts; Biological Abstracts;*  
*Biotechnology Research Abstracts;*  
*Chemical Abstracts; Index to Dental Literature;*  
*International Aerospace Abstracts;*  
*Nutrition Abstracts and Reviews;*  
*Ulrich's International Periodicals Directory*

Издатель: ООО «Гениус Медиа»  
E-mail: genius-media@mail.ru

ISSN 0031-2991  
Патологическая физиология и  
экспериментальная терапия.  
2013. №2. 1–84.

Перепечатка материалов и использование их в  
любой форме, в том числе и в электронных СМИ,  
возможны только с письменного разрешения из-  
дателя.  
За содержание рекламных публикаций  
ответственность несет рекламодатель.

Тираж 300 экз.

© Издательство «Гениус Медиа», 2013.

ISSN 0031-2991



9 770031 299001

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НИИ ОБЩЕЙ ПАТОЛОГИИ И ПАТОФИЗИОЛОГИИ»  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

# ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

*Ежеквартальный рецензируемый научно-практический журнал  
Основан в 1957 г.*

№2, 2013  
АПРЕЛЬ—ИЮНЬ

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

**Главный редактор** Б.Б. Мороз

Ю.В. Архипенко, Е.И. Асташкин, С.В. Грачев,  
Н.С. Гурко (ответственный секретарь), Т.А. Гуськова,  
И.С. Гушин (зам. главного редактора), А.В. Ефремов,  
В.Б. Кошелев, Н.А. Крупина, А.А. Кубатиев,  
Г.Н. Крыжановский, П.Ф. Литвицкий, В.В. Новицкий,  
Ю.А. Петрович, Г.В. Порядин,  
В.К. Решетняк (зам. главного редактора),  
С.А. Селезнев, В.А. Фролов

## Редакционный совет

Ю.В. Балякин (Москва), Ю.Ю. Бяловский (Рязань),  
В.Т. Долгих (Омск), А.М. Дыгай (Томск),  
А.Я. Евтушенко (Кемерово), Д.А. Еникеев (Уфа),  
Н.И. Кочетыгов (Санкт-Петербург), В.П. Куликов (Барнаул),  
В.П. Михайлов (Ярославль), В.Г. Овсянников (Ростов-на-Дону),  
С.Н. Орлов (Москва), Н.Н. Петрищев (Санкт-Петербург),  
Л.А. Северьянова (Курск), С.А. Хачатрян (Ереван),  
Г.С. Якобсон (Новосибирск), А.П. Ястребов (Екатеринбург)

## СОДЕРЖАНИЕ

### Титов В.Н.

Теория гуморальной патологии К. Рокитанского,  
целлюлярная патология Р. Вирхова  
и новая филогенетическая теория становления болезни.  
Этиология и патогенез «метаболических пандемий». . . . . 3

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**Давыдова Т.В., Ветрилэ Л.А., Ветлугина Т.П., Невидимова Т.И.,  
Бохан Н.А., Батухтина Е.И., Фомина В.Г., Захарова И.А.**  
Антитела к нейромедиаторам  
как возможные нейроиммунные маркеры риска  
формирования зависимости от психоактивных веществ . . . . . 13

**Кузьменко М.А., Павлюченко В.Б.,  
Тумановская Л.В., Досенко В.Е., Мойбенко А.А.**  
Экспериментальная терапия ремоделирования сердца  
с помощью препаратов кверцетина . . . . . 17

**Баев В.М., Шаропова Н.В., Шмелева С.А.**  
Восстановление реологической функции крови у пациентов  
с внебольничной пневмонией на фоне артериальной гипертензии  
в процессе госпитальной терапии . . . . . 23

**Черкасова О.П., Селятицкая В.Г.**  
Кортикостероидные гормоны  
и ангиотензинпревращающий фермент  
в динамике хронического гранулематозного воспаления . . . . . 26

**Лебедева М.А., Саноцкая Н.В., Мациевский Д.Д.**  
Реакция дыхательной и сердечно-сосудистой систем  
на гипоксию в условиях активации и блокады  
тормозных синаптических процессов . . . . . 32

**Куликов В.П., Чупикова И.А., Санаров Е.М., Волобой Н.Л.**  
Увеличение резистентности к гипоксии  
под влиянием сбора из лекарственных растений Алтая . . . . . 37

**Сукач М.С., Долгих В.Т.**  
Влияние адеметионина на функционально-метаболические  
показатели печени крыс при панкреонекрозе. . . . . 41

**Суханов Д.С., Артюшкова Е.Б., Дудка В.Т.**  
Гепато- и эндотелиопротективное действие рунихола и адеметионина  
при экспериментальном поражении печени  
противотуберкулезными препаратами в сочетании с алкоголем . . . . 45

**Спасов А.А., Иежица И.Н., Харитонова М.В.,  
Кравченко М.С., Снигур Г.Л., Писарев В.Б.**  
Соли магния в коррекции кальций-оксалатного нефролитиаза,  
вызванного введением натрия оксалата  
и селективного ингибитора ЦОГ-2 цефекоксиса . . . . . 50

## ОБЗОРЫ

**Кузник Б.И., Файн И.А., Каминский А.В.,  
Максимова О.Г., Кустовская Е.М.**  
SKF как показатель биологического возраста системы гемостаза  
и сосудов у детей и взрослых в условиях нормы и патологии . . . . . 56

**Уткина М.Ф., Румянцев С.А., Арhipова Е.Н.,  
Трухина О.К., Алчинова И.Б.**  
Результаты применения метода лазерной корреляционной  
спектроскопии при динамическом наблюдении детей и подростков  
с железодефицитной анемией . . . . . 60

**Марков Х.М.**  
Мозговой кровоток и церебральный инсульт.  
Часть 2. Патогенез и терапия церебрального инсульта. . . . . 65

**Ахмедов В.А., Долгих В.Т., Наумов Д.В., Нечипоренко Н.А.**  
Клиническое значение матричных металлопротеиназ  
при сердечно-сосудистой патологии . . . . . 77

**Туренков И.Н., Воронков А.В., Слиецанс А.А.**  
Роль эндотелиальной дисфункции  
в развитии сосудистых осложнений сахарного диабета . . . . . 80

## CONTENTS

### Titov V.N.

Theory humoral pathology K. Rokitsansky,  
cellular pathology R. Virchow  
and new phylogenetic theory disease development.  
Ethyology and pathogenesis of metabolic pandemics

## ORIGINAL ARTICLES

**Davydova T.V., Vetrile L.A., Vetlugina T.P., Nevidimova T.I.,  
Bokhan N.A., Batukhtina E.I., Fomina V.G., Zakharova I.A.**  
Antibodies to neurotransmitters  
as possible neuroimmune risk markers of formation  
dependence to psychoactive substances

**Kuzmenko M.A., Pavlyuchenko V.B.,  
Tumanovskaya L.V., Dosenko V.E., Moybenko A.A.**  
Experimental therapy of cardiac remodeling  
with quercetin-containing drugs

**Baev V.M., Sharapova N.V., Shmeleva S.A.**  
Restoration of the blood rheological patients  
with cap on the background of arterial hypertension  
in the process of hospital treatment

**Cherkasova O.P., Selyatitskaya V.G.**  
Corticosteroid hormones  
and angiotensin-converting enzyme  
in the dynamics of chronic granulomatous inflammation

**Lebedeva M.A., Sanotskaya N.V., Matsievskii D.D.**  
Respiratory and cardiovascular responses  
to hypoxia under activation  
or blockade inhibitory transmission

**Kulikov V.P., Chupikova I.A., Sanarov E.M., Voloboy N.L.**  
Increased resistance to hypoxia under the effect  
of the mixture of herbs from the Altai

**Sukach M.S., Dolgikh V.T.**  
Influence of heptal on the functional-metabolic indices  
of the liver of rats with necrotizing pancreatitis

**Sukhanov D.S., Artyushkova E.B., Dudka V.T.**  
Hepato- and endothelioprotective action of runihol  
and ademetonine in experimental liver injury  
induced by TB drugs in combination with alcohol

**Spasov A.A., Iezhitsa I.N., Kharitonova M.V.,  
Kravchenko M.S., Snigur G.L., Pisarev V.B.**  
Experimental evidence of magnesium salts for treatment  
of calcium oxalate nephrolithiasis in an animal model  
based on sodium oxalate and a cyclooxygenase 2 selective inhibitor

## REVIEWS

**Kuznik B.I., Fain I.A., Kaminski A.V.,  
Maksimova O.G., Kustovskaya E.M.**  
SKF-index as an indicator of biological age of hemostasis  
and blood vessels in children and adults in norm and pathology

**Utkina M.F., Rumjancev S.A., Arhipova E.N.,  
Truhina O.K., Alchinova I.B.**  
The results of laser correlation spectroscopy method  
for dynamic monitoring of children and adolescents  
with iron deficient anemia

**Markov Kh.M.**  
Brain blood flow and cerebral insult.  
Part 2. pathogenesis and therapy of cerebral insult

**Akhmedov V.A., Dolgikh V.T., Naumov D.V., Nechiporenko N.A.**  
The clinical significance of matrix metalloproteases  
in heart and vascular pathology

**Turenkov I.N., Voronkov A.V., Slietsans A.A.**  
Role of endothelial dysfunction  
in the development of vascular complications of diabetes

В.Н. Титов

## **Теория гуморальной патологии К. Рокитанского, целлюлярная патология Р. Вирхова и новая филогенетическая теория становления болезни. Этиология и патогенез «метаболических пандемий»**

Федеральное государственное бюджетное учреждение Российский кардиологический научно-производственный комплекс  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 121552, Москва, 3-я Черепковская ул., 15а

*В целлюлярной патологии Р. Вирхова есть косвенные указания на то, что: а) между клеткой и органом in vivo имеются структурные и функциональные единицы; б) механизмы формирования состояния здоровья и болезни являются едиными. Для понимания единства патогенеза атеросклероза, сахарного диабета, метаболического синдрома и ожирения мы предлагаем использовать филогенетическую теорию. Она включает:*

*1. Рассмотрение физиологических и патологических процессов in vivo с позиций биологических функций и биологических реакции;*

*2. Становление в филогенезе регуляции метаболизма на трех уровнях: а) уровне клеток (аутокринном); б) в паракринных сообществах клеток — структурных и функциональных единицах каждого из органов (паракринном уровне); в) на уровне организма. Биологическими функциями являются: функция трофологии, гомеостаза, функция эндоэкологии («чистота» межклеточной среды); адаптации, функция локомоции (движения), функция продолжения вида и когнитивная функция;*

*3. Рассмотрение становления биологических функций и реакций патологического процесса в филогенезе последовательно на трех ступенях. Методологическими приемами в филогенезе являются: а) преемственность становления биологических функций и реакций; б) биологическая субординация, когда гуморальные медиаторы, сформированные в филогенезе более поздно, не могут отменить действие филогенетически более ранних медиаторов. Несоответствие гуморальной регуляции на разных ступенях филогенеза, на аутокринном, паракринном, уровне организма, и составляет основу и единение патогенеза всех метаболических пандемий, включая эссенциальную артериальную гипертензию и синдром резистентности к инсулину.*

**Ключевые слова:** Р. Вирхов, патогенез, филогенез, биологические функции, биологические реакции

V.N. Titov

## **Theory humoral pathology K. Rokitansky, cellular pathology R. Virchow and new phylogenetic theory disease development. Ethiology and pathogenesis of metabolic pandemics**

Cardiology Research Complex MH RF, 15a, 3<sup>rd</sup> Cherepkovskaya str., Moscow, 121552, Russia

*Virchow's cellular pathology indirectly points at structural units between cells and organs in vivo and at universal mechanisms underlying the condition of health or disease. In order to substantiate similarity of pathogenesis of atherosclerosis, diabetes mellitus, metabolic syndrome and obesity we suggest a phylogenetic theory which includes:*

*1) consideration of physiological and pathological processes in vivo from the viewpoint of biological functions and biological reactions.*

*2) Phylogenesis of metabolic regulation at the levels of: a) cells (autocrine), b) paracrine cell communities, i.e., structural and functional units of each organ (paracrine), and c) the entire organism. Biological functions are: trophology, homeostasis, endoecology («purity» of the intercellular medium), adaptation, locomotion, reproduction, and cognition.*

*3) A three-step successive phylogenesis of biological functions and pathological responses. Methodological approaches in phylogenesis are: a) succession of biological functions and reactions and b) biological subordination where phylogenetically late humoral mediators cannot abolish the effects of phylogenetically early mediators. Incompliance of humoral regulation at different steps of phylogenesis, autocrine, paracrine and the organism levels is the basis for similarity between pathogenesis of all metabolic pandemics, including essential hypertension and insulin resistance syndrome.*

**Key words:** R. Virchow, pathogenesis, phylogenesis, biological functions, biological reactions

Характерной особенностью в медицине начала XXI века является то, что достижения биолого-медицинских, диагностических дисциплин в значительной мере опережают успехи, достигнутые в клинике при лечении наиболее распространенных в популяции заболеваний. Это атеросклероз, сахарный диабет, эссенциальная артериальная гипертензия и ожирение; образно эти заболевания мы именуем «метаболическими пандемиями» [23]. Частота этих заболеваний в популяциях экономически развитых странах продолжает возрастать и все усилия клиницистов и фармацевтических фирм не приносят желаемого результата; при этом этиологические факторы начинают быть более понятными, чего, однако, не скажешь в отношении патогенеза [24]. Если большие ожидания относительно использования в клинике достижений генетики и геномики, полиморфизма генов себя не оправдали, то возможности метаболомики, (липидомики) [25] и протеомики столь велики, что использование их в диагностике еще не начато. Мы не готовы дать диагностическую трактовку тем биохимическим данным, которые предлагают нам современные методы физической химии, которые одновременно определяют концентрацию десятков протеинов, субстратов и метаболитов. Мы не можем использовать результаты современных методов диагностики; у нас нет пока теоретической базы — современной теории патологии [26]. Сформировалась большая дистанция (отставание) между возможностями использования современных методов исследований и их реальным применением в диагностике метаболических пандемий.

## 1. Филогенетическая теория патологии

Совершенствование диагностики, включая методы секвенирования и экспрессии генов, протеомики, метаболомики (липидомики) является результатом развития физической химии, биохимии и аналитического приборостроения за последние десятилетия. Теория же становления болезней, теория патологии, которую мы имеем, сформирована более 150 лет назад работами К. Рокитанского и Р. Вирхова. Это выдающиеся морфологи, однако, они создавали теорию в то время, когда не было ни генетики, ни биохимии, ни клинической химии. Не поэтому ли в клинике столь отчужденно происходит восприятие той информации, которую позволяют получать современные диагностические методы. Совершенствование медицинской науки и практики, тенденции развития общей биологии, физической химии и диагностических дисциплин требуют формирования новой теории патологии, теории XXI века. Желательно, чтобы такая теория вобрала в себя:

- а) положения гуморальной и клеточной теории патологии XIX века [27];
- б) достижения патологии в XX веке [28];
- в) положения физической химии;

г) новые методологические подходы общей биологии [29].

Важным является системное воззрение на медицину как на биологическую, «историческую» науку и анализ развития в филогенезе вида *Homo sapiens*. Новая теория патологии должна четко сформировать положения фундаментальной медицины и на ее основе, используя систематический подход, продолжить дальнейшее развитие медицинской науки. Мы предлагаем разобраться в общности и различии этиологии и патогенеза столь распространенных в популяциях XX и XXI века заболеваний, которые мы именуем «метаболическими пандемиями». Естественно, что в теориях XIX века о «метаболических пандемиях» ничего не сказано. В филогенетической теории патологии мы предлагаем рассматривать все происходящее *in vivo* с позиций биологических функций и биологических реакций.

«Любое биологическое исследование оправдано лишь в том случае, если оно имеет эволюционный выход» [30]. Становление патофизиологии, патологии, формирование патогенеза «метаболических пандемий» происходило на ступенях филогенеза одновременно (параллельно) с физиологичным развитием каждой из биологических функций и биологических реакций. Формирование их происходило в филогенезе далеко не одновременно; между становлением в филогенезе ранних липопротеинов высокой плотности, далее ЛП низкой плотности (ЛПНП) и самых поздних ЛП очень низкой плотности (ЛПОНП) прошли многие миллионы лет. Между становлением на ступенях филогенеза биологической функции трофологии (питания) и биологической функции локомоции (движение за счет поперечнополосатых мышц) — дистанция в миллиарды лет. Если онтогенез это анамнез особи, то филогенез это единый анамнез последовательного становления на разных ступенях филогенеза физиологии, биохимии и патологии вида *Homo sapiens* [31].

Основными методологическими приемами общей биологии являются:

- а) единение структуры и функции;
- б) единение основных этапов фило- и онтогенеза;
- в) единая технология становления в филогенезе функциональных систем;
- г) использование системного подхода для объяснения происходящего *in vivo* [32].

Мы предлагаем дополнить количество методологических приемов еще двумя:

- а) преемственности становления в филогенезе биологических функций и реакций;
- б) методологический прием биологической субординации. Становление биологических функций и биологических реакций в филогенезе происходило, главным образом, не путем формирования чего-то принципиально нового, что характерно для мутаций, а путем длительного, последовательного совершенствования того, что сформиро-

ровано на более ранних ступенях. Согласно же приему биологической «субординации», новый уровень регуляции *in vivo* органично надстраивается над ранее существующими, функционально с ними взаимодействует, но изменить регуляторное действие филогенетически более ранних гуморальных медиаторов он не может.

Мы полагаем, если частота заболевания в популяции человека превышает 5—7%:

а) основу патогенеза такого заболевания составляет нарушение биологических функций и биологических реакций;

б) для каждого из них патогенез рационально выстраивать в филогенетическом аспекте.

В основу филогенетической теории патологии (алгоритма становления заболевания) мы заложили все данные гуморальной и клеточной патологии XIX века; и сформированные нами теорию биологических функций и биологических реакций *in vivo*; регуляцию биологических функций и реакций, процессов метаболизма на трех филогенетически разных уровнях:

а) аутокринном, на уровне клетки;

б) паракринном — на уровне клеточного сообщества;

в) в целостном организме),

и представления о параллельном, одновременном формировании физиологических и афизиологических процессов (заболеваний «дивилизации») на разных ступенях филогенеза [33].

## 2. Теория биологических функций и биологических реакций

В течение сотен миллионов лет на разных ступенях филогенеза, не одновременно сформировались:

1) биологическая функция трофологии, функция питания;

2) биологическая функция гомеостаза;

3) биологическая функция эндоэкологии (чистоты межклеточной среды);

4) биологическая функция адаптации;

5) биологическая функция продолжения вида;

6) биологическая функция локомоции (движения);

7) биологическая функция интеллекта.

Становление биологических функций в филогенезе происходил не одновременно; между отдельными функциями, порой, в филогенезе проходили миллионы лет [34].

### 2.1. Биологическая функция гомеостаза, трофологии и эндоэкологии

Биологическая функция гомеостаза призвана, мы полагаем, реализовать одну цель: в межклеточной среде *in vivo* для каждой из клеток всегда, всего должно быть достаточно. Функция гомеостаза призвана не допустить снижение концентрации субстратов или физико-химических параметров в межклеточной среде ниже

нижней границы физиологического интервала. Биологическая функция эндоэкологии призвана в физиологических условиях не допускать превышения верхнего предела нормального (физиологического) интервала ни одним из аналитов и физико-химическим параметром. Функция эндоэкологии рассматривает такое превышение как нарушение «чистоты» межклеточной среды, «замусоривание» ее. Реализуют функцию эндоэкологии всего две неспецифические реакции:

а) биологическая реакция экскреции;

б) биологическая реакция воспаления и на последних стадиях — гипертермии [35].

Если мол. масса биологического «мусора» в межклеточной среде не выше 70 кДа (мол. масса альбумина, АЛБ), удаление его происходит при реализации биологической реакции экскреции. Если же мол. масса эндогенных флогогенов (инициаторов воспаления) или экзогенных, инфекционных патогенов превышает эту величину, утилизация «мусора» происходит *in situ* при реализации биологической реакции воспаления. Единственным условием активации *in vivo* биологической функции эндоэкологии, биологической реакции воспаления является накопление в межклеточной среде биологического «мусора» с мол. массой более 70 кДа. Эта величина определена размером отверстий в гломерулярной мембране [36]. Тест микроальбуминурия отражает «замусоривание» межклеточной среды малым биологическим «мусором», а повышение содержания в плазме крови членов семейства интерлейкинов, активация окисления белков активными формами  $O_2$  и повышение концентрации С-реактивного белка отражают «замусоривание» межклеточной среды большим биологическим «мусором».

Биологическим реакциям, которые также задействованы в биологической функции эндоэкологии, являются:

а) биологическая реакция гидродинамического артериального давления (АД);

б) денатурации эндогенных протеинов активными формами  $O_2$ ;

в) реакция трансцитоза;

г) биологическая реакция гипертермии;

д) реакция апоптоза [37];

ж) реакция врожденного иммунитета;

з) приобретенного иммунитета [38].

Для активации биологической реакции экскреции, необходимо увеличить гидравлическое давление над базальной мембраной гломерул. В силу этого накопление в межклеточной среде малого биологического «мусора» инициирует повышение АД [39]. Когда не сформировавшиеся апоВ-100 лиганд ЛПНП становятся в крови большим «мусором» их утилизирует локальный пул рыхлой соединительной (интерстициальной) ткани (РИТ). Для внутрисосудистого пула межклеточной среды последняя располагается в интима артерий эластического типа. Чтобы Толл-рецепторы признали безлигандные ЛННП «не

своими», их надо физиологично денатурировать. Это функцию *in vivo* исполняют циркулирующие нейтрофилы в физико-химической реакции «респираторного взрыва» [40] и системы комплемента [41]. Это фрагмент биологической реакции воспаления, синдрома системного воспалительного ответа. Активация функции нейтрофилов и секреция активных форм  $O_2$  всегда вторична и зависит от количества «мусора» (субстрата) в межклеточной среде, который надо физиологично денатурировать.

В интиму артерий из крови безлигандные ЛПНП переносят клетки монослоя эндотелия, реализуя биологическую реакцию транцитоза [42]. Активация биологической реакции транцитоза происходит пропорционально количеству в межклеточной среде эндогенных флогенов или экзогенных патогенов [43]. Активирует филогенетически позднюю реакцию транцитоза столь же поздняя биологическая реакция АД. Ранее не было упоминаний о биологической функции эндоекология [44], однако можно полагать, что сходное понятие положено К. Рокитанским в основу гуморальной теории патологии [45]. «Место сосредоточения кразы зависит от особенностей ее отношения к известным органам и тканям при содействии со стороны нервной системы: форма, в которой сосредотачивается краза — есть гиперемия и застой...» [46]. Вероятно, с времен К. Рокитанского в клинике стал популярен термин *дизрегуляция* [47, 48].

## 2.2. Биологическая функция адаптации и патогенез атеросклероза

Реализуют ее:

- а) биологическая реакция стресса;
- б) биологическая реакция компенсации;
- в) биологическая реакция врожденного иммунитета.

Заметим, что биологическая реакция стресса филогенетически ранняя, гуморально регулируемая, которая реализована и на аутокринном уровне. Биологические реакции компенсации *in vivo* многообразны и реализованы как на уровне клеток, так и организма [49]. В реализации биологической функции адаптации задействован и синдром компенсаторной противовоспалительной защиты [50], который *in vivo* контролирует соответствие биологической реакции воспаления степени действия инициирующих факторов — эндогенных флогенов или экзогенных патогенов. После каждой реакции стресса, даже эмоционального, остается шлейф белков-шаперонов большой мол. массы, которые клетки РСТ утилизируют путем биологической реакции воспаления. И это не могло быть принято во внимание при формировании нейрогенной теории артериальной гипертензии [51].

Биологические реакции врожденного иммунитета задействованы в реализации как биологической функцией эндоекологии, так и адаптации [52]. При алиментарном дефиците эссенциальных полиеновых жирных кислот (ЖК) клетки начинают компенсаторный синтез *in vivo*

эйкозаноидов не из физиологичных эссенциальных полиеновых ЖК, а из эндогенной ненасыщенной дигмо- $\gamma$ -линоленовой ЖК [1]. Такие простаглицлины, тромбоксаны и лейкотриены являются афизиологичными; это биологическая реакция патологической компенсации нарушает регуляцию каждой из клеток *in vivo*; это и есть атеросклероз [2].

## 2.3. Биологическая функция локомоции и филогенез артериального русла

В ходе становления функции локомоции сформировалась:

- а) замкнутая система кровообращения, сердце и артерии эластического типа;
- б) скелетные поперечнополосатые миоциты;
- в) специализированные адипоциты;
- г) система инсулина (ИНС).

Биологическая роль ИНС — обеспечение энергией биологической функции локомоции. ИНС, действуя только на уровне организма, органично надстроился над аутокринной и паракринной регуляцией, тесно с ними взаимодействует, но повлиять на процессы регуляции, которые сформировались на более ранних ступенях филогенеза, ИНС не может. ИНС начал:

- а) активировать синтез и запастись субстраты для работы клетками энергии (синтеза АТФ);
- б) усилить пассивное поглощение клетками неэтерифицированных ЖК в форме НЭЖК из ассоциатов АЛБ + НЭЖК в межклеточной среде [3];
- в) активировать синтез гликогена;
- г) усилить ферментные реакции липогенеза — синтез из ГЛЮ пальмитиновой насыщенной ЖК (Пальм н-ЖК), мы полагаем, «гидрофобной формы» ГЛЮ;
- д) активировать синтез *in vivo* из Пальм н-ЖК ненасыщенной олеиновой моноеновой ЖК (моно-ЖК);
- ж) этерифицировать ЖК в физиологичные олеиновые ТГ.

Одновременно ИНС блокирует липолиз, гидролиз ТГ с освобождением НЭЖК и  $\beta$ -окисление ЖК в митохондриях. Несмотря на многостороннее действие, ИНС реализует одну биологическую функцию — обеспечение энергией биологической функции локомоции.

## 3. Паракринные сообщества клеток и регуляция метаболизма

На ранних ступенях развития многоклеточных *in vivo* стали формироваться ассоциаты клеток — локальные, паракринно регулируемые сообщества клеток [4]. Со времени Р. Вирхова — все мы придерживаемся целлюлярной теории и все, что происходит *in vivo*, рассматриваем как функцию клеток. Каждая, даже специализированная, клетка сохранила все функции, которые она реализовала, будучи одноклеточной [5]. В целлюлярной те-

рии Р. Вирхова о паракрынных сообществах клеток упомянуты структуры, «которые также составлены из клеточных элементов и представляют собой, таким образом, опять-таки множественные единицы, состоящие из бесчисленного количества элементарных организмов» [6]. Паракрынное сообщество, в нашем представлении это функциональные ассоциаты трех видов клеток:

а) специализированные клетки, которые определяют функцию сообщества;

б) клетки локального перистальтического насоса (эндотелий + гладкомышечные клетки), которые осуществляют локальную гидро-, лимфо-, гемо-лимфо и гемодинамику в сообществе;

в) клетки РСТ, которые реализуют биологическую функцию эндоэкологии;

г) регулируют метаболизм на паракрынном уровне.

Паракрынные сообщества не были отделены друг от друга и чтобы гуморальные медиаторы проявляли активность в пределах одного сообщества, время их действия ограничено долями секунды [7]. Нет ни одного гуморального медиатора *in vivo*, ни одного гормона, кроме, естественно, ИНС, действие которых не было бы отработано на уровне паракрынных сообществ. Так, после аутокрынной регуляции, *in vivo* произошло формирование регуляции на уровне паракрынных сообществ и позже органов.

Паракрынное сообщество нефрон — функциональное единение трех видов клеток:

а) функционально дифференцированный эпителий капилляра нефрона;

б) афферентная и эфферентная артериолы — локальный перистальтический насос;

в) паратубулярная интерстициальная ткань.

Из паракрынных сообществ состоят все органы *in vivo*; при этом принципы гуморальной, локальной регуляции гемодинамика во всех сообществах *in vivo* (система ренин — ангиотензин-II) являются одинаковыми. Перфузию сообществ обеспечивали локальные перистальтические насосы — артериолы мышечного типа, которые не имели интимы. Это продолжалось пока не началось формирование биологической функции локомоции, функции движения и не сформировалась замкнутая система кровообращения, сосудисто-сердечная система. Произошло это путем объединения миллионов локальные перистальтических насосов, артериол мышечного типа при формировании артерий эластического типа и центрального насоса замкнутой системы — сердца [8]. При этом артериальное русло стало состоять из двух функционально разных частей: филогенетически позднего, проксимального отдела (сердце и артерии эластического типа) и филогенетически раннего — дистального отдела, артериол мышечного типа. Функцию проксимального отдела регулируют ядра сосудодвигательного центра продолговатого мозга; тестом его функции является величина АД. Филогенетически ранний, дистальный отдел регулируют

гуморальные медиаторы паракрынных сообществ; тестом его функции является эндотелий зависимая (поток зависимая) вазодилатация. Пул интерстициальной РСТ для внутрисосудистого пула межклеточной среды локализован в интиму артерий эластического типа. Большой «мусор» из сосудистого русла в интиму переносят клетки эндотелия путем биологической реакции трансцитоза.

#### 4. Регуляция АД в паракрынных сообществах и на уровне организма; патогенез эссенциальной артериальной гипертензии

Сердце вне биологической функции локомоции призвано докачать кровь до дистального отдела сосудистого русла — до артериол мышечного типа. Далее локальные перистальтические насосы сами осуществляют:

а) перераспределение кровотока (перфузии) между тканями и органами;

б) формирование объема артериального русла;

в) величину периферического сопротивления кровотоку.

Согласно методологическому приему биологической «субординации», филогенетически позднее сердце и сосудодвигательный центр не могут оказать влияние на функцию локальных перистальтических насосов. Состояние дистального отдела артериального русла является отражением функциональной активности органов и тканей. В паракрынных сообществах, физиологичным для перистальтических насосов состоянием является сокращение. В силу этого, полный объем дистального отдела артериального русла, примерно в 20 литров, удается заполнить в 3—4 раза меньшим объемом крови [9].

При реализации биологической функции локомоции доминирует функция проксимального отдела артериального русла и миокарда. Когда пульсовая волна достигает дистального отдела, артериол мышечного типа, срабатывают механизмы паракрынной регуляции, механизмы потокзависимой вазодилатации [10]. Используя реакцию сдвига на эндотелии, инициированную пульсовой волной, клетки эндотелия формируют волну вазодилатации [11], которая опережает пульсовую волну и сопровождает ударный объем крови. Вне физической активности, параметры гемодинамики и АД определяет функция дистального отдела артериального русла. Именно они формируют объем сосудистого русла и периферическое сопротивление кровотоку.

При разных по этиологии нарушениях биологической функции трофологии, гомеостаза или эндоэкологии в паракрынных сообществах, последующая локальная биологическая реакция воспаления, меняет параметры дистального отдела артериального русла. Активная форма  $O_2$  *in situ* блокирует доступность NO для гладкомышечных клеток и нарушает реакцию эндотелий зависимой вазодилатации и увеличивает периферическое сопротивление кровотоку. При этом сердцу приходится

увеличивать АД в проксимальном отделе артериального русла пропорционально нарушению эндотелийзависимой вазодилатации. И если биологическая реакция воспаления продолжается, компенсация центральным насосом функции периферических насосов, повышение периферического сопротивления кровотоку и повышение АД становится постоянным [12].

Возможно, в нескольких паракрынных сообществах произошло нарушение перфузии и биологической функции гомеостаза. В этой ситуации интероцептивная эфферентная сигнализация по волокнам вегетативной нервной системы достигает сосудодвигательного центра. В ответ симпатическая, афферентная иннервация из ядер продолговатого мозга инициирует увеличение ударного объема и частоту сердечных сокращений, повышая АД. Увеличение перфузии устраняет нарушение биологических функций гомеостаза и эндоекологии. Однако, если системная компенсация нарушенной перфузии в паракрынных сообществах, увеличение АД продолжается длительное время, это приводит к нарушению:

а) локальной гидродинамики в паракрынных сообществах почек, в нефроне;

б) в сообществах клеток головного мозга;

в) функциональных сообществах клеток легких.

Нарушение функции происходит в тех органах, которые мы считаем органами-мишенями и в которых паракрынные сообщества располагают локальной системой гомо- и гидродинамики и механизмами ее регуляции.

Увеличение гидродинамического давления в афферентной артериоле мышечного типа в паракрынном сообществе может нарушить гидродинамику нефрона, которая в филогенезе сформировалась намного ранее большого круга кровообращения. Повышение АД в афферентной артериоле над базальной мембраной может увеличить фильтрацию в такой степени, что она может стать выше возможностей пассивной реабсорбции субстратов из локального пула первичной мочи в проксимальных канальцах нефрона и потере части единого пула межклеточной среды. Чтобы этого не было, на уровне паракрынной регуляции нефрона, происходит активация тубуло-гломерулярной обратной связи и регуляция нефрона не позволяет уровню гломерулярной фильтрации превысить параметры пассивной реабсорбции. Реализует тубуло-гломерулярную обратную связь в нефроне конечный продукт каскада реакций протеолиза: ренин → вазоконстриктор ангиотензин II. Он на паракрынном уровне, понижает гидродинамическое давление над базальной мембраной гломерул путем спазмирования афферентной артериолы. Это нормализует гломерулярную фильтрацию, однако при этом увеличивается периферическое сопротивление кровотоку и следует более выраженное повышение АД. В результате происходит склероз гломерул, гибель нефронов и параллельно развитие интерстициального нефроза [39].

Повышение АД в проксимальном отделе артериального русла увеличивает скорость кровотока в артериолах и обменных капиллярах паракрынных сообществах легких, в стенке альвеол. Однако параллельно этому снижается диффузия газов —  $O_2$  и  $CO_2$  через барьер клеток эндотелий-пневмоциты с развитием гипоксии и гиперкапнии. И опять механизмы обратной связи на уровне паракрынных сообществ легких, ангиотензин II спазмирует легочные артериолы мышечного типа нормализуют в крови легочных вен парциальное давление  $O_2$  и  $CO_2$ . Однако повышается периферическое сопротивление кровотоку в дистальном отделе и ожидаемая реакция сердца. Такие же патофизиологические изменения происходят и в паракрынных сообществах головного мозга. Повышение АД в артериолах мозга приведет к увеличению давления спинномозговой жидкости, чему сообщества клеток будут усиленно противостоять. Происходит формирование синдрома Кушинга, согласно которому повышение АД в проксимальном отделе артериального русла понижает скорость кровотока в артериолах мозга [13].

Еще Р. Вирхов обратил внимание на то, «что увеличение притока крови или повышение давления крови в сосуде, не только не приводит к улучшению питания, но напротив, может вызвать его глубокие расстройства» [6]. Этими словами, выражена реализация разных биологических функций: биологической функции трофологии, функции гомеостаза и эндоекологии. Согласно единой технологии становления в филогенезе функциональных систем, механизмы регуляции перфузии во всех паракрынных сообществах — это каскад реакции протеолиза ренин → ангиотензин II. На основании того, что АД является одной из основных в реализации биологических функций гомеостаза, эндоекологии и адаптации, повышение АД в проксимальном отделе сосудистого русла относится ко всем разделам клинической медицины. АД является в первую очередь тестом нарушенного метаболизма, той биологической реакцией, которая призвана компенсировать нарушения путем усиления перфузии, в частности, в паракрынных сообществах. Основу патогенеза эссенциальной артериальной гипертензии составляют нарушения биологических функций гомеостаза, экзотрофии, эндоекологии, адаптации и функции продолжения вида. Именно поэтому столь велика в популяции частота эссенциальной артериальной гипертензии во всех развитых странах. Первичные нарушения формируются на уровне паракрынных сообществ, после чего в процесс вторично вовлекаются органы мишени; ими являются почки, легкие, головной мозг и сердце, которое вынуждено работать «на износ». Несоответствие регуляции метаболизма на уровне организма и в паракрынных сообществах клеток является основой патогенеза такой «метаболической пандемии», как эссенциальная артериальная гипертензия.



После формирования биологической реакции локомоции и когнитивной функции (интеллекта) оказалось, что возможностей регуляции метаболизма на уровне организма, которых не было в паракринных сообществах клеток, не столь уж много. И это, главным образом, физические факторы, которыми являются:

- а) системное повышение АД;
- б) температура тела и гипертермия;
- в) электрическое проведение сигнала по нервным волокнам вегетативной нервной системы;
- г) активация транцитоза — взаимоотношение между локальными пулами межклеточной среды.

Эффективным способом регуляции нарушения биологических функций является АД; почки не регулируют АД, системное повышение АД при патологии почек это стремление на уровне организма хоть в какой-то мере компенсаторно восстановить функцию паракринных сообществ нефрона путем увеличения гидравлического давления над гломерулярной мембраной. Это патологическое состояние, с одной стороны, приводит к гипертрофии миокарда и последующей сердечной недостаточности, с другой, — к прогрессированию гломерулосклероза и хронической недостаточности почек.

### 5. Становление биологических функций на ступенях филогенеза; патогенез синдрома резистентности к инсулину

Развитие каждой из биологических функций и реакций, паракринных сообществ и органов происходило на протяжении миллионов лет, и сколько было сформировано вариантов сказать трудно; информация о наиболее важных этапах становления структуры и функции заложены в геноме каждой из клеток [14], поэтому, теория патологии обязательно включает филогенетическую составляющую. Становление каждой биологической функции и биологической реакции происходило на протяжении миллионов лет при формировании многих вариантов, которые, согласно биологическому принципу преемственности в филогенезе, формируются в процессе совершенствования того, что сделано на более ранних ступенях филогенеза. Функция локомоции инициировала формирование:

- а) замкнутой системы кровообращения и сосудисто-сердечной системы;
- б) сердца как центрального насоса;
- в) поперечнополосатой, скелетной мускулатуры;
- г) адипоцитов и специализированной, гуморально регулируемой жировой ткани — РСТ;
- д) системы ИНС.

Биологическая роль ИНС — обеспечение субстратами для выработки энергии биологической функции локомоции. Для целей, которые *in vivo* призваны реализовать ИНС, ГЛЮ является явно неподходящим субстратом:

- а) энергетическая ценность низкая;
- б) она гидрофильна;
- в) большие количества гликогена негде депонировать. Поэтому ИНС все внимание «уделил» ЖК;
- а) они гидрофобны, клетки могут активно их поглощать;
- б) энергетическая ценность ЖК высока;
- в) депонировать их *in vivo* можно неограниченно. Если ГЛЮ трудно депонировать, надо:
- а) окислять ее в митохондриях в первую очередь и оставшееся количество;

б) перевести в форму, в которой ГЛЮ можно запасать, в пальмитиновую насыщенную ЖК (н-ЖК), которую при действии ИНС можно превратить в олеиновую мононенасыщенную ЖК (моно-ЖК).

Однако активировать окисление ГЛЮ в митохондриях для ИНС оказывается не столь просто.

Если мы расставим все субстраты окисления митохондриями в порядке убывания:

- а) константы скорости реакции;
- б) образования ацетил-КоА;
- в) синтеза АТФ в цикле Кребса [15] получится следующая последовательность:

1) кетоновые тела — метаболиты самой короткой С 4 масляной ЖК —  $\beta$ -гидроксипальмитат и ацетоацетат;

2) короткоцепочечные С6—С10 н-ЖК;

3) среднецепочечные С12 и С14 н-ЖК;

4) длинноцепочечная С16:0 пальмитиновая н-ЖК, для которой митохондрии имеют специфичный транспортер;

5)  $\omega$ -9 эндогенная и  $\omega$ -6 экзогенная С18:1 олеиновая моно-ЖК, которая, при двойной связи (-С=С-) в цепи имеет высокую константу скорости окисления [16];

б) последней является ГЛЮ. Становление этой последовательности произошло еще в митохондриях прокариотов, и, согласно приему «биологической субординации» и биологическим «запретам» эволюции [17], изменено быть не может.

ИНС усилит не только активированное (пассивное) поглощение клетками ГЛЮ через глюкозные транспортеры 4 (ГЛЮТ4), но и окисление ГЛЮ, в митохондриях, если в цитозоле не будет ни кетоновых тел, ни ЖК в форме полярных НЭЖК [18]. Чтобы митохондрии начали окисление ГЛЮ, инсулину приходится блокировать липолиз в инсулинзависимых клетках и понизить содержание в цитозоле ЖК и их метаболитов. В биологической реакции экзотрофии, при постпрандиальной гипергликемии и гиперинсулинемии, ИНС:

- а) ингибирует липолиз;
- б) лишает митохондрии возможности окислять кетоновые тела и короткоцепочечные ЖК;
- в) облегчает поглощение клетками ГЛЮ;
- г) окисление ее в митохондриях.

Одновременно клетки депонируют ЖК в форме ТГ для обеспечения энергией биологической функции локомоции. ИНС действует только в биологической реакции экзотрофии [19]. Следовательно, ИНС активирует окисление ГЛЮ в клетках путем регуляции метаболизма ЖК; поэтому сахарный диабет можно с достаточным основанием именовать патологией метаболизма ЖК.

Что же такое синдром инсулинорезистентности (ИР)? Полагаем, это патофизиологичное состояние, при котором нет нарушений ни секреции, ни действия ИНС в клетках. Однако действию ИНС что-то мешает; если убрать это «что-то», действие гормона и окисление митохондриями ГЛЮ будет возобновлено. Этим «что-то» является повышение в межклеточной среде содержания НЭЖК. Основной причиной «бездействия» ИНС *in vivo* является формирование физиологичных процессов на уровне паракринных сообществ клеток, при которых филогенетически более ранние гормоны активируют липолиз в филогенетически ранних клетках интерстициальной ткани. Эти клетки не имеют рецепторов и ИНС и ИНС оказать на них регуляторное влияние не может. Активация липолиза в паракринных сообществах клеток и повышение в межклеточной среде концентрации НЭЖК блокирует окисление ГЛЮ и ИНС ничего сделать не может. Основными причинами ИР являются:

1) изменение биологической функции адаптации и усиление действия тиреоидных гормонов, гормона роста, катехоламинов, глюкокортикоидов и эстрогенов, которые физиологично активируют гормонзависимую липазу в пуле интерстициальной РСТ паракринных сообществ, увеличивая содержание НЭЖК в межклеточной среде;

2) нарушение биологической функции эндоэкологии, «замусоривание» межклеточной среды большими эндогенными флогогенами и активация биологической реакции воспаления, усилением липолиза в интерстициальной ткани и повышением содержания НЭЖК в межклеточной среде паракринных сообществ [20].

Однако в условиях централизованного кровообращения межклеточная среда каждого паракринного сообщества стала частью единого пула среды, в котором и происходит повышение содержания НЭЖК.

При пассивном поглощении клетками НЭЖК и появлении их в цитозоле, митохондрии сразу останавливают окисление ГЛЮ и начинают окислять НЭЖК [21]. Синдром ИР формируется на уровне организма, поскольку филогенетически поздний ИНС не может:

а) блокировать липолиз в клетках РСТ паракринных сообществ, в которых его локально активируют филогенетически ранние гуморальные медиаторы, гормоны;

б) понизить содержание в межклеточной среде АЛБ + НЭЖК;

в) остановить пассивное поглощение клетками НЭЖК;

г) предотвратить остановку окисления митохондриями ГЛЮ.

Рассмотрение этиологии и патогенеза наиболее распространенных в популяции человека заболеваний с позиций биологических функций и биологических реакций, при регуляции метаболизма *in vivo* на трех филогенетических уровнях, позволяет:

- осознать, что основой патогенеза заболеваний, частота которых в популяции человека превышает 5—7%, является нарушение биологических функций и биологических реакций;

- понять общность механизмов становления в филогенезе патогенеза эссенциальной артериальной гипертензии и ИР как несоответствие регуляции процессов гидродинамического АД и метаболизма ЖК, ГЛЮ на уровне организма и в паракринных сообществах;

- оценивать диагностическое значение тестов при разных видах патологии не в рамках отдельных заболеваний, а с позиций биологических функций и реакций: микроальбуминурия — превышение фильтрации в гломерулах над пассивной реабсорбцией в проксимальных канальцах; повышение С-реактивного белка в крови — «замусоривание» межклеточной среды *in vivo* эндогенными флогогенами (экзогенными патогенами) большой мол. массы и активация биологической реакции воспаления;

- рассматривать сахарный диабет, в первую очередь как патологию метаболизма ЖК и во вторую как патологию метаболизма ГЛЮ;

- понять функциональное, клиническое и диагностическое значение двух филогенетически разных отделов артериального русла, роль АД как биологической реакции, которая вовлечена в реализацию многих биологических функций;

- осознать биологические основы нормализации столь часто повышенного артериального давления.

Патогенез каждой из распространенных в популяции человека нозологических форм заболевания имеет длительный филогенетический анамнез. Для понимания этого нет ничего более практичного, чем хорошая теория (Д.И. Менделеев), теория патологии, единый алгоритм становления патогенеза для разных по этиологии нозологических форм заболеваний. Со времени, когда У. Гарвей ввел в медицину термин *сердечно-сосудистая система*, прошло более 400 лет. Термин широко используют в клинической медицине [22], однако как только мы начинаем говорить о регуляции, надо помнить, что в филогенезе произошло формирование не сердечно-сосудистой, а сосудисто-сердечной системы. Согласно методологическому подходу биологической субординации, при реализации биологической функции локомоции основную регуляторную роль выполняет сердце, проксимальный отдел артериального русла и симпатическая вегетативная нервная система. Вне биологической функции локомоции, главенствующую роль в регуляции гемодинамики исполняет филогенетически ранний дистальный отдел артериального русла и механизмы регуляции на уровне парак-

ринно регулируемых сообществ клеток, а также парасимпатическая вегетативная нервная система.

Все болезни, которые мы именуем метаболическими пандемиями, это не более чем последствия (издержки) продолжения эволюционного развития, приспособления организма к новым условиям воздействия неблагоприятных факторов. Основными из них являются те, которые нарушают биологическую функцию питания, функцию трофологии. Превышение желаний *Homo sapiens* над его возможностями являются основой столь частого развития афизиологичных процессов (атеросклероз, синдром ИР, ожирение, метаболический синдром, эссенциальная АГ и неалкогольная жировая болезнь печени, которые мы именуем как «метаболические пандемии»). При этом влияние неблагоприятных условий внешней среды становятся этиологическими факторами заболеваний, причинами нарушения биологических функций и биологических реакций.

Прежде чем продолжить совершенствование медицинской науки в XXI веке, желательно сформировать в среде клинических специалистов понимание того, что медицинская наука это часть общей биологии, а человек *Homo sapiens* — один из видов млекопитающих, который обладает исключительным интеллектом. В то же время, биологические, биохимические и физиологические процессы в организме человека сформировались на протяжении десятков, сотен миллионов лет жизни. Эти процессы являются во многом консервативными и очень непросто приспособляются к жизни в условиях современного пятого мирового океана. Это самый губительный для человека мировой океан — условия выраженного нарушения, в первую очередь, биологической функции трофологии (функции питания), биологической реакции экзотрофии — внешнего питания. Нарушения происходят при активном воздействии «химического оружия» пищевого прома, когда питание сотен миллионов человек не соответствует тем условиям, в которых произошло становление биологически консервативных основ метаболизма, биологических функций и биологических реакций. Однако не бывает интеллекта без сомы и о теле, соматическом здоровье, каждому индивидууму приходится думать самому.

*Homo sapiens* своими усилиями сформировал условия для становления болезней цивилизации и своим же интеллектом обязан во всем разобраться. Процесс эволюции продолжается; и высокий уровень летальности от болезней цивилизации является не более чем биологический феномен вымирания части популяции при адаптации к выраженным изменениям условий внешней среды. В конце концов, *Homo sapiens* адаптируется и к условиям пятого мирового океана, но для этого потребуются какие-то 30—40 миллионов лет. Не лучше ли воспользоваться биологической функцией интеллекта и привести все свое поведение в соответствие с биологическими возможностями вида *Homo sapiens*. Мы пока не готовы

признать, что основной причиной развития всех метаболических пандемий является нарушение метаболизма ЖК, однако понимание этого постепенно приходит, как и осознание того, что при нарушениях в популяции биологических функций и биологических реакций, фармацевтические средства эффективными быть не могут.

### Список литературы

1. **Бокарев И.Н., Шубина О.И.** Дизметаболическая симптоматическая артериальная гипертензия и дизметаболическая болезнь // *Клин. мед.* — 2009. — №8. — С. 67—71.
2. **Вельков В.В.** Новые представления о молекулярных механизмах эволюции: стресс повышает генетическое разнообразие // *Мол. биология.* — 2002. — Т. 36, №2. — С. 1—9.
3. **Вирхов Р.** Целлюлярная патология как учение, основанное на физиологической и патологической гистологии. — СПб., 1871.
4. **Давыдовский И.В.** Вопросы локализации и органо-патологии в свете учения Сеченова — Павлова — Введенского. — М.: Медгиз, 1954. — С. 5—36.
5. **Жданов В.С.** Роль гиперплазии интимы артерий в атерогенезе у человека // *Архив патологии.* — 1998. — №6. — С. 3—8.
6. Исторические заметки. А.Л. Мясников и Г.Ф. Ланг (по воспоминаниям А.Л. Мясникова) // *Кардиол. вестник.* — 2006. — №2. — С. 62—64.
7. **Карпин В.В.** Основания теории патологии: философско-методологические аспекты: Автореф. дисс. на соискание ученой степени докт. филос. наук. 09.00.09. — Новосибирск, 2009.
8. **Кашкин К.П., Дмитриева Л.Н.** Белки системы комплемента; свойства и биологическая активность // *Клин. лаб. диагност.* — 2000. — №7. — С. 25—32.
9. **Климов С.В.** Пути адаптации растений к низким температурам // *Успехи совр. биол.* — 2001. — Т. 121, №1. — С. 3—22.
10. **Лисицын Д.М., Разумовский С.Д., Тишинин М.А., Титов В.Н.** Кинетические параметры окисления озоном индивидуальных жирных кислот // *Бюлл. эксп. биол.* — 2004. — Т. 134, №11. — С. 117—119.
11. **Мелькумянц А.М., Балашов С.А.** Механочувствительность артериального эндотелия. — Тверь: Триада, 2005. — С. 29.
12. **Парахонский А.П.** Теория современной патологии в аспекте учения В.И. Вернадского о ноосфере // *Успехи соврем. естествознания.* — 2006. — №9. — С. 85—87.
13. **Повзун С.А., Мальков П.Г., Франк Г.А.** Целлюлярная патология и революция научной медицины (к 190-летию со дня рождения Рудольфа Вирхова) // *Архив патологии.* — 2010. — №1. — С. 6—11.
14. **Реутов В.П., Шехтер А.Н.** Как в XX веке физики, химии и биологи отвечали на вопрос: что есть жизнь? // *Успехи физиол. наук.* — 2010. — Т. 180, №4. — С. 394—414.
15. **Розенберг Г.С.** О путях построения теоретической экологии // *Успехи совр. биол.* — 2005. — Т. 125, №1. — С. 14—27.
16. **Рокитанский К.** Руководство к общей патологической анатомии. — М.: Медгиз, 1949.
17. **Сточик А.М., Пальцев М.А., Затравкин С.Н., Сточик А.А.** Опровержение традиционных представлений о болезни и возникновение естественно-научных основ патологии (XVII—XIX века) // *Вестник. Росс. АМН.* — 2011. — №2. — С. 40—52.

18. **Тимофеев-Ресовский Н.В., Воронцов Н.Н., Яблоков А.В.** Краткий очерк теории эволюции. — М.: Наука, 1977. — С. 300.
19. **Титов В.Н.** Анатомические и функциональные основы эндотелий-зависимой вазодилатации, оксид азота и эндотелин. Артериолы мышечного типа как перистальтические насосы // Успехи совр. биол. — 2010. — Т. 130, №3. — С. 237—257.
20. **Титов В.Н.** Атеросклероз — проблема общей биологии: нарушение биологических функций питания и эндоекологии // Успехи совр. биол. — 2009. — Т. 129, №2. — С. 124—143.
21. **Титов В.Н.** Интима — биологический сорбционный фильтр. Специфичность патогенов и биологическая классификация воспалительного поражения интимы // Вестник РАМН. — 2003. — №8. — С. 40—43.
22. **Титов В.Н.** Становление в филогенезе биологической функции локомоции системы инсулина. Биологические основы действия гормона // Успехи совр. биологии. — 2012. — Т. 132, №1. — С. 52—69.
23. **Титов В.Н.** Теория «периферического сердца» и становления в филогенезе сердечно-сосудистой (сосудисто-сердечной) системы // Вестник Санкт-Петербургского университета. — 2010. — Т. 11, №2. — С. 5—22.
24. **Титов В.Н.** Теория биологических функций и ее применение при выяснении патогенеза распространённых заболеваний человека // Успехи соврем. биологии. — 2008. — Т. 128, №5. — С. 435—452.
25. **Титов В.Н.** Филогенетические, структурные и патогенетические основы классификации форм артериальной гипертензии // Артериальная гипертензия. — 2009. — Т. 15, №3. — С. 389—400.
26. **Царегородский Г.И.** Методологические проблемы этиологии // Вестник РАМН. — 2003. — №3. — С. 36—39.
27. **Циммерман Я.С.** Размышления о здравоохранении, медицине и врачевании (несвоевременные мысли старого врача) // Клин. медицина. — 2011. — №3. — С. 4—9.
28. **Чазов Е.И.** Дизрегуляция и гиперактивность организма как факторы формирования болезни // Кардиол. вестник. — 2006. — Т. 1, №1. — С. 5—9.
29. **Чазов Е.И.** История изучения атеросклероза: истины, гипотезы, спекуляции // Тер. архив. — 1998. — №9. — С. 9—16.
30. **Яновский М.В.** О функциональной способности артериального периферического сердца // Научная медицина. — 1923. — №1. — С. 126—133.
31. **Avery S.V., Lloyd D., Hawood J.L.** Temperature-dependent changes in plasma-membrane lipid order and the phagocytotic activity of the amoeba *acanthamoeba castellanii* are closely correlated // Biochem. J. — 1995. — Vol. 312. — P. 811—816.
32. **Dickinson J.** The resistance of small cerebral arteries in patients with essential hypertension // J. Hypertens. — 2009. — Vol. 27. — P. 1923—1925.
33. **Dmitriev L.F., Titov V.N.** Lipid peroxidation in relation to ageing and role of endogenous aldehydes in diabetes and other age related diseases // Ageing. Res. Rev. — 2010. — Vol. 9, №2. — P. 200—210.
34. **Finlay D., Cantrell D.A.** Metabolism, migration and memory in cytotoxic T cells // Nature. Rev. Immunol. — 2011. — Vol. 11. — P. 109—117.
35. **Gupta V., Sachgeva S., Khan A.S., Hague S.F.** Endothelial dysfunction and inflammation in different stages of essential hypertension. Saudi // J. Kidney. Dis. Transpl. — 2011. — Vol. 22, №1. — P. 97—103.
36. **Hue L., Taegtmeyer H.** The Randle cycle revisited: a new head for an old hat // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. — 2009. — Vol. 297. — P. 578—591.
37. **Jean-Louis G., Zizi F., Clark L.T.** et al. Obstructive sleep apnea and cardiovascular disease: role of the metabolic syndrome and its components // J. Clin. Sleep. Med. — 2008. — 4(3). — P. 261—272.
38. **Jenkins D.L., Griffin O.W.** DL-aminocarnitine and acetyl-DL-aminocarnitine. Potent inhibitors of carnitine acyltransferases and hepatic triglyceride catabolism // J. Biol. Chem. — 1985. — Vol. 260. — P. 14748—14755.
39. **Khayutin V.M., Nikolsky V.P., Rogoza A.N., Lukoshkova E.V.** Endothelium determines stabilization of the pressure drop in arteries // Acta. Physiol. Scand. — 1993. — Vol. 148, №3. — P. 295—304.
40. **Kitano H.** Systems biology: a brief overview // Science. — 2002. — Vol. 295, №5560. — P. 1662—1664.
41. **Loscalzo J., Kohane I., Barabasi A.L.** Human disease classification in the postgenomic era: a complex systems approach to human pathobiology // Mol. Syst. Biol. — 2007. — Vol. 3. — P. 124—132.
42. **Marks A.R.** Physiological systems under pressure // J. Clin. Invest. — 2008. — Vol. 118, №2. — P. 41—413.
43. **Moley K.H., Mueckler M.M.** Glucose transport and apoptosis // Apoptosis. — 2000. — Vol. 5, №2. — P. 99—105.
44. **Muller-Marschhausen K., Waschke J., Drenckhahn D.** Physiological hydrostatic pressure protects endothelial monolayer integrity // Am. J. Physiol. Cel. Physiol. — 2008. — Vol. 34. — P. 324—332.
45. **Porta A., Eletto A., Torok Z., Francescheli S., Glatz A., Vigh L., Maresca B.** Changes in membrane fluid state and heat shock response cause attenuation of virulence // J. Bacteriol. — 2010. — Vol. 192, №7. — P. 1999—2005.
46. **Quehenberger O., Dennis E.A.** The human plasma lipiome // N. Engl. J. Med. — 2011. — Vol. 365. — P. 1812—1823.
47. **Ramsey S.A., Gold E., Aderem A.** A systems biology approach to understanding atherosclerosis // EMBO Mol. Med. — 2010. — Vol. 2, №3. — P. 79—89.
48. **Robins H.J., Longo W.** Whole body hyperthermia: simple complexities // Intensive Care. Med. — 1999. — Vol. 25. — P. 898—900.
49. **Steinberg H.O., Tarshoby M., Monestel R., Hook G., Crolin J., Johnson A., Bayazeed B., Baron A.D.** Elevated circulating free fatty acid levels impair endothelium-dependent vasodilation // J. Clin. Invest. — 1997. — Vol. 100. — P. 1230—1239.
50. **Stubbs P.J., Laycock J., Alagband-Zadeh J.** et al. Circulating stress hormone and insulin concentrations in acute coronary syndromes: identification of insulin resistance on admission // Clin. Sci. — 1999. — Vol. 96, №6. — P. 589—595.
51. **Yuan X., Zhang J., Wang Y.** Probability theory-based SNP association study method for identifying susceptibility loci and genetic disease models in human case-control data // Trans. Nanobiosci. — 2010. — Vol. 9, №4. — P. 232—241.
52. **Zak D.E., Aderem A.** Systems biology of innate immunity // Immunol. Rev. — 2009. — Vol. 227, №1. — P. 264—282.

Поступила 15.06.12

© Коллектив авторов, 2013  
УДК 616.891:612.017.1

Т.В. Давыдова<sup>1</sup>, Л.А. Ветрилэ<sup>1</sup>, Т.П. Ветлугина<sup>2</sup>, Т.И. Невидимова<sup>2</sup>,  
Н.А. Бохан<sup>2</sup>, Е.И. Батухтина<sup>2</sup>, В.Г. Фомина<sup>1</sup>, И.А. Захарова<sup>1</sup>

## **Антитела к нейромедиаторам как возможные нейроиммунные маркеры риска формирования зависимости от психоактивных веществ**

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»  
Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт психического здоровья»  
Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, 634014, Томск, ул. Алеутская, 4

*В сыворотке крови больных опиоидной наркоманией был обнаружен повышенный уровень аутоантител к нейромедиаторам дофамину, норадреналину и серотонину по сравнению с контрольной группой здоровых людей того же возраста. В группе больных в стадии острой абстиненции выявлено снижение уровня антител к дофамину, норадреналину и серотонину по сравнению с группой больных в период постабстинентных расстройств. В группе риска по формированию зависимости от психоактивных веществ уровень аутоантител к дофамину и норадреналину был ниже по сравнению с контрольной группой.*

**Ключевые слова:** антитела к нейромедиаторам, дофамин, норадреналин, серотонин, опиоидная наркомания, абстиненция

T.V. Davydova, L.A. Vetrile, T.P. Vetlugina, T.I. Nevidimova,  
N.A. Bokhan, E.I. Batukhtina, V.G. Fomina, I.A. Zakharova

## **Antibodies to neurotransmitters as possible neuroimmune risk markers of formation dependence to psychoactive substances**

<sup>1</sup> The Institute for General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

<sup>2</sup> Mental Health Research Institute of Siberian Branch of RAMS, 4, Aleutskaya str., Tomsk, 634014, Russia

*In the sera of patients with opioid addiction has been found elevated levels of autoantibodies to the neurotransmitters dopamine, norepinephrine and serotonin in comparison with a control group of healthy people of the same age. In the group of patients with acute withdrawal was showed a reduction of antibody to dopamine, noradrenaline and serotonin in the blood serum when compared with patients in the period of postabstinent disorders. In the group of patients with risk for the formation of substance dependence in serum was observed decrease in autoantibodies to dopamine and norepinephrine compared with the control group.*

**Key words:** antibodies to neurotransmitters, dopamine, noradrenaline, serotonin, opioid narcomania, abstinence

Поиск новых молекулярных маркеров для ранней диагностики наркомании и предрасположенности к ее развитию является одной из актуальнейших задач современной медицины. На сегодняшний день в научной литературе сформировалось мнение, что наркомания является заболеванием мозга, формирующимся на основе взаимодействия генетических, биологических и психосоциальных факторов [1]. Известно, что в механизмах действия психоактивных веществ (наркотики, алкоголь и др.), способных вызывать развитие синдрома зависимости есть общее звено. Ключевую роль в

механизмах развития зависимости от психоактивных веществ в частности наркомании, играет значительная перестройка в дофаминовой и, как показано в последнее время, норадреналиновой нейромедиации в мезолимбических структурах мозга, участвующих в формировании мотиваций и влечения [1, 7]. Особый интерес в настоящее время представляет изучение нейроиммунных механизмов формирования наркомании. Исследования последних лет свидетельствуют, что специфические антитела модулируют функции физиологически активных соединений, таких как нейромедиаторы, нейропептиды, гормоны [2]. Установлена тесная взаимосвязь между нарушением функции нейромедиаторных систем и индукцией аутоантител к ним при различных формах патологии ЦНС [2]. Показана возможность

**Для корреспонденции:** Давыдова Татьяна Викторовна,  
д-р мед. наук, гл. науч. сотр. лаб. нейроиммунопатологии ФГБУ  
«НИИОПП» РАМН. E-mail: niiorp@mail.ru

образования аутоантител к нейромедиаторам (дофамину, норадреналину, серотонину) при алкоголизме и опийной наркомании в клинике и эксперименте [2, 3]. В связи с этим несомненный интерес представляет поиск молекулярных маркеров зависимости от психоактивных веществ среди антител к нейромедиаторам, а именно аутоантител к дофамину, норадреналину и серотонину, которые могут отражать особенности состояния нейрорегуляторных систем, участвующих в механизмах предрасположенности и развития болезней зависимости.

*Цель работы* — изучение содержания аутоантител к дофамину, норадреналину, серотонину в сыворотках крови здоровых людей, лиц группы риска по формированию зависимости от психоактивных веществ, и лиц, страдающих опийной наркоманией.

### Методика

Обследовано 114 больных опийной наркоманией (86 мужского и 28 женского пола) в состоянии острой абстиненции и в период постабстинентных расстройств (отмена наркотика от нескольких суток до нескольких недель), 14 больных опийной наркоманией (11 мужского и 3 женского пола) на этапе формирования терапевтической ремиссии (несколько месяцев реабилитации), 17 чел. (12 мужского и 5 женского пола) в возрасте 18—28 лет с эпизодическим употреблением наркотиков (преимущественно каннабиноидов и амфетаминов), которых мы относили к группе риска по формированию зависимости от психоактивных веществ. Контролем служили 57 здоровых людей того же возраста (30 мужского и 27 женского пола), не употреблявших психоактивные вещества. Группы риска и контроля составили студенты средних специальных и высших учебных заведений. Исследование проведено на базе отделения аддиктивных состояний и лаборатории клинической психонейроиммунологии НИИПЗ СО РАМН. Клиническая верификация осуществлялась психиатрами-наркологами в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). Критериями включения больных в группу обследованных явились верифицированный диагноз, письменное информированное согласие пациента на участие в исследовании. Критериями исключения были наличие эндогенных психических расстройств и умственной отсталости, неврологической патологии, соматических расстройств в стадии обострения. Для групп сравнения критериями включения были письменное информированное согласие добровольца на участие в исследовании, возраст и пол, сопоставимые с основной группой. Критериями исключения были наличие психических расстройств, неврологической патологии, соматических расстройств в стадии обострения.

Кровь для исследования у больных и лиц групп сравнения брали однократно.

Антитела к нейромедиаторам дофамину, норадреналину, серотонину определяли методом твердофазного ИФА (ELISA) на полистироловых 96-луночных планшетах, сенсibilизированных тест-антигеном. В качестве тест-антигенов использовали конъюгаты нейромедиатора с бычьим сывороточным альбумином (БСА). Конъюгированные антигены дофамин-БСА и серотонин-БСА синтезировали с использованием диазотированного белка [6]. Конъюгат норадреналин-БСА синтезировали с помощью глутарового альдегида [5]. Тест-антиген вносили в объеме 100 мкл в лунки планшета (Costar, USA) в конечной концентрации 0,3 мкг/лунку. Через 18 ч инкубации при 4°С планшеты 4—5 раз промывали физиологическим раствором с 0,05% твином-20. Тестируемые сыворотки вносили в объеме 100 мкл в 0,05 М фосфатно-солевом буферном растворе рН 7,4 с 0,05% твином-20 в конечном разведении 1:50. После инкубации в течение 1 ч при 37°С планшеты промывали 3—4 раза физиологическим раствором с 0,05% твином-20 и обрабатывали вторичными антителами к IgG человека, меченные пероксидазой хрена («МЕДГАМАЛ» ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН), в разведении 1:2000. После часовой инкубации в термостате при 37°С планшеты промывали 3—4 раза физиологическим раствором с 0,05% твином-20 и в лунки добавляли по 100 мкл субстратной смеси, содержащей равные объемы 0,2 М раствора  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  и 0,1 М раствора лимонной кислоты, 8 мг о-фенилдиамина, 8 мкл 33%-ного раствора  $\text{H}_2\text{O}_2$ . После часовой инкубации в темноте при комнатной температуре реакцию останавливали 6 н.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Содержание антител в каждой лунке оценивали по оптической плотности сыворотки при  $\lambda=492$  нм с использованием считывающего устройства «Mini-reader» («ImmunoChem-2100», USA) и выражали в условных единицах активности, показателем, представляющим отношение оптической плотности сыворотки крови каждого больного к среднему значению сывороток крови здоровых доноров.

Полученные данные статистически обрабатывали по алгоритмам программы «Statistica 6.0» с проверкой соответствия распределения эмпирических данных нормальному закону по критерию Колмогорова—Смирнова и проверкой равенства генеральных дисперсий в сравниваемых выборках. При сравнении нескольких независимых выборок, в которых распределение эмпирических данных соответствовало нормальному закону, применяли однофакторный дисперсионный анализ «ONE WAY ANOVA» с последующим сравнением средних значений в рядах дисперсионного комплекса по тесту Стьюдента—Ньюма-

Выявление аутоантител к нейромедиаторам дофамину, норадреналину и серотонину в сыворотках крови здоровых лиц и больных наркоманией

Группа обследованных лиц	Количество обследованных лиц	Уровень (К, усл. ед.) аутоантител к нейромедиаторам		
		Дофамину	Норадреналину	Серотонину
Здоровые лица (контроль)	57	0,97±0,03	0,95±0,03	0,96±0,02
Больные наркоманией в состоянии острой абстиненции и в период постабстинентных расстройств	114	** 1,21±0,04	** 1,23±0,04	** 1,27±0,04
Больные наркоманией в стадии ремиссии	14	* 1,35±0,09	1,14±0,09	* 1,16±0,11

Примечание. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  по сравнению с группой здоровых лиц

на—Кеулса. Критические значения уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принимались равными 0,05. Данные представлены в виде  $M \pm SEM$ , где  $M$  — среднее,  $SEM$  — стандартная ошибка среднего.

### Результаты и обсуждение

В сыворотках крови обследованных групп обнаружены аутоантитела к дофамину, норадреналину и серотонину. Между группами больных с опийной наркоманией, группой риска и здоровыми людьми выявлены различия в содержании аутоантител к нейромедиаторам дофамину, норадреналину и серотонину. Достоверность межгрупповых различий по антителам к дофамину составила  $F(3,196)=10,794$ ,  $p < 0,000001$ ; по антителам к норадреналину она равнялась  $F(3,191)=15,138$ ,  $p < 0,000000$ ; по антителам к серотонину она была  $F(3,198)=16,733$ ,  $p < 0,000000$  (однофакторный дисперсионный анализ).

Результаты проведенного исследования представлены в таблице. Как видно из таблицы, общая группа

больных опийной наркоманией в острой абстиненции и в период постабстинентных расстройств, не получавших наркотики в течение от суток до нескольких недель, характеризуется увеличением содержания аутоантител ко всем исследуемым нейромедиаторам. Однако у пациентов в острой абстиненции (отмена наркотиков в течение нескольких суток) уровень аутоантител к дофамину, норадреналину и серотонину не был высоким и составлял  $0,94 \pm 0,06$  усл.ед.,  $1,05 \pm 0,09$  усл.ед.,  $0,89 \pm 0,06$  усл.ед. соответственно. В период постабстинентных расстройств, когда длительность отмены наркотических веществ составляла недели, уровень антител к дофамину норадреналину и серотонину был существенно выше и равнялся  $1,26 \pm 0,04$ ,  $1,27 \pm 0,04$ ,  $1,33 \pm 0,04$  усл.ед. соответственно (рис. 1).

В период формирования ремиссии, когда отмечается сокращение психопатологической симптоматики, сохранялось повышенное содержание антител к исследуемым нейромедиаторам по сравнению со здоровыми лицами (таблица).

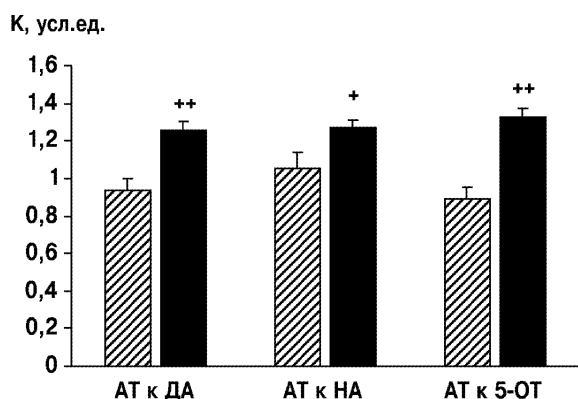


Рис. 1. Уровень аутоантител к нейромедиаторам дофамину, норадреналину и серотонину в сыворотках крови больных наркоманией в острой абстиненции и в период постабстинентных расстройств. По оси ординат — уровень аутоантител в условных единицах активности. Столбики с косой штриховкой — больные в острой абстиненции; темные столбики — в период постабстинентных расстройств. +  $p < 0,05$  по сравнению с острой абстиненцией; ++  $p < 0,01$  по сравнению с острой абстиненцией

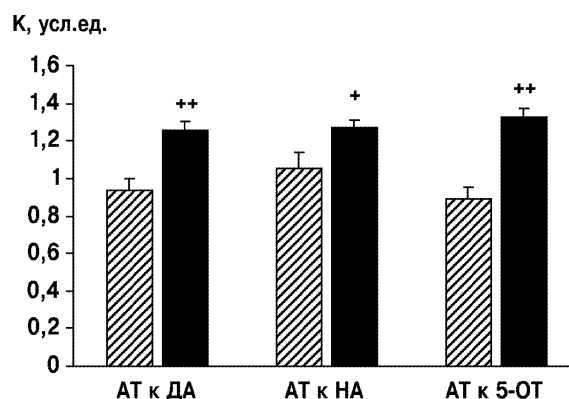


Рис. 2. Аутоантитела к нейромедиаторам дофамину, норадреналину и серотонину в сыворотке крови здоровых людей и лиц группы риска по формированию зависимости от психоактивных веществ. По оси ординат: уровень аутоантител (К, условные единицы активности).

Светлые столбики — контроль (здоровые лица); темные столбики — группа риска.

\*  $p < 0,05$  по сравнению с группой здоровых лиц.

Особый интерес представляют данные, полученные в группе риска по формированию зависимости от психоактивных веществ. В этой группе было обнаружено достоверное уменьшение содержания аутоантител к дофамину и норадреналину в сыворотках крови (рис. 2). Уровень антител к серотонину также был ниже в группе риска по формированию зависимого поведения, однако, он не достигал статистически значимого уровня по сравнению с контрольной группой здоровых лиц подростково-юношеского возраста.

Таким образом, аутоантитела к нейромедиаторам дофамину, норадреналину, серотонину при опийной наркомании можно рассматривать как продукт дисрегуляции нейроиммунных взаимодействий, которые являются посредниками и модуляторами механизмов развития болезни зависимости, в частности наркомании [2].

По-видимому, сниженный уровень антител к норадреналину в группе риска может соответствовать низкому уровню медиатора норадреналина в мезолимбических структурах мозга и повышенной потребности в стимуляции его выработки психоактивными веществами. Наряду с другими физиологическими факторами уровень антител к норадреналину в сыворотке крови может позволить оценить риск эпизодического употребления наркотиков [4] и, возможно, риск развития зависимости от психоактивных веществ.

Выявленные различия в содержании антител к нейромедиаторам, в особенности антител к норадреналину и дофамину, у больных опийной наркоманией на различных стадиях ее развития могут служить нейроиммунными маркерами прогноза течения заболевания.

Работа поддержана грантом РГНФ №12-06-00673

### Список литературы

1. *Анохина И.П.* Дисрегуляторные расстройства дофаминовой нейромедиаторной системы при алкоголизме и наркоманиях и их коррекция антидепрессантами // Дисрегуляторная патология. — М.: Медицина, 2002. — С. 329—341.
2. *Евсеев В.А.* Антитела к нейромедиаторам в механизмах нейроиммунопатологии. — М.: Изд. РАМН. — 2007. — 144 с.
3. *Мягкова М.А., Морозова В.С., Михайлов М.А.* и др. Сравнительное определение нейроиммунных показателей для диагностики заболеваний зависимости // Патогенез. — 2012. — Т. 10, №3. — С. 59—60.
4. *Невидимова Т.И., Давыдова Т.В., Ветрилэ Л.А.* и др. Иммунофизиологические факторы риска эпизодического употребления наркотиков лицами подростково-юношеского возраста // Патогенез. — 2012. — Т. 10, №3. — С. 60.
5. *Melmon K.L., Wenstein Y., Bourne H.R.* et al. The pharmacological effects of conjugates of pharmacologically active amines to complex or simple carries: a new class of drug // Mol. Pharmacol. — 1976. — Vol. 12, №5. — P. 701—710.
6. *Peskar B., Spector S.* Serotonin: Radioimmunoassay // Science. — 1973. — Vol. 179, №80. — P. 1340—1341.
7. *Weinshenker D., Schroder J.* There and back again: a tale of norepinephrine and drug addiction // Neuropsychopharmacology. — 2007. — Vol. 32. — P. 1432—1451.

Поступила 06.03.13

### Сведения об авторах:

*Ветрилэ Лучия Александровна*, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. нейроиммунопатологии ФГБУ «НИИОПП» РАМН

*Ветлугина Тамара Парфеновна*, д-р биол. наук, проф., Засл. деят. науки РФ, зав. лаб. клинической психонейроиммунологии ФГБУ «НИИПЗ» СО РАМН

*Невидимова Татьяна Ивановна*, д-р мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. клинической психонейроиммунологии ФГБУ «НИИПЗ» СО РАМН

*Бохан Николай Александрович*, д-р мед. наук, проф., Засл. деят. науки РФ, рук. отделения аддиктивных состояний ФГБУ «НИИПЗ» СО РАМН

*Батухтина Елена Ивановна*, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. клинической психонейроиммунологии ФГБУ «НИИПЗ» СО РАМН

*Фомина Валентина Гавриловна*, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. нейроиммунопатологии ФГБУ «НИИОПП» РАМН

*Захарова Ирина Александровна*, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. нейроиммунопатологии ФГБУ «НИИОПП» РАМН



М.А. Кузьменко, В.Б. Павлюченко, Л.В. Тумановская, В.Е. Досенко, А.А. Мойбенко

## Экспериментальная терапия ремоделирования сердца с помощью препаратов кверцетина

Институт физиологии им. А.А. Богомольца Национальной академии наук Украины, Украина, 01024, г.Киев, ул. Богомольца, 4

Показано, что длительная  $\beta$ -адренергическая гиперстимуляция приводила к фиброзу и нарушению функции сердца, а также к фибротическим изменениям его ткани. Применение препаратов кверцетина, в частности, водорастворимой формы (корвитин) и таблетированной (квертин) оказывало благоприятное действие на кардиогемодинамику, способствовало нормализации систолической и диастолической функции при ремоделировании сердца, вызванном длительными  $\beta$ -адренергическими воздействиями. Установлено, что используемая экспериментальная терапия сокращала площадь фиброза сердца практически в 3 раза, с чем может быть связано в первую очередь улучшение растяжимости, показателей диастолической и насосной функции сердца при его ремоделировании.

**Ключевые слова:** ремоделирование сердца, биофлавоноиды, фиброз, функция сердца

M.A. Kuzmenko, V.B. Pavlyuchenko, L.V. Tumanovskaya, V.E. Dosenko, A.A. Moybenko

## Experimental therapy of cardiac remodeling with quercetin-containing drugs

Bogomoletz Institute of Physiology, 4, Bogomoletz str., Kyiv, 01024, Ukraine

It was shown that continuous beta-adrenergic hyperstimulation resulted in cardiac function disturbances and fibrosis of cardiac tissue. Treatment with quercetin-containing drugs, particularly, water-soluble corvitin and tableted quertin exerted favourable effect on cardiac hemodynamics, normalized systolic and diastolic function in cardiac remodeling, induced by sustained beta-adrenergic stimulation. It was estimated that conducted experimental therapy limited cardiac fibrosis area almost three-fold, that could be associated with first and foremost improved cardiac distensibility, characteristics of diastolic and also pump function in cardiac remodeling.

**Key words:** cardiac remodeling, bioflavonoids, fibrosis, cardiac function

Ремоделирование сердца является универсальным феноменом, который проявляется в ответ на влияние различных патогенных факторов (ишемия, функциональная перегрузка сердца и т.д.). Ремоделирование имеет двухфазный характер [10]. В острую фазу (от нескольких минут до 2 нед. после действия фактора) происходит активация высвобождения цитокинов (преимущественно  $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{IL-1}\beta$  и  $\text{IL-6}$ ), миграция клеток воспаления, оксидативный стресс. Степень активизации этих процессов определяет выживаемость кардиомиоцитов и процессы регенерации ткани. Следующая хроническая фаза развивается в ответ на вторую, длительную волну активации образования цитокинов и отличается характерными особенностями в зоне повреждения и отдаленных участках миокарда, в частности на этом этапе определяется переход к эксцентрической или концентрической гипертрофии, а также отмечается активация матриксных металлопротеиназ, пролиферация фибробластов, развитие интер-

стициального фиброза и т.д. Существует мнение [9], что в хронической фазе ремоделирование сердца может играть адаптивную роль, если концентрическая гипертрофия позволяет нормализовать напряжение стенки сердца и сохранить систолическую функцию сердца. Дезадаптивным же ремоделирование сердца можно считать при избыточном изменении внеклеточного матрикса, значительном интерстициальном фиброзе, дилатации и дальнейшем нарушении насосной функции сердца.

В условиях эксперимента одним из способов воспроизведения ремоделирования сердца является адренергическая гиперстимуляция, которая сопровождается гипертрофией кардиомиоцитов, гибелью части клеток и замещением соединительной тканью [11]. На данном этапе разработки проблемы ведется активный поиск препаратов, пригодных для коррекции состояний, связанных с ремоделированием сердца [5]. Особое внимание привлекают в связи с этим вещества антиоксидантного действия, в частности, недавно получены данные о защитном эффекте применения комплекса растительных вытяжек для улучшения функции

**Для корреспонденции:** Мария Алексеевна Кузьменко, аспирант отд. общей и молекулярной патофизиологии ИФ им. А.А. Богомольца НАН Украины. E-mail: kuzmenko@biph.kiev.ua

сердца при его ремоделировании [14]. В эксперименте установлен спектр протекторных эффектов водорастворимой формы кверцетина — корвитина [4], получивших подтверждение в клинической практике при лечении инфаркта миокарда [3]. В частности показано, что применение корвитина в первые 5 сут. после инфаркта миокарда определяет дальнейшее течение заболевания на длительный период. Нами разработан препарат корвитин (патент Украины №23996А), который может быть терапевтически значимым для коррекции нарушений при ремоделировании сердца. До настоящего времени такого рода исследований не проводилось.

*Цель исследования* — оценка эффективности препаратов кверцетина (водорастворимой формы — корвитин и таблетированной формы — квертин) при экспериментальном ремоделировании сердца адренергической гиперстимуляции.

### Методика

Эксперименты проведены на крысах Вистар массой 280—320 г, которые были разделены на 3 группы. Животным 1-й группы (контроль) группы (I) вводили физиологический раствор на протяжении 7 сут., после чего они находились на стандартном рационе питания. Животные 2-й и 3-й групп получали подкожные инъекции агониста  $\beta$ -адренорецепторов изопроterenолола (5 мг/кг в сутки) на протяжении 7 сут. для воспроизведения  $\beta$ -адренергической гиперстимуляции и ремоделирования миокарда. С 8-х суток крысам 3-й группы внутривенно вводили: через хвостовую вену корвитин (5 мг кверцетина/кг) на протяжении 5 сут., после чего эти животные на протяжении 3 недель перорально в составе корма получали квертин (15 мг кверцетина/кг). На 34-е сут. после начала введения изопроterenолола все животные использованы для функциональных и гистологических исследований с целью определения степени повреждения миокарда.

Крыс анестезировали с помощью уретана (1,25 г/кг, внутривенно). Ультрамикрокатетер 2F («Millar Instruments», США) вводили через правую сонную артерию ретроградно в ЛЖ, что позволяло одновременно регистрировать изменения давления и объема ЛЖ в режиме реального времени [12]. Запись показателей кардиогемодинамики проводили в двух режимах: в исходном состоянии и в условиях временной (на протяжении 7—10 с) окклюзии брюшной полости вены (*v.cava*).

Соотношение давления и объема ЛЖ анализировали с помощью программы PVAN 3.6 («Millar Instruments», США) с конвертацией относительных единиц (RVU) в абсолютные единицы объема (мкл).

Основные параметры, регистрируемые в исходном состоянии, были: частота сердечных сокращений (ЧСС), конечно-систолический объем (КСО) и давление (КСД), конечно-диастолический объем (КДО) и давление (КДД), ударный объем (УО), минутный объем крови (МОК), фракция выброса (ФВ), максимальная скорость нарастания давления ЛЖ ( $dP/dt_{max}$ ), максимальная скорость снижения давления ЛЖ ( $dP/dt_{min}$ ), константа активного расслабления по методу Weiss (1976) ( $\tau$ ), артериальная жесткость как индекс постнагрузки.

Согласно концепции Suga H. и Sagawa [16], ЛЖ характеризуется переменной жесткостью (time-varying elastance), что позволяет определить его сократимость на основе показателей максимальной ( $ЖМ_{max}$ ) и конечно-систолической жесткости ( $ЖМ_{КС}$ ), а также способность к растяжению — на основе конечно-диастолической жесткости [12]. Величины данных параметров были получены в условиях временной окклюзии брюшной полости вены.

Выраженность фиброза в миокарде оценивали в препаратах с селективной окраской соединительной ткани (метод Ван-Гизон). Окрашенные срезы сканировали и полученные цифровые изображения анализировали с помощью специализированной морфометрической программы ImageJ (National Institutes of Health, USA).

Полученные данные обработаны с помощью программ Excel 2000 и Origin 7.0. Величины представлены как средние арифметические ( $M$ )  $\pm$  стандартная ошибка средней величины ( $m$ ).

### Результаты и обсуждение

Проведенные эксперименты выявили кардиопротекторный эффект препаратов кверцетина в отношении ремоделирования сердца. Через 26 сут. после адренергической гиперстимуляции у животных 2-й группы была нарушена насосная функция сердца: УО был снижен на 38% ( $p < 0,01$ ), МОК — на 42% ( $p < 0,01$ ), ФВ — на 36% ( $p < 0,01$ ), ЧСС при этом оставалась без изменений (таблица). В те же сроки после проведения экспериментальной терапии (3-я группа) отмечено отчетливое позитивное изменение гемодинамических показателей, что отразилось на форме кривых давления-объема (рис. 1). Насосная функция улучшалась: УО восстанавливался до контрольного уровня, ФВ была повышена на 41% ( $p < 0,01$ ), МОК — на 28% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с показателями 2-й группы. При этом значительно снижалось ЧСС на 21% ( $p < 0,01$ ). Таким образом, улучшение сердечного выброса происходило за счет увеличения объема изгоняемой крови, при реализации механизма Франка—Старлинга, что является энергетически более выгодным механизмом компенсации, чем, в частности, тахикардия или адреностимуляция.

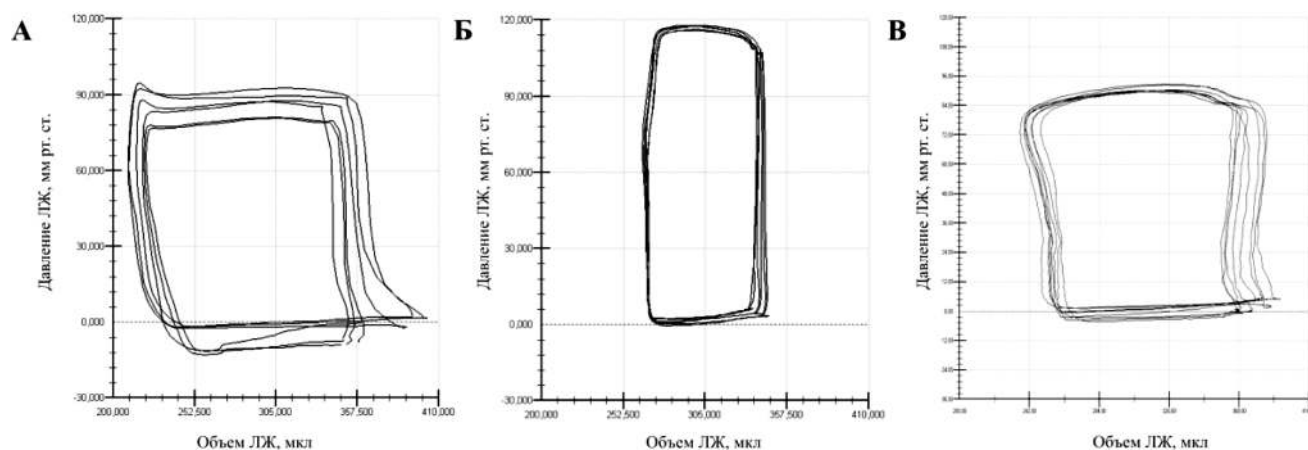


Рис. 1. Репрезентативные кривые давления-объема:

А – в контроле; Б – после адренергической гиперстимуляции; В – в группе с экспериментальной терапией препаратами кверцетина

Применение препаратов кверцетина приводило также к снижению конечно-систолического давления ( $83,9 \pm 1,54$  мм рт.ст. по сравнению с  $114,3 \pm 2,31$  мм рт.ст. при  $\beta$ -адренергической гиперстимуляции во II группе). При этом происходит, вероятно, уменьшение рабочей нагрузки сердца, что подтверждается снижением индекса постнагрузки сердца (артериальной жесткости) до уровня, близкого к контрольному.

После 26 сут. адренергической гиперстимуляции (II группа) наряду со снижением насосной функции сердца отмечено увеличение показателей сократительной активности и сократимости миокарда:  $dP/dt_{max}$  была повы-

шена в среднем на 50% ( $p < 0,01$ ),  $ЖМ_{кc}$  — в 2,5 раза ( $p < 0,01$ ),  $ЖМ_{макс}$  — на 43% ( $p < 0,05$ ) (таблица). Это, по-видимому, может объясняться рефлекторной компенсаторной активацией симпатических влияний, однако в литературе имеется массив данных, свидетельствующих о снижении количества  $\beta$ -адренергических рецепторов и менее выраженной активации ц-АМФ-путей при ремоделировании сердца, индуцированном агонистами  $\beta$ -адренорецепторов [11]. Возможно, такое несоответствие связано с тем, что в наших экспериментах оценка функции сердца проводилась через 26 сут. после отмены агониста, а в исследованиях других авторов —

Таблица

Показатели кардиогемодинамики у животных контрольной группы, после адренергической гиперстимуляции и после экспериментальной терапии препаратами кверцетина

Показатель кардиогемодинамики	Контроль (n=10)	Опыт (n=7)	Опыт + кверцетин (n=9)
Частота сердечных сокращений, уд./мин.	365±8,5	341±10,9	269±10,5** ##
Конечно-систолический объем, мкл	294,1±8,5	307,6±7,18	358,6±14,60** ##
Конечно-диастолический объем, мкл	371±7,3	347,8±8,56*	414,3±11,28** ##
Конечно-систолическое давление, мм рт.ст.	91,5±2,406	114,3±2,31**	83,9±1,54* ##
Конечно-диастолическое давление, мм рт.ст.	2,84±0,545	5,88±0,532**	1,79±0,394##
Ударный объем, мкл	105,59±5,150	64,94±4,333**	105,07±3,508##
Фракция выброса, %	27,72±1,259	17,85±0,950**	25,24±0,996 ##
Минутный объем крови, мкл/мин.	39218±2377,8	22206±1655,4**	28342±1455,0** ##
$dP/dt_{max}$ , мм рт.ст./с	8335±459,0	12494±821,3**	5736±371,7** ##
$dP/dt_{min}$ , мм рт.ст./с	-5911±237,2	-8073±350,6**	-5088±347,7* ##
Tau-W, мс	7,90±0,187	8,92±0,518*	9,09±0,250**
Tau-G, мс	12,01±0,531	11,76±0,581	13,90±0,687* #
Артериальная жесткость, мм рт.ст./мкл	0,96±0,049	2,14±0,187**	0,835±0,029* ##
Конечно-систолическая жесткость миокарда, мм рт.ст./мкл	1,40±0,264	3,55±0,594**	0,92±0,169 ##
Максимальная жесткость миокарда, мм рт.ст./мкл	2,21±0,303	3,15±0,323*	1,05±0,130** ##

Примечание. \* —  $P < 0,05$  по сравнению с контрольной группой; \*\* —  $P < 0,01$  по сравнению с контрольной группой; # —  $P < 0,05$  по сравнению с группой адренергической гиперстимуляции; ## —  $P < 0,01$  по сравнению с группой адренергической гиперстимуляции

непосредственно после окончания курса введения. Интересно, что подобное увеличение индексов сократимости миокарда было получено при тампонаде сердца на фоне ограниченного функционирования механизма Франка—Старлинга [2]; в этой работе также подчеркивается, что такое увеличение не обеспечивает полной компенсации нарушений насосной функции сердца.

В наших экспериментах мы наблюдали снижение показателей сократимости до уровня контрольных значений у животных с экспериментальной терапией (таблица). Возможно, такое действие препаратов кварцетина направлено на снижение перегрузки кардиомиоцитов ионами кальция, а также на сохранение более экономного, энергетически более выгодного режима работы сердца. Известно, что клинически значимыми являются препараты, снижающие сократимость миокарда (антагонисты  $\beta$ -адренорецепторов, ангиотензина) [5]. Таким образом, повышение сократимости в сердцах с недостаточностью, скорее всего, не является наилучшей стратегией для улучшения насосной функции сердца. Показано, что повышение входа ионов кальция у мышей с гиперэкспрессией кальциевых каналов L-типа после инфаркта миокарда предотвращает угнетение сократимости кардиомиоцитов, но увеличивает риск ишемического повреждения, ускоряет наступление внезапной смерти и усугубляет ослабление насосной функции сердца [19].

После адренергической гиперстимуляции (2-я группа) наблюдалась и диастолическая дисфункция сердца, о чем свидетельствует повышение константы активного расслабления  $\tau$  на 13% ( $p < 0,05$ ), КДД ЛЖ в 2 раза ( $p < 0,05$ ). Эти изменения позволяют говорить об увеличении длительности энергозатратного раннего периода расслабления миокарда, а также о снижении пассивной растяжимости миокарда в конце диастолы. При этом скорость снижения давления в ЛЖ ( $dp/dt_{\min}$ ) увеличивалась. Под влиянием препаратов кварцетина КДД было снижено на 70% ( $p < 0,01$ ), а значение  $dp/dt_{\min}$  было сравнимо с уровнем контрольной величины. При этом показатели активного расслабления  $\tau$ -W,  $\tau$ -G изменялись незначительно.

Таким образом, препараты кварцетина, в частности, корвитин и квертин, оказывают благоприятное воздействие на кардиогемодинамику, снимают перегрузку сердца, способствуют нормализации систолической и диастолической функции при remodelировании сердца, вызванном длительными  $\beta$ -адренергическими воздействиями.

Известно, что корвитин в низких концентрациях (2,5 мкМ) способствует выживанию кардиомиоцитов в эксперименте при аноксии-реоксигенации [1], а также — в клинике при инфаркте миокарда, что проявляется в ограничении зоны некроза миокарда [3].

В наших исследованиях впервые показано, что препараты кварцетина при продолжительном применении в дозах, апробированных в клинических условиях [3], ограничивают процесс склерозирования. Замещение погибших кардиомиоцитов соединительной тканью первоначально имеет компенсаторный характер, направлено на сохранение целостности и поддержание функции сердца на необходимом уровне. Однако чрезмерное накопление соединительнотканых волокон способно привести к дисфункции миокарда. Подтверждающие это положение данные мы получили в экспериментах с remodelированием сердца, вызванным  $\beta$ -адренергической гиперстимуляцией. Действительно, нарушение функции миокарда, и в первую очередь его пассивной растяжимости, было связано с увеличением зоны фиброза в 5,5 раза ( $p < 0,01$ ) (рис. 2). Микроскопия срезов сердца, окрашенных для выявления фибротических изменений, показала, что после адренергической гиперстимуляции преимущественно в эндокарде сердца крысы наблюдается значительное разрастание соединительнотканых волокон, которые частично замещают кардиомиоциты, тогда как в контрольных опытах таких фибротических изменений миокарда не наблюдалось (рис. 3).

Проведенная терапия препаратами, содержащими кварцетин, значительно предупредила и/или ограничила развитие как диффузных интерстициальных, так и очаговых в зоне эндокарда фибротических процессов, причем в процентном соотношении это выразилось следующим образом: после адренергической гиперстимуляции (2-я группа) площадь фиброза составила  $14,6 \pm 1,52\%$  ( $p < 0,01$ ), в группе с экспериментальной терапией —  $5,8 \pm 0,98\%$  ( $p < 0,01$ ) по отно-

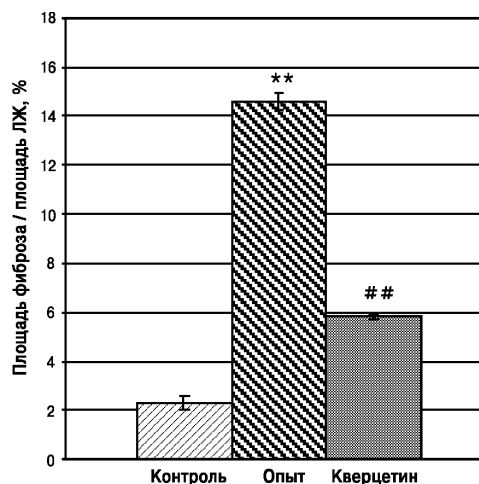


Рис. 2. Площадь фиброза сердца у животных контрольной группы, после адренергической гиперстимуляции и после экспериментальной терапии препаратами кварцетина:

\*\* —  $P < 0,01$  по сравнению с контрольной группой; ## —  $P < 0,01$  по сравнению с группой адренергической гиперстимуляции

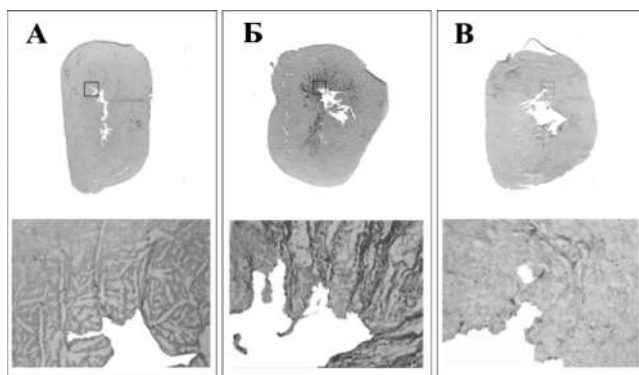


Рис. 3. Срезы миокарда. Элективная окраска соединительной ткани по Ван-Гизону: А — контроль; Б — после адренергической гиперстимуляции; В — после экспериментальной терапии препаратами кверцетина

шению к площади ЛЖ (рис. 2). Таким образом, длительное применение препаратов кверцетина способствовало ограничению площади фибротически измененного миокарда в 3 раза ( $p < 0,01$ ), улучшению способности сердца к растяжению, и, соответственно, увеличению насосной функции сердца.

Выявленные эффекты препаратов кверцетина могут быть также обусловлены его тормозящим влиянием на активность белков-ферментов, являющихся активными участниками процесса ремоделирования сердца. Среди них особое значение имеет протеасома, которая является основным компонентом системы разрушения белков в клетке. Показано, что применение ингибиторов протеасомы приводит к регрессии гипертрофии, вызванной изопротеренолом [15], а также стабилизирует функцию сердца, уменьшает апоптоз, угнетает накопление коллагена после формирования перегрузки давлением [7]. Одним из важных механизмов участия протеасомы в процессах ремоделирования сердца является активация ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B, ключевого для гипертрофического и провоспалительного ответа. Поскольку корвитин, как было показано ранее [6], имеет свойство ингибировать активность протеасомы, то, возможно, это будет сопровождаться уменьшением воспаления, развитием умеренной гипертрофии и нормализацией функции сердца.

Снижение активности липоксигеназы также может обуславливать протекторные эффекты корвитина и квертина. Установлено [8], что блокада липоксигеназного пути превращения арахидоновой кислоты, а именно гена фермента ALOX-5, способствует уменьшению воспалительного процесса и зоны некроза миокарда после ишемии-реперфузии. На сердечных фибробластах показано, что гиперэкспрессия ALOX-12 сопровождалась увеличением содержания

белков, в частности, фибронектина и коллагена, а также снижением скорости деления клеток [17]. Таким образом, ограничение активности данного фермента может способствовать уменьшению зоны фиброза и восстановлению функции сердца при его ремоделировании.

Важным представляется также аспект действия препаратов кверцетина в качестве антиоксидантной защиты. Как известно, активные формы кислорода в больших концентрациях оказывают губительное влияние на клетку, активируют провоспалительные цитокины, ускоряют развитие интерстициального фиброза, в частности при длительной  $\beta$ -адренергической стимуляции [18]. Показано, что профилактическое применение кверцетина (10 мг/кг) уменьшало элевацию сегмента ST и снижало уровень продуктов перекисного окисления липидов в плазме и сердце крыс после кардиотоксического действия больших доз изопротеренола (100 мг/кг) [13].

Полученные нами результаты позволяют сделать вывод о том, что длительное применение препаратов на основе кверцетина (корвитин и квертин) после  $\beta$ -адренергической гиперстимуляции способствует ограничению площади фибротически измененного миокарда, что является одним из механизмов, опосредующих улучшение насосной функции сердца при его ремоделировании.

### Список литературы

1. Досенко В.Е., Нагибин В.С., Тумановская Л.В. и др. Влияние кверцетина на активность очищенных 20S, 26S протеасом и протеасомную активность в изолированных кардиомиоцитах // Биомедицинская химия: научно-практический журнал. — 2006. — Т. 52, №2. — С. 138—145.
2. Казьмин С.Г. Кардиодинамика и сократительная активность миокарда при тампонаде сердца: Автореф. дисс. на соискание учёной степени к.м.н. — Киев, 1982.
3. Пархоменко А.Н., Мойбенко А.А., Кожухов С.Н. и др. Первый опыт применения внутривенной формы ингибитора 5-липоксигеназы у больных с острым инфарктом миокарда, клинико-гемодинамические параллели, влияние препарата на размеры некроза // Укр. кардиол. журнал. — 2000. — №1—2. — С. 5—9.
4. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца / Под ред. А.А. Мойбенко, А.Н. Пархоменко, В.Е. Досенко. — Киев: Наукова думка, 2008. — 520 с.
5. Cokkinos D.V., Pantos C. Myocardial remodeling, an overview // Heart Fail. Rev. — 2011. — Vol. 16. — P. 1—4.
6. Dosenko V.E., Nagibin V.S., Tumanovskaia L.V. et al. The influence of quercetin on the activity of purified 20S, 26S proteasome and proteasomal activity in isolated cardiomyocytes // Biomed. Khim. — 2006. — Vol. 52, №2. — P. 138—145.
7. Hedhli N., Lizano P., Hong C. et al. Proteasome inhibition decreases cardiac remodeling after initiation of pressure overload // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. — 2008. — Vol. 295, №4. — P. 1385—1393.

8. *Lisovyy O.O., Dosenko V.E., Nagibin V.S.* et al. Cardioprotective effect of 5-lipoxygenase gene (ALOX5) silencing in ischemia-reperfusion // *Acta Biochim. Pol.* — 2009. — Vol. 56, №4. — P. 687–694.
9. *Massion P.B., Balligand J.-L.* Relevance of nitric oxide for myocardial remodeling // *Curr. Heart Fail. Rep.* — 2007. — Vol. 4. — P. 18–25.
10. *Nian M., Lee P., Khaper N., Liu P.* Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling // *Circ. Res.* — 2004. — Vol. 94. — P. 1543–1553.
11. *Osadchii O.E.* Cardiac hypertrophy induced by sustained  $\beta$ -adrenoreceptor activation: pathophysiological aspects // *Heart Fail. Rev.* — 2007. — Vol. 12, №1. — P. 66–86.
12. *Pacher P., Nagayama T., Mukhopadhyay P.* et al. Measurement of cardiac function using pressure-volume conductance catheter technique in mice and rats // *Nat. Protoc.* — 2008. — Vol. 3, №9. — P. 1422–1434.
13. *Prince P.S.M., Sathya B.* Pretreatment with quercetin ameliorates lipids, lipoproteins and marker enzymes of lipid metabolism in isoproterenol treated cardiotoxic male Wistar rats // *Eur. J. Pharmacol.* — 2010. — Vol. 635, №1–3. — P. 142–148.
14. *Sharma A., Mediratta P. K., Sharma K. K., Fahim M.* Lipotab, a polyherbal formulation, attenuates isoprenaline-induced left ventricular remodeling and heart failure in rats // *Hum. Exp. Toxicol.* — 2010. — [In press].
15. *Stansfield W.L., Tang R.H., Moss N.C.* et al. Proteasome inhibition promotes regression of left ventricular hypertrophy // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2008. — Vol. 294. — P. 645–650.
16. *Suga H.* How we view systolic function of the heart: Emax and PVA // *Systolic and diastolic function of the heart* / Ed. Ingels N.B. et al. — Amsterdam: IOS Press and Ohms-ha, 1995. — P. 215–225.
17. *Wen Y., Gu J., Peng X.* et al. Overexpression of 12-lipoxygenase and cardiac fibroblast hypertrophy // *Trends Cardiovasc. Med.* — 2003. — Vol. 13, №4. — P. 129–136.
18. *Zhang G.X., Kimura S., Nishiyama A.* et al. Cardiac oxidative stress in acute and chronic isoproterenol-infused rats // *Cardiovasc. Res.* — 2005. — Vol. 65, №1. — P. 230–238.
19. *Zhang H., Chen X., Gao E.* et al. Increasing cardiac contractility after myocardial infarction exacerbates cardiac injury and pump dysfunction // *Circ. Res.* — 2010. — Vol. 107, №6. — P. 800–809.

Поступила 07.11. 11

#### Сведения об авторах:

*Павлюченко Виктория Борисовна*, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. отд. общей и молекулярной патофизиологии ИФ им. А.А. Богомольца, НАН Украины

*Тумановская Леся Владимировна*, научн. сотр. отд. общей и молекулярной патофизиологии ИФ им. А.А. Богомольца, НАН Украины

*Досенко Виктор Евгеньевич*, д-р мед. наук, вед. науч. сотр. отд. общей и молекулярной патофизиологии ИФ им. А.А. Богомольца, НАН Украины

*Мойбенко Алексей Алексеевич*, д-р мед. наук, акад. НАН Украины, зав. отд. общей и молекулярной патофизиологии ИФ им. А.А. Богомольца, НАН Украины

В.М. Баев, Н.В. Шарапова, С.А. Шмелева

## Восстановление реологической функции крови у пациентов с внебольничной пневмонией на фоне артериальной гипертензии в процессе госпитальной терапии

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная медицинская академия им. Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь, ул. Петропавловская, 26

*Исследованы параметры реологии крови при постоянных и меняющихся скоростях сдвига у 30 пациентов с внебольничной пневмонией на фоне артериальной гипертензии и 30 пациентов с внебольничной пневмонией в процессе лечения. При клиническом выздоровлении отмечаются нарушения реологических свойств крови у 39—81% пациентов.*

**Ключевые слова:** реология крови, внебольничная пневмония, артериальная гипертензия

V.M. Baev, N.V. Sharapova, S.A. Shmeleva

## Restoration of the blood rheological patients with cap on the background of arterial hypertension in the process of hospital treatment

E.A. Vagner Perm State Medical Academy, 26, Petropavloskaya str., 614990, Perm, Russia

*The parameters of blood rheology at constant and varying shear rates in 30 patients with community-acquired pneumonia on a background of hypertension and 30 patients with community-acquired pneumonia during treatment. When recovery of rheological properties of blood disorders are in 39—81% of patients.*

**Key words:** rheology of blood, community-acquired pneumonia, arterial hypertension

Исследование реологических свойств крови является важным аспектом клинической оценки состояния здоровья пациента [1, 8, 9, 10]. За последние годы большое число клинических исследований посвящено изучению гемореологических параметров (в том числе при меняющихся скоростях сдвига) при различных заболеваниях [3, 6, 14]. Восстановление реологической функции крови в процессе выздоровления после острого заболевания исследовано недостаточно.

*Цель исследования* — оценка полноты восстановления реологических параметров крови у пациентов с внебольничной пневмонией на фоне артериальной гипертензии в процессе госпитальной терапии.

### Методика

Исследованы гемореологические параметры у пациентов с внебольничной пневмонией (ВП) и ВП на фоне артериальной гипертензии (АГ), поступившие в стационар для лечения. Местом подбора пациентов были МУЗ «Медсанчасть №6» и «Медсанчасть №9 им. М.А. Тверье» г.Перми. Пациентами конт-

рольной группы были сотрудники МУЗ «Медсанчасть №6». Пациенты перед исследованием подписывали письменное соглашение. Были сформированы 3 группы. Основная группа — пациенты с ВП на фоне АГ; группа сравнения — пациенты с ВП без АГ; группа контроля — пациенты без ВП и АГ. Диагноз ВП устанавливали согласно рекомендациям Российского респираторного общества [12, 13], диагноз АГ — по данным амбулаторной карты. Использовали одномоментный тип исследования.

Реологические свойства крови исследовались оценивали согласно рекомендациям Международного комитета по стандартизации в гематологии (ISCH). Забор крови осуществляли из локтевой вены, в положении сидя, в последний день госпитализации, до приема лекарств. Стабилизатор — гепарин. Измерения проводили из одной взятой порции крови в течение 4 ч после венопункции. Определяли:

- кажущуюся вязкость цельной крови, плазмы и сыворотки с помощью АКР-2 при постоянных скоростях сдвига 20, 50, 100 и 200 с<sup>-1</sup> (НИИФХМ МЭ РФ, Москва, год выпуска 1997) [7];

- время релаксации крови при падении скорости сдвига с 200 до 20 с<sup>-1</sup> (КР t<sup>200-20</sup>), плазмы (Пл t<sup>200-20</sup>), сыворотки (Сыв t<sup>200-20</sup>) и время релаксации крови при нарастании скорости сдвига с 20 до

**Для корреспонденции:** Баев Валерий Михайлович, д-р мед. наук, доцент, зав. каф. скорой медицинской помощи ФПК и ППС ГБОУ ВПО ПГМА им. Е.А. Вагнера Минздрава России. E-mail: vmbaev@hotmail.com

200 с<sup>-1</sup> (КР t<sup>20-200</sup>), плазмы (Пл t<sup>20-200</sup>), сыворотки (Сыв t<sup>20-200</sup>). Данные параметры отражают изменчивость функции крови под воздействием смены скоростей сдвига. Для исследования использовали устройство для измерения реологических свойств крови [2].

**Методы вмешательства.** Стационарная медицинская помощь пациентов основной группы включала в себя терапию ВП согласно рекомендациям Российского респираторного общества [13]. Терапию АГ проводили в соответствии с приказом Минздравсоцразвития РФ от 22.11.2004 N 254. Статистический анализ проведен при помощи программы «Statistica 6.1» (серийный номер AXXR912E53722FA, StatSoft-Russia, 2009). Изучаемые переменные имели неправильное распределение (критерий Колмогорова—Смирнова <0,05). Сравнение двух групп проводили методом Манна—Уитни и критерием Z. Достоверность различия учитывали при p<0,05.

## Результаты и обсуждение

Основная группа состояла из 30 пациентов (16 женщин и 14 мужчин), с медианой возраста — 48 лет (25% — 39 лет; 75% — 57 лет). Группа сравнения состояла из 30 пациентов (16 женщин и 14 мужчин), медиана возраста — 48 лет (25% — 39 лет; 75% — 57 лет). Контрольную группу составили 30 чел. (14 женщин и 16 мужчин) с медианой возраста — 46 лет (25-перцентиль — 42 лет; 75-перцентиль — 49 лет). Различий по возрасту между наблюдаемыми группами пациентов не было.

При выписке пациентов из стационара выявлено, что ряд гемореологических параметров основной группы не соответствовал параметрам группы контроля. В основной группе достоверно выше был показатель вязкости крови, плазмы, сыворотки. В данной группе время релаксации крови при падении скорости сдвига было достоверно более длительным, а плазмы более коротким (табл. 1).

Таблица 1

Результаты сравнения реологических параметров крови пациентов основной группы при выписке и группы контроля

Показатель	Основная группа при выписке (n=31)	Группа контроля (n=30)	P
	M (25%—75%)		
ВЗК, мПа · с, при 200 с <sup>-1</sup>	5,9 (5,0-6,6)	5,3 (5,0-5,6)	0,019
ВЗК, мПа · с, при 100 с <sup>-1</sup>	6,2 (5,4-6,8)	5,8 (5,5-6,6)	0,020
ВЗК, мПа · с, при 50 с <sup>-1</sup>	7,4 (6,2-8,1)	6,5 (6,3-7,0)	0,015
ВЗК, мПа · с, при 20 с <sup>-1</sup>	9,1 (8,0-9,6)	8,1 (8,0-9,2)	0,044
ВЗПл, мПа · с	1,9 (1,8-2,1)	1,8 (1,7-1,8)	0,0006
ВЗСыв, мПа · с	1,7 (1,6-1,9)	1,6 (1,6-1,7)	0,00006
КР t <sup>200-20</sup>	4,7 (4,4-5,0)	4,5 (4,4-4,6)	0,0213
КР t <sup>20-200</sup> , с	3,3 (2,6-4,4)	3,7 (3,3-3,8)	0,312
Пл t <sup>200-20</sup> , с	2,3 (0,4-3,1)	3,0 (2,7-3,4)	0,0008
Пл t <sup>20-200</sup> , с	1,9 (1,0-2,1)	1,8 (1,5-2,0)	0,965
Сыв t <sup>200-20</sup> , с	2,1 (0,4-2,8)	2,5 (2,4-2,8)	0,053
Сыв t <sup>20-200</sup> , с	1,7 (0,4-2,0)	1,6 (1,3-2,0)	0,424

Таблица 2

Результаты сравнения реологических параметров крови пациентов группы сравнения при выписке и группы контроля

Показатель	Группа сравнения (n=30)	Группа контроля (n=30)	P
	M (25%—75%)		
ВЗК, мПа · с, при 200 с <sup>-1</sup>	5,3 (4,9-5,7)	5,3 (5,0-5,6)	0,9
ВЗК, мПа · с, при 100 с <sup>-1</sup>	5,8 (5,5-6,2)	5,8 (5,5-6,6)	0,7
ВЗК, мПа · с, при 50 с <sup>-1</sup>	6,7 (6-7)	6,5 (6,3-7,0)	0,9
ВЗК, мПа · с, при 20 с <sup>-1</sup>	8,2 (7,6-8,7)	8,1 (8,0-9,2)	0,6
ВЗПл, мПа · с	2,0 (1,8-2,1)	1,8 (1,7-1,8)	0,0006
ВЗСыв, мПа · с	1,7 (1,6-1,7)	1,6 (1,6-1,7)	0,09
КР t <sup>200-20</sup>	4,6 (4,3-4,7)	4,5 (4,4-4,6)	0,48
КР t <sup>20-200</sup> , с	3,4 (3,2-3,6)	3,7 (3,3-3,8)	0,006
Пл t <sup>200-20</sup> , с	2,9 (2,5-3,1)	3,0 (2,7-3,4)	0,11
Пл t <sup>20-200</sup> , с	2,1 (1,7-2,4)	1,8 (1,5-2,0)	0,008
Сыв t <sup>200-20</sup> , с	2,5 (2,4-2,7)	2,5 (2,4-2,8)	0,38
Сыв t <sup>20-200</sup> , с	1,5 (1,0-2,0)	1,6 (1,3-2,0)	0,45



Таким образом, при явных клинических признаках выздоровления после ВП на фоне АГ, показатели реологических свойств крови полностью не восстанавливались.

Анализ частоты нарушений реологической функции крови у пациентов основной группы при выписке из стационара показал, что вязкость крови при скорости сдвига  $200 \text{ с}^{-1}$  осталась нарушенной у 24 пациентов (77%), вязкость крови при скорости сдвига  $100 \text{ с}^{-1}$  оставалась повышенной — у 17 пациентов (55%), при скорости сдвига  $50 \text{ с}^{-1}$  — у 25 пациентов (81%), при скорости сдвига  $20 \text{ с}^{-1}$  — у 19 пациентов (61%), вязкость плазмы — у 21 пациента (68%), вязкость сыворотки — у 12 пациентов (39%). В этой группе пациентов время релаксации крови и плазмы при падении скорости сдвига — у 25 чел. (81%) и у 19 чел. (61%) соответственно.

Проведенное исследование реологических свойств крови у пациентов группы сравнения при выписке из стационара показало различия с группой контроля только в трёх изучаемых гемореологических параметрах. Оставалась повышенной вязкость плазмы, при росте скорости сдвига сократилось время релаксации крови и увеличилось время релаксации плазмы. Остальные параметры соответствовали норме (табл. 2).

При изучении группы сравнения частоты встречаемости нарушенных гемореологических параметров выявлено, вязкость плазмы не соответствовала критериям нормы у 20 пациентов (67%). В данной группе при росте скорости сдвига время релаксации крови не соответствовало критериям нормы у 16 пациентов (53%), время релаксации плазмы не соответствовало критериям нормы у 19 пациентов (63%).

Таким образом, мы отмечаем, что наличие АГ у пациентов с ВП препятствует процессу восстановления гемореологических параметров.

АГ сама по себе сопровождается гемореологическими нарушениями. В целом ряде исследований показано, то нарушения вязкости способствуют развитию АГ [3, 15]. Было выявлено негативное влияние АГ на течение и исход ВП [4, 5, 11]. Несмотря на то, что при выписке у 100% пациентов основной группы были достигнуты клинические критерии выздоровления после ВП и целевой уровень артериального давления, у большинства пациентов нормализации гемореологических параметров не наступило. Напротив, при ВП без АГ, большинство параметров достигли нормы. Данный факт указывает на неблагоприятное прогностическое влияние АГ на процесс восстановления гемостаза.

## Список литературы

1. **Баев В.М.** Синдром неспецифических гемореологических нарушений (феномены высокой и низкой вязкости цельной крови) // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2001. — №6. — С. 39–42.
2. **Баев В.М.** Устройство для измерения реологических свойств крови // Госреестр изобретений РФ. — 10.10.2010. — Бюллетень №28. — Патент N 2401064.
3. **Баев В.М., Шарапова Н.В.** Вязкость крови как регулятор уровня артериального давления человека // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2011. — №4. — С. 12–16.
4. **Баев В.М., Шарапова Н.В.** Динамика реологических свойств крови у пациентов с внебольничной пневмонией на фоне артериальной гипертензии в процессе госпитальной терапии // Врач аспирант. — 2012. — №1. (50). — С. 229–234
5. **Баев В.М., Шарапова Н.В.** Клинические и гемореологические особенности течения внегоспитальной пневмонии у пациентов с артериальной гипертензией в условиях стационарного лечения // Здоровье семьи — 21 век. — 2010. — №2. — С. 1–5.
6. **Баев В.М., Шарапова Н.В.** Сравнительная оценка информативности реологических параметров крови при постоянных и изменяющихся скоростях сдвига // Здоровье семьи XXI век. — 2012. — №1.
7. **Лопухин Ю.М., Парфенов А.С., Пешков Ф.И.** и др. Анализатор вязкости крови АКР-2. Определение реологических свойств крови // Метод. рекомендации. — 1996. — 18 с.
8. **Мороз Б.Б.** Актуальные проблемы патофизиологии. Избранные лекции. — Медицина, 2001. — 424 с.
9. **Муравьев А.В., Тихомирова И.А.** Оценка гемореологического статуса и состояния микроциркуляции здоровых лиц и пациентов с артериальной гипертензией // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2009. — №3. — С. 37–42.
10. **Петрищев Н.Н.** Области применения высокочастотной доплерографии в медицине // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2006. — №2. — С. 94–100.
11. **Петухов Е.Б., Березов В.Ш., Мартынов Ю.М.** Нарушение вязкости крови при сосудистых заболеваниях // Реологические исследования в медицине. — М., РНЦХ РАМН. — 2000. — Вып. 2. — С. 66–69.
12. **Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Страчунский Л.С.** Пневмония. — М., 2006. — 464 с.
13. **Чучалин А.Г., Синопальников А.И.** Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике у взрослых. — М.: Атмосфера, 2006. — 30 с.
14. **Шарапова Н.В.** Вязкость крови, время релаксации и напряжения крови у пациентов с внебольничной пневмонией различной степени тяжести // Мир науки, культуры, образования. — 2012. — №1 (32). — С. 252–254.
15. **Dintenfass L.** Hyperviscosity in Hypertension. — Sydney: Pergamon Press, 1981. — 250 p.

Поступила 16.08.12

## Сведения об авторах:

**Шарапова Наталья Владимировна**, аспирант, каф. скорой медицинской помощи ФПК и ППС ГБОУ ВПО ПГМА им. Е.А. Вагнера Минздрава России

**Шмелева Светлана Анатольевна**, канд. мед. наук, доцент, каф. скорой медицинской помощи ФПК и ППС ГБОУ ВПО ПГМА им. Е.А. Вагнера Минздрава России

О.П. Черкасова, В.Г. Селятицкая

## **Кортикостероидные гормоны и ангиотензинпревращающий фермент в динамике хронического гранулематозного воспаления**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр клинической и экспериментальной медицины»  
Сибирского отделения РАМН, 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2

В работе изучали содержание кортикостероидных гормонов в надпочечнике, плазме крови и активность  $11\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы ( $11\beta$ ГСД) в тканях печени и почек, а также активность ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), в тканях и плазме крови в динамике кремний-индуцированного воспаления. Показано, что хроническое гранулематозное воспаление сопровождается у крыс начальной кратковременной реакцией активации синтеза основного глюкокортикоидного гормона кортикостерона с последующим специфическим ингибированием как синтеза этого гормона, так и активности  $11\beta$ ГСД в надпочечнике. Воспаление вызывает менее выраженные изменения функционального состояния ренин-ангиотензиновой системы (РАС), проявляющиеся в ингибировании активности АПФ в плазме крови, печени и почках в начальный период воспаления. Факторный анализ выявил нарушение межсистемных отношений гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы и РАС при воспалении, что, вероятно, связано с модулирующим влиянием продукции цитокинов на обе системы.

**Ключевые слова:** кортикостероидные гормоны,  $11\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа, ангиотензинпревращающий фермент,  $\text{SiO}_2$ -индуцированное воспаление

O.P. Cherkasova, V.G. Selyatitskaya

## **Corticosteroid hormones and angiotensin-converting enzyme in the dynamics of chronic granulomatous inflammation**

Scientific Centre of Clinical and Experimental Medicine, Siberian Branch of RAMS, 2, Ac. Timakov str., Novosibirsk, 630117, Russia

It was studied the contents of corticosteroid hormones in the adrenal gland, plasma and  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity ( $11\beta$ HSD) in the liver and kidneys, as well as the activity of angiotensin-converting enzyme (ACE) in blood plasma, lung, renal cortex and liver of male rats in the dynamics of  $\text{SiO}_2$ -induced inflammation. The study showed that chronic granulomatous inflammation in rats was accompanied by an initial short-term reaction to the activation of synthesis of the main glucocorticoid hormone, followed by specific inhibition of synthesis of this hormone as well as  $11\beta$ HSD activity in the adrenal gland. Inflammation caused less pronounced changes in the functional state of the renin-angiotensin system, however, inhibition of ACE activity observed in plasma, liver and kidneys during the initial period of inflammation. Factor analysis revealed a violation of intersystem relations of hypothalamic-pituitary-adrenocortical and renin-angiotensin systems in inflammation due, probably, to the modulating influence of cytokines.

**Key words:** corticosteroid hormones,  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase, angiotensin-converting enzyme,  $\text{SiO}_2$ -induced inflammation

Гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальная (ГТАКС) и ренин-ангиотензиновая система (РАС) — две важнейшие системы, участвующие в регуляции процессов метаболизма в организме человека и животных и находящиеся между собой в определенной взаимосвязи. Известно, что кортикостероидные гормоны регулируют экспрессию генов ангиотензино-

гена [13], ренина [23], ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) [10] и рецепторов ангиотензина [23], а ангиотензин II (АII), основной гормон РАС, оказывает влияние на активность всех звеньев ГТАКС [16]. Гормоны этих двух систем обладают иммуномодулирующим и иммуносупрессивным действием, участвуют в регуляции выраженности воспалительных процессов в организме [1, 4, 20].

Хорошо изученной моделью хронического гранулематозного воспаления является индукция воспалитель-

**Для корреспонденции:** Черкасова Ольга Павловна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. эндокринологии ФГБУ «НЦКЭМ» СО РАМН. E-mail: cherk\_63@mail.ru

ного процесса путем внутривенной или подкожной инъекции частиц диоксида кремния ( $\text{SiO}_2$ ) [8]. Кристаллические частицы индуцируют образование реактивных форм кислорода [15], приводят к активации клеток иммунной системы [17], которые увеличивают продукцию ряда цитокинов и фибриногенных факторов [18, 19]. В результате в печени, ткани легких и ряде других органов образуются фиброзные гранулемы, состоящие преимущественно из макрофагов и фибробластов [8, 9].

Активация макрофагов и синтез ими медиаторов воспаления приводят к перестройке функций эндокринной системы [4]. Так, известно, что кремний-индуцированное воспаление у мышей линии СВА приводит к волнообразному изменению содержания кортизола и прогестерона в надпочечнике и кортизола и тестостерона в плазме крови в динамике патологического процесса [2]. Гранулематозное воспаление, индуцированное диоксидом кремния, моделирует развитие силикоза, профессионального заболевания, которому подвержены работники целого ряда отраслей промышленности. Известно, что при силикозе активность АПФ в плазме крови повышается [11, 21]. Было показано [12], что при обработке крыс внутри-трахеально диоксидом кремния на 30-е сут. увеличивается активность АПФ в сыворотке крови и наблюдается развитие фиброза в ткани легких. При этом гранулемы обнаружены и в печени. Однако активность АПФ в тканях легких и печени в динамике развития воспаления исследована не была.

Таким образом, компоненты ГТАКС и РАС в динамике кремний-индуцированного гранулематозного воспаления не исследованы в полном объеме. Нам также не удалось найти сведений по анализу их кооперативного взаимодействия на уровне целостного организма при этом патологическом процессе.

*Цель исследования* — изучение функционального состояния и анализ взаимосвязей между показателями периферического звена ГТАКС, включающего синтез, секрецию и метаболизм кортикостероидных гормонов, и активностью АПФ у крыс в динамике развития хронического гранулематозного воспаления.

### Методика

Эксперименты были проведены на 57 половозрелых крысах-самцах Вистар массой 250—300 г. При работе с животными соблюдали принципы гуманности, изложенные в Хельсинкской декларации. Воспаление вызывали согласно ранее разработанному способу [8] путем однократного введения в хвостовую вену суспензии монокристаллов диоксида кремния (S-563, 100 мг/кг массы тела, размер частиц 1—5 мкм) в 0,8 мл изотонического раствора. В контрольной группе животным однократно вводили аналогичный объем физиологического раствора. Животных

выводили из эксперимента через 1, 3, 14 и 22 суток после инъекции индуктора воспаления.

Содержание прогестерона в гомогенатах надпочечников (НП) определяли иммуноферментным методом с использованием наборов Стероид ИФА-прогестерон (ЗАО «Алкор БИО»). Содержание кортикостероидных гормонов в гомогенатах надпочечниках и плазме крови крыс [5], активность АПФ плазмы крови и тканей [6], а также активность  $11\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы ( $11\beta$ ГДСД) в гомогенатах почек и печени [7] определяли разработанными нами методами с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 (Statsoft, США). Результаты оценивали при помощи критерия Краскелла—Уоллиса для множественного сравнения,  $t$  критерия Стьюдента (в случае соответствия данных нормальному закону распределения) и непараметрического критерия Манна—Уитни для парного сравнения, корреляционного и факторного анализов. Нулевую гипотезу признавали справедливой при 5%-ном уровне значимости. Результаты представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  — выборочное среднее,  $m$  — стандартная ошибка.

### Результаты и обсуждение

В 1-е сутки после введения диоксида кремния наблюдали статистически значимое падение содержания в НП прогестерона (П) — предшественника в биосинтезе кортикостерона (КС). Затем отмечено повышение его содержания и к 14-м сут. уровень П в 7,6 раза превосходил величину этого показателя в НП контрольных крыс, снижаясь до контрольного уровня к концу эксперимента (табл. 1). Динамика изменения содержания КС и его метаболита 11-дегидрокортикостерона (ДГКС) была противоположной. В 1-е сут. воспаления в НП повышалось содержание КС и ДГКС в 2 раза относительно контрольного уровня. Затем содержание КС в НП начинало снижаться и на 14-м сут. эксперимента становилось ниже, чем у контрольных крыс, в 3,8 раза. Ранее нами было показано, что у мышей при хроническом гранулематозном воспалении, вызванном введением *Candida Albicans*, также развивается гипокортицизм [3]. Содержание ДГКС также начинало снижаться и к 22 сут. становилось ниже, чем у контрольных крыс, в 2 раза. Содержание 11-дезоксикортикостерона (ДОК) оставалось в пределах контрольных значений на всех этапах эксперимента, а содержание альдостерона (А) изменялось только на 14-е сутки эксперимента — оно становилось ниже, чем у контрольных крыс, в 2 раза.

Активность ферментов стероидогенеза в надпочечниках определяли по отношению концентраций продукта реакции к его предшественнику. Так, активность 21-гидроксилазы (21ГС) оценивали по отношению содержания ДОК и П, 11 $\beta$ -гидроксилазы (11ГС) — по отношению содержания КС и ДОК, активность альдостерон-синтазы (АС) — по отношению содержания А и ДОК, активность 11 $\beta$ -ГСД — по отношению содержания КС и ДГКС. Наименьшего значения активность всех изученных ферментов достигала на 14-е сут. после индукции воспаления. Однако уже и на третьи сутки воспаления активность ферментов, непосредственно участвующих в реакциях синтеза и метаболизма КС (11ГС и 11 $\beta$ -ГСД) была снижена. Последний этап эксперимента характеризовался восстановлением активности ферментов до соответствующих величин у контрольных крыс. Исключение составила 11 $\beta$ -ГСД, активность которой стала статистически значимо выше (табл. 1). Этот ключевой фермент пререпторного метаболизма глюкокортикоидных гормонов катализирует взаимопревращения кортизола и кортизона в организме человека, а КС и ДГКС — в организме крыс [7]. Физиологическая роль этого фермента состоит в поддержании высоких концентраций активно-глюкокортикоида в тканях-мишенях [22]. Следо-

вательно, на 14-е сут. воспаления снижение содержания в НП КС было обусловлено суммарным эффектом угнетения его синтеза и уменьшения активности превращения ДГКС в активный гормон КС; на 22-е сут. картина была противоположная.

Динамика содержания КС в плазме крови была аналогична таковой в НП: повышение величины показателя в крови в два раза относительно уровня у контрольных крыс в 1-е сут. эксперимента, затем падение на третьи и 14-е сутки и восстановление до контрольных величин в конце эксперимента. Содержание ДГКС показывало иную динамику: в первые сутки оно не повышалось, а увеличение показателя более чем в 2 раза отмечено только на третьи сутки эксперимента, когда наблюдалась наиболее низкая концентрация кортикостерона в крови (табл. 1). Содержание КС и ДГКС в крови является векторной величиной, на которую влияет активность фермента 11 $\beta$ ГСД в печени и почках. Основной функцией 11 $\beta$ ГСД в печени является превращение ДГКС в КС, а в почках — наоборот, инактивация кортикостерона и повышение концентрации ДГКС в крови [14]. Наибольшие изменения в активности ферментов наблюдались на 14-е сут. эксперимента, когда активность 11 $\beta$ ГСД почек тормозилась, а в печени активизировалась, что суммарно было направлено на под-

Таблица 1

Содержание кортикостероидных гормонов в надпочечнике (мг/г ткани) и плазме крови (нг/мл); активность ферментов стероидогенеза в надпочечнике (относ. Ед.) и 11 $\beta$ ГСД — в печени и почке (нмоль/мин  $\times$  г ткани) крыс в динамике хронического воспаления (M $\pm$ m)

Показатель		Контрольная группа (n=22)	Сутки после введения диоксида кремния:			
			1 (n=6)	3 (n=10)	14 (n=10)	22 (n=9)
Гормоны в НП	П	0,41 $\pm$ 0,09	0,19 $\pm$ 0,02 *	0,25 $\pm$ 0,11	1,06 $\pm$ 0,32 #	0,34 $\pm$ 0,14
	КС	5,2 $\pm$ 1,2	12,4 $\pm$ 3,2 *	2,5 $\pm$ 1,0 * #	1,4 $\pm$ 0,5 * #	4,7 $\pm$ 1,8
	ДГКС	1,86 $\pm$ 0,31	4,20 $\pm$ 0,58 *	2,19 $\pm$ 0,67	1,84 $\pm$ 0,34 #	1,00 $\pm$ 0,28 * # + \$
	ДОК	0,75 $\pm$ 0,15	0,94 $\pm$ 0,23	0,71 $\pm$ 0,26	0,79 $\pm$ 0,17	0,56 $\pm$ 0,30
	А	0,51 $\pm$ 0,11	0,69 $\pm$ 0,24	0,56 $\pm$ 0,17	0,24 $\pm$ 0,07 * #	0,54 $\pm$ 0,17
Ферменты в НП	21ГС	4,3 $\pm$ 1,5	5,1 $\pm$ 1,4	8,5 $\pm$ 4,9	1,3 $\pm$ 0,7 # +	5,3 $\pm$ 3,3
	11ГС	13,4 $\pm$ 6,3	14,9 $\pm$ 3,7	4,0 $\pm$ 1,3 # $\alpha$	2,0 $\pm$ 0,5 * #	20,5 $\pm$ 7,4
	АС	0,8 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,5	3,4 $\pm$ 2,0	0,5 $\pm$ 0,2	2,2 $\pm$ 0,8
	11 $\beta$ ГСД	2,5 $\pm$ 0,5	3,0 $\pm$ 0,9	0,9 $\pm$ 0,2 * #	0,6 $\pm$ 0,1 * #	5,8 $\pm$ 1,9 * # + \$
Гормоны в крови	КС	56,1 $\pm$ 8,4	117,0 $\pm$ 31,5 *	35,8 $\pm$ 12,2 #	48,0 $\pm$ 17,5	73,7 $\pm$ 16,4 +
	ДГКС	8,8 $\pm$ 1,4	9,8 $\pm$ 4,6	20,6 $\pm$ 6,0 *	9,4 $\pm$ 3,2 +	10,6 $\pm$ 4,4
	КС/ДГКС	,6 $\pm$ 0,7	15,5 $\pm$ 6,0 *	2,9 $\pm$ 1,1 #	9,5 $\pm$ 4,8	9,8 $\pm$ 3,2 *
Ферменты в тканях	11 $\beta$ ГСД в печени	241 $\pm$ 13	—	237 $\pm$ 34	293 $\pm$ 31 * +	247 $\pm$ 22
	11 $\beta$ ГСД в почках	8,6 $\pm$ 1,1	—	10,6 $\pm$ 1,5	6,6 $\pm$ 0,9	10,8 $\pm$ 0,4

Примечание. Статистическая значимость различий величин при парных сравнениях: \* —  $p < 0,05$  по сравнению с контрольными животными; # —  $p < 0,05$  по сравнению с животными в первые сутки воспаления; + —  $p < 0,01$  по сравнению с животными на 3 сутки воспаления; \$ —  $p < 0,01$  по сравнению с животными на 14-е сутки воспаления. В скобках указано количество животных (n). Сокращения: НП — надпочечник; П — прогестерон; КС — кортикостерон; ДГКС — 11-дегидрокортикостерон; ДОК — 11-дезоксикортикостерон; А — альдостерон; 21ГС — 21-гидроксилаза; 11ГС — 11-гидроксилаза; АС — альдостерон-синтаза; 11 $\beta$ ГСД — 11 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа

держание физиологической концентрации КС в крови.

Введение диоксида кремния привело к статистически значимому уменьшению активности АПФ в плазме крови крыс относительно величины соответствующего показателя у контрольных животных уже в первые сутки (табл. 2). После слабого подъема активности АПФ на третьи сутки, на 14-е и 22-е сут. после индукции воспаления активность фермента вновь снижалась. Так как в работе исследовали активность АПФ на ранних сроках развития воспаления, повышенной активности в плазме крови не отмечено. По данным литературы, высокая активность АПФ в плазме крови наблюдается на более поздних сроках экспериментального силикоза [12], а также у пациентов с установленным диагнозом и отражает активность гранулематозного процесса в легких [11].

Основные события (табл. 2) при гранулематозном воспалении, индуцированном внутривенным введением суспензии микрокристаллов диоксида кремния, развер-

тываются в печени и легких, поскольку именно в этих тканях наиболее высоко содержание резидентных макрофагов [9]. Активность АПФ в ткани легкого не отличалась от величины соответствующего показателя у контрольных животных на всех сроках эксперимента. В ткани печени через 1 сут. после введения диоксида кремния наблюдали статистически значимое падение активности АПФ относительно величины соответствующего показателя у контрольных животных. Известно, что в первые часы после стимуляции макрофаги начинают секретировать интерлейкин 1 (ИЛ-1), под действием которого гепатоциты увеличивают синтез белков острой фазы, одновременно уменьшая синтез альбуминов [4]. Можно предположить, что в этот период также снижен синтез ангиотензиногена, что влечет за собой падение активности АПФ. На последующих этапах эксперимента активность АПФ не отличалась от величины этого показателя у контрольных животных. Активность АПФ в почках крыс статистически значимо снижалась на третьи сутки эксперимента, оставаясь на следующих

Таблица 2

**Активность ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) в плазме крови (нмоль/мл мин) и тканях (мкмоль/мин г ткани) крыс в динамике хронического воспаления (M±m)**

Активность АПФ	Контрольная группа (n=19)	Сутки после введения диоксида кремния:			
		1 (n=6)	3 (n=10)	14 (n=10)	22 (n=10)
В плазме крови	90,6±6,4	72,9±9,6 *	86,8±13,1	69,8±7,3 *	73,0±6,7 *
В ткани легкого	7,3±0,3	7,7±1,4	6,6±0,6	8,2±1,0	7,6±0,9
В ткани почки	0,28±0,03	0,24±0,10	0,20±0,03 *	0,20±0,07	0,30±0,06
В ткани печени	0,100±0,010	0,048±0,005 *	0,086±0,021	0,077±0,015	0,067±0,015

Примечание. Статистическая значимость различий при парных сравнениях: \* — p<0,05 относительно животных контрольной группы. В скобках указано количество животных

Таблица 3

**Факторный анализ кооперативного взаимодействия компонентов периферических звеньев гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной (ГГАКС) и ренин-ангиотензиновой систем (РАС) при хроническом индуцированном диоксидом кремния воспалении**

Фактор	Контрольные животные		Животные с кремний-индуцированным гранулематозным воспалением	
	Компоненты	Физиологические процессы	Компоненты	Физиологические процессы
1	11βГСД НП (0,96) КС НП (0,87) 11ГС (0,83) КС плазмы (0,53)	Синтез и секреция основного глюкокортикоидного гормона	А НП (0,83) ДГКС НП (0,78) КС НП (0,72) Док НП (0,61)	Синтез гормонов коры НП
2	ДОК НП (0,84) ДГКС НП (0,84) А НП (0,67) АПФ легкого (0,60) АПФ печени (-0,54)	Синтез минералокортикоидных гормонов в НП и их взаимоотношения с РАС в легких и печени	11ГС (0,89) 11βГСД НП (0,88)	Регуляция синтеза КС
3	АПФ плазмы (0,86) АПФ почки (0,75) АПФ легкого (-0,60)	Циркулирующая и тканевая РАС	11βГСД плазмы (0,92) КС плазмы (0,86)	Поддержание уровня КС в циркуляции и его метаболическое действие
4	КС пл (0,71)	Метаболическая эффективность КС	АПФ плазмы (0,65) АПФ печени (0,58)	Физиологические эффекты РАС

Примечание. Сокращения — см. табл. 1; АПФ — ангиотензинпревращающий фермент

этапах эксперимента на уровне, соответствующем такому у контрольных животных.

С целью анализа кооперативного взаимодействия компонентов периферического звена ГГКС и РАС при хроническом индуцированном диоксидом кремния воспалении был проведен факторный анализ (табл. 3). Методом главных компонент в группе контрольных животных было выделено четыре фактора (Ф1—Ф4). Собственные значения дисперсии для них составили 27,9 (Ф1), 22,8 (Ф2), 11,7 (Ф3) и 10,2% (Ф4) от общей дисперсии. При анализе отдельных факторов принимали во внимание лишь те показатели, которые имели факторную нагрузку более 0,5. В Ф1 вошли параметры синтеза и секреции КС; Ф2 явился объединяющим для исследованных гормональных систем, причем со стороны ГГКС сюда вошли гормоны, обладающие минералокортикоидным действием; в Ф3 вошли параметры РАС; Ф4 включил параметр метаболической эффективности КС.

В объединенной группе животных с воспалением также были выделены 4 фактора, собственные значения дисперсии для которых составили 21,7 (Ф1), 17,9 (Ф2), 12,5 (Ф3) и 8,3% (Ф4) от общей дисперсии. Обращает на себя внимание то, что в условиях хронического воспаления уменьшается количество признаков в факторе. В Ф1 с наибольшей факторной нагрузкой вошли параметры синтеза кортикостероидов; в Ф2 — параметры регуляции синтеза КС; в Ф3 — параметры уровня КС в циркуляции; в Ф4 — именно те параметры РАС, в которых отмечены наибольшие изменения. Следовательно, при воспалении изменилась структура факторов, а компоненты РАС представлены только в Ф4 с низким значением дисперсии.

Таким образом, хроническое гранулематозное воспаление сопровождается у крыс начальной кратковременной реакцией активации синтеза КС с последующим специфическим ингибированием как его синтеза, так и превращения ДГКС в КС. Это ингибирование обусловлено тем, что формирование полноценного ответа со стороны иммунной системы и системы мононуклеарных фагоцитов на введение индуктора воспаления возможно только в условиях пониженной глюкокортикоидной функции коры НП, поскольку глюкокортикоидные гормоны обладают выраженным иммуносупрессивным действием [1]. Какова же причина снижения синтеза глюкокортикоидных гормонов в НП и их содержания в крови при гранулематозном воспалении? Можно предположить, что небiodeградебельные микрочастицы диоксида кремния поглощаются в печени резидентными макрофагами, которые начинают синтезировать цитокины, вовлекающие в реакцию воспаления не только иммунокомпетентные клетки рыхлой соединительной ткани, но и нейросек-

реторные ядра гипоталамуса мозга [4], а, следовательно, и периферические эндокринные железы. В частности, описываемые события касаются НП, в которых при воспалении специфически снижается синтез КС.

Воспаление вызывает менее выраженные изменения функционального состояния РАС, о чем можно судить по динамике активности АПФ в крови и тканях. Однако и в случае РАС отмечено ингибирование активности АПФ в плазме крови, печени и почках в начальный период воспаления. Следует отметить, что при воспалении, индуцированном диоксидом кремния, нарушается взаимосвязь компонентов РАС и ГГКС. Можно предположить, что медиаторы воспаления, оказывая влияние на ГГКС, ингибируя синтез гормонов в надпочечнике и нарушая активность 11 $\beta$ ГСД в тканях, вызывают эффект ускользания РАС от влияния ГГКС, что влечет за собой дизрегуляцию и отягощение патологического процесса.

### Список литературы

1. Ланин Д.В., Зайцева Н.В., Долгих О.В. Молекулярные основы действия и иммуномодулирующие эффекты глюкокортикоидных гормонов // Иммунология. — 2010. — №6. — С. 334—337.
2. Пальчикова Н.А., Кузьминова О.И., Уткина Н.В. и др. Содержание стероидных гормонов в крови и надпочечниках мышей в динамике БПЖ и SiO<sub>2</sub>-индуцированного гранулематозного воспаления // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2008. — Прил. №1. — С. 20—22.
3. Селятицкая В.Г., Пальчикова Н.А., Шкуруний В.А. Функциональное состояние коры надпочечников у мышей оппозитных линий в динамике кандидоза // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2005. — Т. 140, №9. — С. 179—281.
4. Титов В.Н. Роль макрофагов в становлении воспаления, действие интерлейкина-1, интерлейкина-6 и активность гипоталамо-гипофизарной системы // Клини. лаб. диагн. — 2003. — №12. — С. 3—10.
5. Черкасова О.П., Федоров В.И. Одновременное исследование содержания кортикостерона и 11-дегидрокортикостерона в надпочечниках и плазме крови при остром стрессе // Пробл. эндокринологии. — 2001. — Т. 47, №1. — С. 37—39.
6. Черкасова О.П., Федоров В.И., Маркель А.Л. Активность ангиотензинпревращающего фермента при наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензии // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2005. — Т. 140, №10. — С. 381—383.
7. Черкасова О.П. Активность 11 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы печени и почек крыс при наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензии // Биомед. химия. — 2006. — Т. 52, №6. — С. 568—575.
8. Шварц Я.Ш., Зубахин А.А., Устинов А.С. и др. Формирование SiO<sub>2</sub>-индуцированных гранул у мышей разных линий // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2000. — Т. 129, №1. — С. 20—24.

9. Шкурупий В.А., Курунов Ю.Н., Яковченко Н.Н. Лизосомотропизм — проблемы клеточной физиологии и медицины. — Новосибирск, 1999. — 290 с.
10. Barreto-Chaves M.L., Aneas I., Krieger J.E. Glucocorticoid regulation of angiotensin-converting enzyme in primary culture of adult cardiac fibroblasts // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* — 2001. — Vol. 280, №1. — P. R25—R32.
11. Brice E.A.W., Friedlander W., BATERMAN E.D., Kirsch R.E. Serum angiotensin-converting enzyme activity, concentration, and specific activity in granulomatous interstitial lung disease, tuberculosis, and CORD // *CHEST.* — 1995. — Vol. 107. — P. 706—710.
12. Brown R.S., Munday D. E., Sawicka V.M., Wagner J.C. Angiotensin converting enzyme in the serum of rats with experimental silicosis // *Br. J. Path.* — 1983. — Vol. 64. — P. 286—292.
13. Corvol P., Jeunemaitre X. Molecular genetics of human hypertension: role of angiotensinogen // *Endocrine Reviews.* — 1997. — Vol. 18, №5. — P. 662—677.
14. Ferrari P., Sansonnens A., Dick B., Frey F.J. In Vivo 11-HSD-2 Activity: Variability, Salt-Sensitivity, and Effect of Licorice // *Hypertension.* — 2001. — Vol. 38. — P. 1330—1336.
15. Gulumian M., Borm P.J.A., Vallyathan V. et al. Mechanistically identified suitable biomarkers of exposure, effect, and susceptibility for silicosis and coal-worker's pneumoconiosis: a comprehensive review // *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B.* — 2006. — Vol. 9. — P. 357—395.
16. Muller H., Kroger J., Jöhren O. et al. Stress sensitivity is increased in transgenic rats with low brain angiotensinogen // *Journal of Endocrinology.* — 2010. — Vol. 204. — P. 85—92.
17. Pernis B. Silica and the Immune System // *Acta Biomed.* — 2005. — Suppl. 2. — P. 38—44.
18. Rao K.M.K., Porter D.W., Meighan T., Castranova V. The Sources of Inflammatory Mediators in the Lung after Silica Exposure // *Environ. Health. Perspect.* — 2004. — Vol. 112. — P. 1679—1685.
19. Sayes C.M., Reed K.L., Warheit D.B. Assessing toxicity of fine and nanoparticles: comparing *in vitro* measurements to *in vivo* pulmonary toxicity profiles // *Toxicol. Sci.* — 2007. — Vol. 97, №1. — P. 163—180.
20. Suzuki Y., Ruiz-Ortega M., Lorenzo O. et al. Inflammation and angiotensin II // *Int. J. Biochem. & Cell Biology.* — 2003. — Vol. 35. — P. 881—900.
21. Tiwari R.R., Karnik A.B., Sharma Y.K. Silica Exposure and Serum Angiotensin Converting Enzyme Activity // *The International Journal of Occupational and Environmental Medicine.* — 2010. — Vol. 1, №1. — P. 21—28.
22. Walker B.R. Extra-adrenal regeneration of glucocorticoids by 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: physiological regulator and pharmacological target for energy partitioning // *Proc. Nutr. Soc.* — 2007. — Vol. 66, №1. — P. 1—8.
23. Whorwood C.B., Firth K. M., Budge H., Symonds M.E. Maternal Undernutrition during Early to Mid-gestation Programs Tissue-Specific Alterations in the Expression of the Glucocorticoid Receptor, 11β-Hydroxysteroid Dehydrogenase Isoforms, and Type 1 Angiotensin II Receptor in Neonatal Sheep // *Endocrinology.* — 2001. — Vol. 142, №7. — P. 2854—2864.

Поступила 10.02.12

#### Сведения об авторах:

Селяницкая Вера Георгиевна, д-р биол. наук, проф., зав. лаб. эндокринологии, зам. дир. по научной работе ФГБУ «НЦКЭМ» СО РАМН

М.А. Лебедева, Н.В. Саноцкая, Д.Д. Мациевский

## **Реакция дыхательной и сердечно-сосудистой систем на гипоксию в условиях активации и блокады тормозных синаптических процессов**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

*На наркотизированных белых крысах-самцах изучали изменения дыхательного ритма при введении неселективного блокатора ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов и при введении блокатора аденозиновых рецепторов на фоне активации ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов. В этих же условиях определяли устойчивость дыхательной и сердечно-сосудистой систем к острой тяжелой гипоксии. Интрацистернальная микроинъекция пикротоксина приводила к развитию патологического периодического дыхания. Системное введение пикротоксина повышало устойчивость организма к гипоксии. При блокаде аденозиновых рецепторов эуфиллином (аминофиллином) выраженность дыхательной реакции на гипоксию ослабевала. Эффект эуфиллина, введенного на фоне нарушений дыхательного ритма, вызванных оксибутиратом, выразился в восстановлении регулярного дыхания у животных с незначительным снижением артериального давления.*

**Ключевые слова:** дыхание, хеморецепция, устойчивость к острой гипоксии, пикротоксин, эуфиллин, ультразвук

N.V. Sanotskaya, D.D. Matsievskii, M.A. Lebedeva

## **Respiratory and cardiovascular responses to hypoxia under activation or blockade inhibitory transmission**

The Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

*Respiratory rhythm changes and hypoxic ventilatory responses were studied in anesthetized albino rats after administration GABA and adenosine receptor antagonists. Intracisternal microinjection of picrotoxin induced pathological periodic breathing. Picrotoxin intravenous administration caused the increase of individual resistance to acute hypoxia. Aminophylline administration exerted the opposite effect. After pretreatment of hydroxybutyrate we observed different types of respiratory reactions to adenosine antagonist injection, which probably depended on the value of arterial blood pressure and cerebral hemodynamics.*

**Key words:** respiration, chemosensitivity, resistance to acute hypoxia, picrotoxin, aminophylline, ultrasound

В механизмах дыхательного ритмогенеза и его хеморецепторной регуляции принимают участие различные нейромедиаторные системы. Эндогенные возбуждающие и тормозные аминокислоты, действуя через специфические рецепторы, обеспечивают быстрые синаптические взаимодействия между функционально различными группами дыхательных нейронов на уровне продолговатого мозга [2]. В реализацию ответа дыхательной системы на возбуждение центральных и периферических хеморецепторов вовлекаются глутаматергическая, ГАМКергическая, серотонинергическая, пуринергическая и другие системы [4, 13]. Реакция дыхательной системы на острую гипоксию характеризуется выражен-

ной двухфазностью, первоначальное усиление вентиляции связывают с активацией глутаматных рецепторов [10, 11]. Смещение медиаторного баланса в дорзальных структурах продолговатого мозга в сторону торможения под влиянием импульсации от хеморецепторов приводит к снижению параметров вентиляции [13]. Вторая фаза дыхательной реакции на гипоксию, а именно угнетение дыхания вплоть до необратимого апноэ, очевидно, обусловлена высвобождением таких тормозных нейромедиаторов, как ГАМК и аденозин [7, 9, 14]. Аденозин принимает участие в дыхательном ответе при жесткой гипоксии [6]. В литературе обсуждается модуляторная облегчающая роль АТФ, высвобождающейся на вентральной медулярной поверхности во вторую фазу вентиляторного гипоксического ответа, и действующая через метаболитные пуриновые рецепторы [13, 15]. Существует тесная взаимозависимость в действии ГАМК

**Для корреспонденции:** Лебедева Марина Андреевна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. полисистемных исследований, ФГБУ НИИОПП РАМН. E-mail: ma\_lebedeva@mail.ru



и аденозина на различные звенья регуляции дыхания. Доказано, что депрессия дыхания, возникающая при активации  $A_2a$  рецепторов, опосредуется через ГАМК<sub>A</sub>-ергические входы на ритмогенерирующие структуры дыхательного центра [9].

*Цель исследования* — изучение изменений дыхательного ритма при системном и центральном введении неселективного блокатора ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов пикротоксина, системном введении блокатора аденозиновых рецепторов эуфиллина (аминофиллина) на фоне активации ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов, а также определение в этих условиях устойчивости дыхательной и сердечно-сосудистой систем к острой тяжелой гипоксии.

### Методика

Эксперименты выполнены на 42 наркотизированных нембуталом (40 мг/кг внутривенно) беспородных белых крысах-самцах массой 350—400 г. В ходе эксперимента у животных регистрировали ЧСС с помощью кардиотахометра, запускаемого от пульсовой волны кровотока в аорте. Артериальное давление (АД) определяли микроманометром в бедренной артерии. Регистрировали электромиограмму диафрагмальной мышцы или дыхательные движения грудной клетки с помощью тензометрического датчика. Скорость кровотока в восходящей части дуги аорты измеряли миниатюрным ультразвуковым датчиком, введенным через правую сонную артерию (на частоте 27 МГц) [1]. Данные о скорости кровотока в восходящей аорте и АД вводили в аналого-вычислительное устройство для определения общего периферического сопротивления сосудов, динамики ударного и минутного объема сердца (сердечный выброс). Основные показатели дыхания, такие как минутный объем дыхания (МОД), частоту и глубину дыхания (ЧД и ДО соответственно) регистрировали с помощью блока для измерения параметров дыхания на полиграфе МХ-01 (Россия) в условиях ВТРС. Температуру тела поддерживали в интервале 37,0—38,0°C.

Индивидуальную устойчивость животных к гипоксии определяли при вдыхании газовой смеси, содержащей 3%  $O_2$  в  $N_2$ , по времени от начала вдыхания до наступления апноэ (время жизни). Затем подачу газовой смеси прекращали и 1,0—1,5 мин ждали восстановления дыхания. Если оно не возобновлялось спонтанно, подключали аппарат ИВЛ, который отключали при появлении первых самостоятельных вдохов. Животные, у которых время до наступления апноэ составляло 1—4 мин, составили группу низкоустойчивых к гипоксии животных (НУ), 9 мин и более — группу высокоустойчивых (ВУ), 5—8 мин — группу среднеустойчивых (СУ) к гипоксии животных. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistika 6.0. В за-

висимости от типа распределения достоверность различий между группами определяли с использованием критериев Манна—Уитни, Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Изучали характер изменений дыхательного ритма после системного и внутривенного введения пикротоксина. Системное введение субсудорожной дозы пикротоксина (0,5—1 мг/кг) в некоторых опытах вызывало учащение и увеличение амплитуды дыхательных движений без изменения АД, сердечного выброса и общего периферического сопротивления сосудов. В остальных случаях изменения дыхания и гемодинамики отсутствовали. Центральная интрацистернальная микроинъекция 1 мкл раствора пикротоксина (4 мг/мл) приводила к нарушениям дыхательного ритма в форме циклического изменения частоты дыхания, нерегулярности дыхательных движений, а иногда к появлению периодического (пачкообразного) ритма дыхания. (рис. 1А,Б), что можно объяснить смещением медиаторного баланса в сторону возбуждения в дыхательных ритмообразующих структурах. В литературе имеются также сведения об особой роли субъединицы ГАМК-рецептора чувствительной именно к пикротоксину в поддержании нормального дыхательного ритмогенеза [5].

Устойчивость животных к гипоксии тестировали при вдыхании газовой смеси, содержащей 3%  $O_2$  в  $N_2$ , и определяли по времени от начала вдыхания до наступления апноэ. После восстановления дыхания вводили пикротоксин и через 20 мин повторяли тестирование газовой смесью. Если к моменту введения

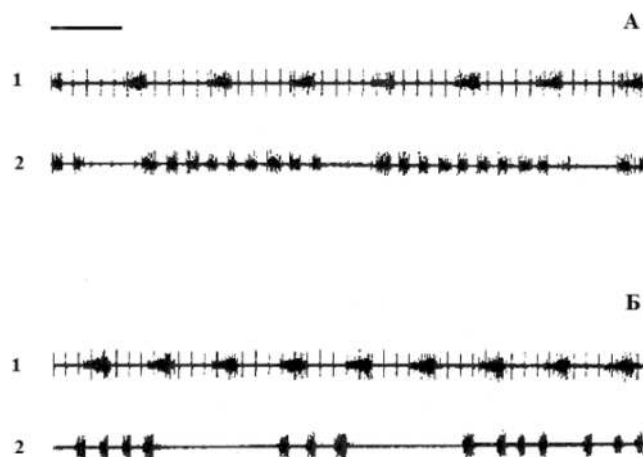


Рис. 1. Изменения дыхательного ритма после интрацистернальной микроинъекции пикротоксина в область IV желудочка. Электромиограмма диафрагмальной мышцы: 1 — до микроинъекции; 2 — после микроинъекции. А, Б — различные опыты. Отметка времени 1 с

пикротоксина регистрировалось низкое АД и угнетение дыхания, введение препарата вызывало повышение АД и нормализацию дыхательного ритма.

Ответная реакция дыхательной системы при переводе животного на дыхание гипоксической газовой смесью после введения пикротоксина сохраняла двухфазный характер и была более выраженной, чем в контрольных условиях. Наблюдалось значительное увеличение амплитуды и частоты дыхательных движений. Фаза депрессии вентиляторного ответа и последующее апноэ наступало позже, чем в контрольных условиях (рис. 2А), у всех групп животных с различной устойчивостью к гипоксии. Изменения гемодинамических показателей были более плавными на фоне действия блокатора ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов. Стимулирующий дыхание эффект пикротоксина — неселективного блокатора ГАМК<sub>A</sub>-ергического синаптического торможения, в форме улучшения вентиляции обнаруживался также после отравлений опиатами и барбитуратами. Эффекты пикротоксина можно объяснить подавлением влияния ГАМК, которая накапливается в мозге при кислородной недостаточности и, действуя на ионотропные рецепторы, принимает участие в развитии второй депрессивной фазы дыхательной реакции на гипоксию, что подтверждается сходными результатами с внутримозговым применением другого блокатора ГАМК биккукулина [12].

В следующей серии исследовали характер изменений дыхательного ритма после системного применения эуфиллина (20 мг/кг). Показано, что внутривенное введение эуфиллина контрольным животным не вызывало значимых изменений характера дыхания. Наблюдалось снижение АД на 40—50 мм рт. ст. и уменьшение общего периферического сопротивления сосудов, которые восстанавливались в течение 10—15 мин. На фоне воздействия эуфиллина характер реакции на гипоксию не изменялся. Однако время жизни при тяжелой гипоксии сокращалось, особенно это было выражено у низкоустойчивых к гипоксии животных (рис. 2Б).

Далее изучали влияние эуфиллина на дыхание на фоне предварительной активации ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов оксибутиратом лития (750 мг/кг в/в). Внутривенное введение оксибутирата лития приводило к изменению дыхательных и гемодинамических параметров, максимальному к 20—30 мин. Снижение АД (от  $111,54 \pm 3,22$  до  $87,78 \pm 11,06$  мм рт.ст.,  $p < 0,05$ ) компенсировалось ростом ЧСС (от  $397,08 \pm 9,23$  до  $437,88 \pm 16,18$  уд./мин,  $p < 0,05$ ). Падение частоты дыхания (до  $29,6 \pm 5,18$  против  $64,54 \pm 2,78$  мин<sup>-1</sup>,  $p < 0,001$ ) сопровождалось увеличением ДО (от  $0,3 \pm 0,03$  до  $0,7 \pm 0,12$  мл,  $p < 0,01$ ), что позволяло сохранять неизменный минутный объем вентиляции. У животных с периодическим дыханием, возникшим

после применения оксибутирата лития [3], эуфиллин приводил к восстановлению регулярного ритма (рис. 3А). Однако если патологическая периодика не возникала после активации ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов, эуфиллин провоцировал появление патологического периодического дыхания с задержкой на выдохе (рис. 3Б). Это могло быть связано с влиянием введенных препаратов на системное АД и сопротивление сосудов головного мозга [8, 14].

При тестировании гипоксической газовой смесью на фоне действия оксибутирата реакция системы дыхания становилась более выраженной. Значительно

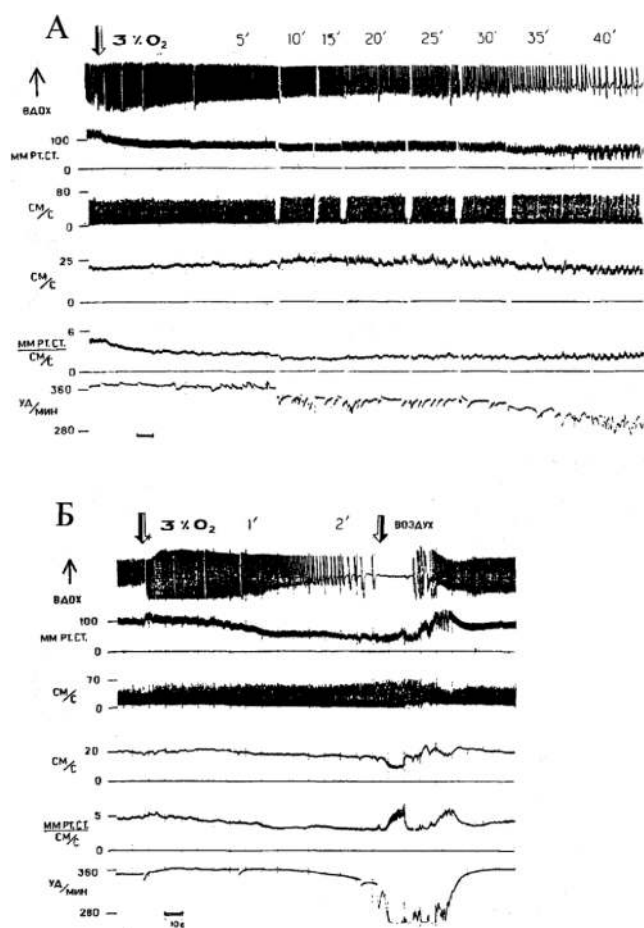


Рис. 2. Показатели гемодинамики и дыхания при вдыхании газовой смеси, содержащей 3% O<sub>2</sub> в N<sub>2</sub>: А — ВУ животного после введения пикротоксина; Б — НУ животного после введения эуфиллина.

На кривых сверху вниз:

1 — дыхательные движения; 2 — артериальное давление; 3 — линейная скорость кровотока в восходящей дуге аорты; 4 — сердечный выброс; 5 — общее периферическое сопротивление; 6 — частота сердечных сокращений.

Линии под каждой из кривых — нулевые уровни.

Стрелки — начало и окончание дыхания газовой смесью.

Цифры в верхней части рисунков — время, прошедшее с начала воздействия, мин.

Масштаб времени 10 с.

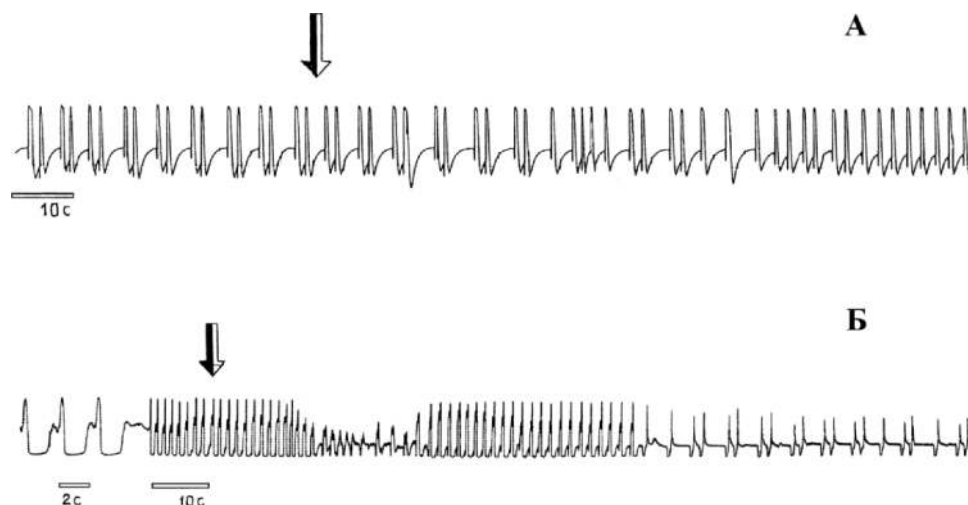


Рис. 3. На фоне периодического дыхания, возникшего через 30 мин после введения оксибутирата лития, эуфиллин восстанавливал ритмичное дыхание (А). Если через 40 мин после введения оксибутирата лития патологический ритм не развивался, эуфиллин вызывал появление периодического дыхания (Б). Стрелка — введение эуфиллина. Масштаб времени 10 с.

возрастала ЧД (с  $35,3 \pm 5,1$  до  $62,2 \pm 2,8$  мин<sup>-1</sup>,  $p < 0,001$ ). МОД значимо изменялся в обоих случаях, но при оксибутирате этот параметр увеличился в 2,3 раза, а в контроле — только в 1,7 раза (рис. 4). Депрессия дыхания во вторую фазу ответа на гипоксию была незначительной, параметры вентиляции, в отличие от контроля, где ЧД опускалась ниже исходной предгипоксической величины (с  $68,7 \pm 2,2$  до  $58,8 \pm 2,5$  мин<sup>-1</sup>,  $p < 0,05$ ), значимо не изменялись. Сердечно-сосудистая система на фоне действия оксибутирата и после введения эуфиллина не реагировала на гипоксию, гемодинамические параметры ЧСС и АД не менялись. Эуфиллин, введенный системно, несколько снижал выраженность ответа дыхательной системы на гипоксию при действии оксибутирата.

Таким образом, центральная микроинъекция блокатора ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов в область IV желудочка приводила к нарушениям дыхательного ритма в форме циклического изменения частоты дыхания. Восстановление нормального ритма дыхания на фоне периодического дыхания, вызванного оксибутиратом лития, происходило после использования эуфиллина у животных с адекватным уровнем АД.

Прирост легочной вентиляции на гипоксию в контрольных условиях обеспечивался в основном за счет увеличения ДО, а после активации ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов оксибутиратом — за счет роста как ЧД, и, соответственно, МОД. Использование блокатора ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов пикротоксина повышало устойчивость организма к острой тяжелой гипоксии. При блокаде аденозиновых рецепторов эуфиллином устойчивость организма к острой тяжелой гипоксии снижалась, выраженность дыхательной реакции на гипоксию ослабевала.



Рис. 4. Прирост параметров легочной вентиляции (% от начального уровня) при дыхании газовой смесью 3% кислорода в азоте в различные фазы реакции дыхательной системы на гипоксию. МОД — минутный объем дыхания; ЧД — частота дыхания; ДО — дыхательный объем

## Список литературы

1. *Мацевский Д.Д.* Измерения кровотока в исследованиях макро- и микроциркуляции // Бюл. exper. биол. и мед. — 2004. — Т. 138, №12. — С. 612—616.
2. *Сафонов В.А., Лебедева М.А.* Автоматия или ритмообразование в дыхательном центре // Физиология человека. — 2003. — Т. 29, №1. — С. 140—153
3. *Тараканов И.А., Тихомирова Л.Н., Лебедева М.А., Тарасова Н.Н., Сафонов В.А.* Нарушения характера дыхания, возникающие под действием ГАМКергических веществ // Патогенез. — 2005. — №3. — С. 52—58.
4. *Budzinska K.* Hypoglossal and phrenic nerve responses to changes in oxygen tension during picrotoxin-induced seizures in the rat // J. Physiol. Pharmacol. — 2004. — Vol. 55. — Suppl. 3. — P. 31—39.
5. *Budzinska K.* Divergent effects of bicuculline and picrotoxin on ketamine-induced apneustic breathing // J. Physiol. Pharmacol. — 2005. — Sep. — 56. — Suppl. 4. — P. 39—46.
6. *Conde S.V., Monteiro E.C., Rigual R., Obeso A., Gonzalez C.* Hypoxic intensity: a determinant for the contribution of ATP and adenosine to the genesis of carotid body chemosensory activity // J. Appl. Physiol. — 2012. — 112(12). — 2002—2010.

7. **Koos B.J., Kawasaki Y., Kim Y.H., Bohorquez F.** Adenosine A2A-receptor blockade abolishes the roll-off respiratory response to hypoxia in awake lambs // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* — 2005. — 288(5). — R1185–94.
8. **Li D.P., Pan H.L.** Role of GABAB receptors in autonomic control of systemic blood pressure // *Adv. Pharmacol.* — 2010. — 58. — P. 257–286.
9. **Mayer C.A., Haxhiu M.A., Martin R.J., Wilson C.G.** Adenosine A2A receptors mediate GABAergic inhibition of respiration in immature rats // *J. Appl. Physiol.* — 2006. — 100(1). — P. 91–97.
10. **Nucci T.B., Dias M.B., Branco L.G., Gargaglioli L.H.** Ionotropic glutamatergic receptors in the rostral medullary raphe modulate hypoxia and hypercapnia-induced hyperpnea // *Respir. Physiol. Neurobiol.* — 2011. — 175(1). — P. 104–111.
11. **Soto-Arape J., Burton M.D., Kazemi H.** Central amino acid neurotransmitters and the hypoxic ventilatory response // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 1995. — Vol. 151, №4. — P. 1113–1120.
12. **Tabata M., Kurosawa H., Kikuchi Y.** et al. Role of GABA within the nucleus tractus solitarius in the hypoxic ventilatory decline of awake rats // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2001. — Vol. 281, №5. — R1411–R1419.
13. **Teppema L.J., Dahan A.** The ventilatory response to hypoxia in mammals: mechanisms, measurement, and analysis // *Physiol. Rev.* — 2010. — 90(2). — P. 675–754.
14. **Walsh M.P., Marshall J.M.** The role of adenosine in the early respiratory and cardiovascular changes evoked by chronic hypoxia in the rat // *J. Physiol.* — 2006. — Vol. 575, №1. — Vol. 277–289.
15. **Zwicker J.D., Rajani V., Hahn L.B., Funk G.D.** Purinergic modulation of preBotzinger complex inspiratory rhythm in rodents: the interaction between ATP and adenosine // *J. Physiol.* — 2011. — 589(Pt 18). — P. 4583–4600.

Поступила 12.02.13

#### Сведения об авторах:

Санюккая Наталья Владимировна, д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. патофизиологии дыхания ФГБУ НИИОПП РАМН;

Мацневский Дмитрий Дмитриевич, канд. тех. наук, зав. биоинженерной лабораторией ФГБУ НИИОПП РАМН.

В.П. Куликов, И.А. Чупикова, Е.М. Санаров, Н.Л. Волобой

## **Увеличение резистентности к гипоксии под влиянием сбора из лекарственных растений Алтая**

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 656038, Алтайский край, Барнаул, пр. Ленина, 40

*В эксперименте на крысах исследовали антигипоксический эффект сбора из лекарственных растений Алтая «Вазофит», содержащий флавоноиды и обладающий антиоксидантными, противовоспалительными, спазмолитическими, ангиопротекторными и антиагрегантными свойствами. Животные получали отвар из трав через желудочный зонд курсами продолжительностью 3, 7, 14 и 21 день. Резистентность к острой гипобарической гипоксии оценивали по времени жизни животных при моделировании подъема на высоту 11500 м над уровнем моря. Значимый антигипоксический эффект наблюдался у крыс, которые принимали отвар в течение 21 дня. Менее продолжительные сроки были не эффективны.*

**Ключевые слова:** резистентность к гипоксии, флавоноиды, фитотерапия

V.P. Kulikov, I.A. Chupikova, E.M. Sanarov, N.L. Voloboy

## **Increased resistance to hypoxia under the effect of the mixture of herbs from the Altai**

Altay State Medical University, 40, Lenina street, Barnaul, 656038, Russia

*We investigated the antihypoxic effect of herb mixture «Vasofit» from the Altai in an experiment with rats. This mixture of herbs contains bioflavonoids. Also, it has antioxidant, anti-inflammatory, antispasmodic, angioprotective and antiplatelet properties. The animals received decoction of herbs into the stomach through a tube. Courses lasted 3, 7, 14 and 21 days. Resistance to acute hypobaric hypoxia evaluated by time of animal life in modeling rise to a height of 11,500 meters above sea level. In result, a significant antihypoxic effect was observed in rats treated with decoction of herbs for 21 days. Shorter courses of treatment were not effective.*

**Key words:** resistance to hypoxia, bioflavonoid, herbal medicine

Широкое применение для профилактики и лечения нарушений мозгового кровообращения нашел препарат из растения гинкго билоба [21]. Стандартный экстракт из листьев гинкго билоба содержит флавоноиды и терпеноиды. Флавоноиды инактивируют свободные радикалы, защищая, таким образом, клетки от повреждения при ишемии. Было обнаружено, что гинкго билоба значительно ингибирует выход цитохрома С из митохондрий, экспрессию каспазы-3 и ослабляет апоптоз [23]. В одном из рандомизированных плацебоконтролируемых исследований было продемонстрировано, что экстракт гинкго билоба улучшает как центральную гемодинамику, так и перфузию тканей [16].

Однако гинкго билоба является реликтовым растением, которое в естественных условиях произрастает только в двух небольших районах на востоке Китая [2]. Существенным потенциалом в этом направлении обладает флора Алтайского края и горного Алтая.

Антигипоксические, антиоксидантные, ангиопротекторные, спазмолитические и антикоагулянтные свойства алтайских растений широко используются для профилактики заболеваний сердечно-сосудистой системы. Протективные эффекты растительных экстрактов в целом обусловлены входящими в их состав полифенолами, а именно флавоноидами и кумаринами [14, 25]. Вышеперечисленные свойства лекарственных растений могут использоваться не только при лечении кардиоваскулярных заболеваний, но и быть потенциально эффективными для повышения толерантности мозга к гипоксии/ишемии.

*Цель исследования* — разработка сбора из Алтайских трав и проверка его влияния на развитие резистентности к острой гипобарической гипоксии в эксперименте у крыс.

### **Методика**

Совместно с кафедрой фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО АГМУ был разработан сбор из нескольких лекарственных трав, произрастающих на территории Алтайского края и Горного Алтая, в кото-

**Для корреспонденции:** Куликов Владимир Павлович, д-р мед. наук, проф., зав. каф. патофизиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России. E-mail: kulikov57@mail.ru

рой были включены аронии черноплодной плоды, лабазника вязолистного трава, боярышника цветы и плоды, клевера лугового трава, ромашки аптечной цветки, мяты перечной лист, шиповника плоды, манжетки обыкновенной лист. Сбор получил наименование «Вазофит». При разработке травяного сбора исходили из комплексного фармакологического действия флавоноидов, входящих в состав лекарственных растений. При этом ориентировались на основные эффекты используемых лекарственных трав, которые потенциально могут быть эффективны для повышения резистентности к гипоксическому/ишемическому повреждению клеток. Из сбора готовили отвар в соотношении 1:10 согласно методике Государственной фармакопеи XI издания.

Исследование действия лекарственного сбора проведено на 100 белых крысах-самцах линии Wistar, массой  $141,4 \pm 26,2$  г. Линия животных была выращена в виварии НИИ Цитологии и генетики СО РАН (г.Новосибирск). Крысам 1-й, 3-й, 5-й и 7-й групп вводили через зонд в желудок 1 мл отвара, в течение трёх, семи, 14 и 21 суток соответственно. Животным 2-й, 4-й, 6-й и 8-й групп в аналогичные сроки вводили в желудок кипяченую воду в том же объеме (контроль). Масса тела животных контрольных и экспериментальных групп были сопоставимы. Крысы содержались в стандартных условиях вивария в клетках [3].

На следующие сутки после последнего введения определяли резистентность к острой гипобарической гипоксии. Гипобарическую гипоксию моделировали с помощью специальной барокамеры, в которой с помощью вакуумного электронасоса создавали необходимое разрежение воздуха, соответствующее «высоте» 11 500 м над уровнем моря. Скорость «подъема» животных составляла 100 м/с. Такая скорость является наиболее оптимальной, так как при ней нагрузка на нервную и сердечно-сосудистую системы распределяется равномерно [1].

В процессе моделирования острой гипоксии у животного регистрировали время потери позы (ВПП) и время жизни (ВЖ). ВПП — период от момента достижения критической высоты до момента утраты животным способности сохранять нормальную позу. ВЖ — период от момента достижения критической высоты до появления у животного второго агонального вдоха.

Статистическая обработка полученного материала проводилась с использованием программы «Statistica» v.6.0. При обработке результатов применяли непараметрический критерий Манна—Уитни, так как значения исследуемых параметров не подчинялись нормальному распределению. Для оценки нормальности распределения использовали критерий Шапиро—

Уилка. При сравнении групп был принят допустимый уровень значимости заключений о достоверности различий  $p < 0,05$ .

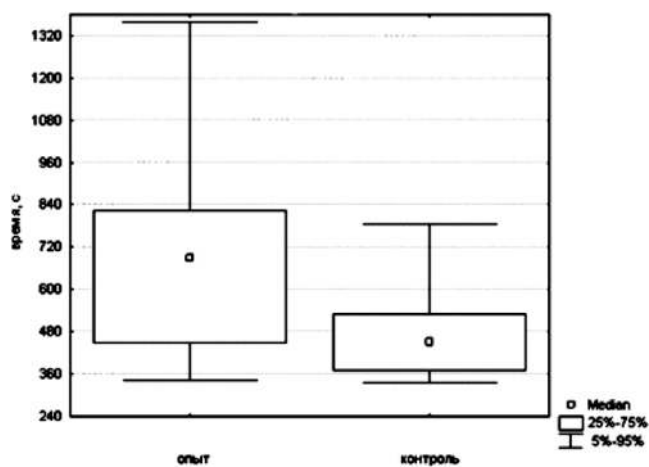
Крысы в экспериментах использовались в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте [8]. Методика эксперимента и моделирования острой гипобарической гипоксии на лабораторных животных была одобрена локальным этическим комитетом АГМУ.

## Результаты и обсуждение

При 3, 7 и 14 сут. введении отвара из трав показатели ВПП и ВЖ между контрольной и опытной группой значимо не различались.

Значимый антигипоксический эффект наблюдался у крыс, которым вводили отвар из трав в течение 21 сут. (рисунок). Из рисунка видно, что время жизни крыс, которым вводили отвар из трав в течение 21 сут., в среднем было в 1,5 раза дольше по сравнению с контрольной группой. При этом время потери позы в опытной и контрольной группах значимо не различалось.

Полученные данные свидетельствуют о том, что исследуемый сбор трав увеличивает резистентность животных к гипоксии при его применении в течение 21 сут. Данный эффект может быть обусловлен флавоноидами, входящими в состав используемых нами растений. Нейропротекторное действие флавоноидов включает ряд эффектов в пределах головного мозга, в том числе потенциальное защитное действие от повреждения и способность подавлять развитие воспалительной реакции в нервной ткани.



Время жизни животных в условиях острой гипобарической гипоксии при 21-дневном введении отвара из Алтайских трав ( $p=0,02$ )

Эти эффекты основываются на двух процессах [25]. Во-первых, флавоноиды взаимодействуют с сигнальными каскадами в нейронах, что приводит к ингибированию апоптоза и повышению выживаемости нейронов. Эти взаимодействия включают селективное воздействие на протеинкиназы и липидкиназы, в первую очередь PI3K/Akt и MAP-киназные пути, которые регулируют реализацию факторов транскрипции и экспрессию генов. Во-вторых, флавоноиды индуцируют ангиогенез и усиливают периферический и церебральный кровоток [25].

Было выявлено также [10], что предварительное введение флавоноида — апигенина ингибирует ФНО-индукцию интерлейкина 6, интерлейкина 8 и простагландина E2. Подавление этих параллельных цитокин-индуцированных путей, включающих в себя синтез и высвобождение хемокинов и производных арахидоновой кислоты, может способствовать уменьшению лейкоцитарной инфильтрации и отека. Кроме того, было обнаружено, что флавоноиды ингибируют агрегацию тромбоцитов, подавляя циклооксигеназный путь [13]. При изучении синергетического действия флавоноидов было также выявлено, что сочетание катехина и кверцетина вызывает снижение коллаген-индуцированной продукции перекиси водорода, выхода кальция и образование 1,3,4-инозитолтрифосфата, что, в свою очередь, обуславливает снижение агрегации тромбоцитов [18].

Современные исследования эффектов экстракта боярышника на экспериментальной модели инсульта показывают, что его флавоноиды, а именно олигомеры проантоцианидов снижают выход провоспалительных цитокинов, экспрессию молекул межклеточной адгезии, а также воспалительную реакцию и инфильтрацию лейкоцитами в очаге ишемии [7]. Флавоноиды содержащиеся в растениях травяного сбора ингибируют ЦОГ-2, снижают синтез простагландина E2 и уменьшают экссудацию при воспалении [15, 26].

Важную роль в защите нервных клеток от повреждения играет состояние сосудистой системы, а также системы гемостаза. Витамины С и Р, содержащиеся в боярышнике и шиповнике оказывают капилляроукрепляющее действие [5, 12, 20], а флавоноиды ромашки и мяты обуславливают спазмолитический эффект [11, 16]. Экстракт плодов черноплодной рябины удлиняет время свертывания крови и снижает скорость полимеризации фибрина [4].

Развитие компенсаторных реакций при гипоксии во многом зависит от состояния и функционирования эритроцитов. Флавоноиды содержащиеся в манжетке способствуют увеличению концентрации фосфолипидов в мембранах эритроцитов и снижают число аномальных эритроцитов у крыс с артериальной гипертензией [19].

Также эффективность травяного сбора может быть связана с антиоксидантным действием флавоноидов, которые содержатся в листьях, ягодах и соцветиях боярышника, цветках ромашки, листьях лабазника, манжетки и мяты перечной [5, 9, 12, 16, 17, 20, 22, 24]. К тому же смесь процианидинов, антоцианов и фенольных кислот, содержащихся в черноплодной рябине, является одним из самых мощных природных антиоксидантов [6].

Принимая во внимание все вышеперечисленные эффекты флавоноидов и результаты нашего исследования, можно сделать вывод, что созданный нами сбор из лекарственных растений Алтая «Вазофит», существенно повышает резистентность к острой гипоксии и обладают свойствами потенциально эффективными для коррекции гипоксического/ишемического повреждения.

### Список литературы

1. *Агаджанян Н.А.* Организм и газовая среда обитания. — М.: Медицина, 1972. — 247 с.
2. Жизнь растений. В 6 тт. / Гл. ред. Фёдоров А.А. — М.: Просвещение, 1978. — Т. 4. Мхи. Плауны. Хвощи. Папоротники. Голосеменные растения / Под ред. И.В. Грушвицкого и С.Г. Жилина. — 447 с.
3. *Западнюк И.И., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В.* Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. — 3-е изд-е, перераб. и доп. — Киев: Вища школа, 1983. — 383 с.
4. *Bijak M., Bobrowski M., Borowiecka M.* et al. Anticoagulant effect of polyphenols-rich extracts from black chokeberry and grape seeds // *Fitoterapia*. — 2011. — Vol. 82(6). — P. 811–817
5. *Cesarone M.R., Belcaro G., Ricci A.* et al. Prevention of edema and flight microangiopathy with Venoruton (HR), (0-[beta-hydroxyethyl]-rutosides) in patients with varicose veins // *Angiology*. — 2005. — Vol. 56(3). — P. 289–293.
6. *Chrubasik C., Li G., Chrubasik S.* The clinical effectiveness of chokeberry: a systematic review // *Phytoter. Res.* — 2010. — Vol. 24(8). — P. 1107–1114.
7. *Elango C., Devaraj S.N.* Immunomodulatory effect of Hawthorn extract in an experimental stroke model // *J. Neuroinflammation*. — 2010. — 7:97.
8. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. — Strasburg: Council of Europe. — 1986. — 48 p.
9. *Fecka I.* Qualitative and quantitative determination of hydrolysable tannins and other polyphenols in herbal products from meadowsweet and dog rose // *Phytochem. Anal.* — 2009. — Vol. 20(3). — P. 177–190.
10. *Gerritsen M.E., Carley W.W., Ranges G.E.* et al. Flavonoids inhibit cytokine-induced endothelial cell adhesion protein gene expression // *Am. J. Pathol.* — 1995. — Vol. 147(2). — P. 278–292.
11. *Kligler B., Chaudhary S.* Peppermint oil // *Am. Fam. Physician*. — 2007. — Vol. 75(7). — P. 1027–1030.
12. *Laemmel E., Stucker O., Pons C.* et al. Microcirculatory consequences of a venous striction in the rat. Effect of a coumarine-rutine association // *J. Mal. Vasc.* — 1998. — Vol. 23(3). — P. 176–182.

13. **Landolfi R., Mower R.L., Steiner M.** Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids: Structure-activity relations // *Biochemical Pharmacology*. — 1984. — Vol. 33(9). — P. 1525–1530.

14. **Maier P., Salgado K.F., Zivin J.A., Lapchak P.A.** A novel approach to screening for new neuroprotective compounds for the treatment of stroke // *Brain Res.* — 2007. — Vol. 1173. — P. 117–125.

15. **Nesterova Iu.V., Povet'eva T.N., Aksinenko S.G.** et al. Evaluation of anti-inflammatory activity of extracts from Siberian plants // *Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk.* — 2009. — Vol. 11. — P. 30–34.

16. **O'Hara M., Kiefer D., Farrell K., Kemper K.** A Review of 12 Commonly Used Medicinal Herbs // *Arch. of fam. med.* — 1998. — Vol. 7(6). — P. 523–536.

17. **Oktyabrsky O., Vysochina G., Muzyka N.** et al. Assessment of anti-oxidant activity of plant extracts using microbial test systems // *J. Appl. Microbiol.* — 2009. — Vol. 106(4). — P. 1175–1183.

18. **Pignatelli P., Pulcinelli F.M., Celestini A.** et al. The flavonoids quercetin and catechin synergistically inhibit platelet function by antagonizing the intracellular production of hydrogen peroxide // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2000. — Vol. 72(5). — P. 1150–1155.

19. **Plotnikov M.B., Aliev O.I., Andreeva V.Y.** et al. Effect of *Alchemilla vulgaris* extract on the structure and function of erythrocyte membranes during experimental arterial hypertension // *Bull. Exp. Biol. Med.* — 2006. — Vol. 141(6). — P. 708–7011.

20. **Salminen J.P., Karonen M., Lempa K.** et al. Characterisation of proanthocyanidin aglycones and glycosides from

rose hips by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry, and their rapid quantification together with vitamin C // *J. Chromatogr. A.* — 2005. — Vol. 1077(2). — P. 170–180.

21. **Shah Z.A., Nada S.E., Dore S.** Heme oxygenase 1, beneficial role in permanent ischemic stroke and in *Ginkgo biloba* (EGb 761) neuroprotection // *Neuroscience.* — 2011. — Vol. 180. — P. 248–255.

22. **Sharafi S.M., Rasooli I., Owlia P.** et al. Protective effects of bioactive phytochemicals from *Mentha piperita* with multiple health potentials // *Pharmacogn. Mag.* — 2010. — Vol. 6(23). — P. 147–153.

23. **Shen J., Lee W., Gu Y.** et al. *Ginkgo biloba* extract (EGb761) inhibits mitochondria-dependent caspase pathway and prevents apoptosis in hypoxia-reoxygenated cardiomyocytes // *Chinese Medicine.* — 2011. — 6–8.

24. **Smirnova G.V., Vysochina G.I., Muzyka N.G.** et al. The antioxidant characteristics of medicinal plant extracts from Western Siberia // *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* — 2009. — Vol. 45(6). — P. 705–709.

25. **Spencer J.P.** Flavonoids and brain health: multiple effects underpinned by common mechanisms // *Genes Nutr.* — 2009. — Vol. 4(4). — P. 243–250.

26. **Srivastava J.K., Pandey M., Gupta S.** Chamomile, a novel and selective COX-2 inhibitor with anti-inflammatory activity // *Life Sci.* — 2009. — Vol. 85(19–20). — P. 663–669.

Поступила 27.04.12

#### Сведения об авторах:

*Чупикова Ирина Александровна*, аспирант каф. патофизиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России

*Санаров Евгений Максимович*, канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России

*Волобой Нина Леонидовна*, зав. лаб. каф. фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России



М.С. Сукач, В.Т. Долгих

## **Влияние адеметионина на функционально-метаболические показатели печени крыс при панкреонекрозе**

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Омская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, 644043, Омск-43, ул. Ленина, 12

*Показано, что панкреонекроз сопровождается развитием печеночной недостаточности, вследствие активации процессов свободнорадикального окисления и эндотоксемии, вызывающая цитоллиз гепатоцитов. Адеметионин, вводимый в первые минуты после моделирования панкреонекроза уменьшает функционально-метаболические повреждения печени.*

**Ключевые слова:** панкреонекроз, печень, адеметионин

M.S. Sukach, V.T. Dolgikh

## **Influence of heptral on the functional-metabolic indices of the liver of rats with necrotizing pancreatitis**

Omsk state medical academy, 12, Lenin street, Omsk, 644043, Russia

*The purpose of the work — to study disorders of the liver with pancreatic necrosis and try to reduce them by hepatoprotector ademetionine. Experiments were conducted on 29 inbred male rats. In animals, the study group and comparison group simulated pancreatic necrosis. Animal control group 5 minutes after the simulation pancreonecrosis ademetionine injected in a dose 11.4 mg/kg. The parameters of intensity of free radical oxidation, endotoxemia, cytolysis in the liver, pancreas and blood of the portal and hepatic veins. The study found that pancreatic necrosis accompanied by the development of liver failure, and hepatoprotector ademetionine not only protects the liver, but also the pancreas, reducing their functional and metabolic disorders.*

**Key words:** pancreatic necrosis, liver, ademetionine

Летальность при панкреонекрозе, занимающем одно из первых мест в структуре ургентной хирургии органов брюшной полости [4], колеблется от 20 до 85% [7], что обусловлена полиорганной недостаточностью, связанной с абдоминальным сепсисом [8]. Печень становится первой мишенью, принимающей основной удар панкреатогенной токсинемии, вследствие поступления в кровь воротной вены активированных панкреатических ферментов, продуктов распада ткани поджелудочной железы, компонентов калликреин-кининовой системы [9], что приводит к развитию печеночной недостаточности.

*Цель исследования* — выявление изменений печени при панкреонекрозе и их коррекции гепатопротектором адеметионином.

### **Методика**

Эксперименты проведены на 29 инбредных крысах-самцах, наркотизированных эфиром. Животные были разделены на 3 группы. Контрольная группа

(n=10) включала ложно оперированных животных. У крыс основной группы (n=10) моделировали панкреонекроз введением в поджелудочную железу аутожелчи в дозе 0,15 мл/кг [1]. В группе сравнения (n=9) животным через 5 мин после моделирования панкреонекроза вводили адеметионин в дозе 11,4 мг/кг. Через 6 часов у животных забирали кровь из воротной и печеночной вены, а также ткань печени и поджелудочной железы для биохимических исследований.

С помощью стандартного набора реагентов фирмы «Human» в сыворотке крови определяли активность аланиламинотрансферазы (АЛТ), панкреатической амилазы, гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТ), мочевины и глюкозы на автоматическом биохимическом анализаторе «Konelab-20». В плазме крови, на эритроцитах и в ткани печени и поджелудочной железы исследовали содержание веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) [3]. Для изучения интенсивности процессов свободнорадикального окисления регистрировали на хемиллюминомере «ХЛ-003» хемиллюминесценцию (ХЛ), возникающую при рекомбинации свободных радикалов [6].

**Для корреспонденции:** Сукач Михаил Сергеевич, асс. каф. патофизиологии ГБОУ ВПО ОГМА Минздрава России. E-mail: 110sam@mail.ru

В качестве эталона при оценке ХЛ использовали ЖС-19 (ГОСТ 9411-81), испускающий свет в видимой области спектра и прокалиброванный в абсолютных единицах (квант/с  $\times$  4р  $\times$  мг) по стандартному радиоломинесцентному источнику. Интенсивность свечения эталона составляла  $5,1 \times 10^5$  квант/с. Для удобства эта величина была принята за одну условную единицу. Определяли следующие параметры ХЛ: светосумму, величина которой обратно пропорциональна общей антиоксидантной активности; вспышку, амплитуда которой пропорциональна уровню свободнорадикального окисления и спонтанную светимость. Для оценки гепатопротекторного эффекта адеметионина рассчитывали индекс эффективности — ИЭ (%) — долевую разницу показателей тяжести поражения печени в основной группе и группе животных, получавших адеметионин. Индекс эффективности адеметионина рассчитывали по формуле:

$$\text{ИЭ} = (n_0 - n_{cp}) / n_0 \times 100,$$

где  $n_0$  и  $n_{cp}$  — средние значения показателей опытной группы и группы сравнения [5].

Положительные значения ИЭ указывают на снижение показателя повреждения печени, а отрицательное значение ИЭ свидетельствует об увеличении степени ее повреждения.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0 непараметрическими критериями Манна—Уитни и Уилкоксона. Критический уровень значимости ( $p$ ) принимали равным 0,05.

### Результаты и обсуждение

Как следует из табл. 1, показатели интенсивности процессов свободнорадикального окисления в печени и поджелудочной железе соответствовали данным литературы. Вместе с тем, панкреонекроз и эндотоксе-

мия, о чем свидетельствовало увеличение содержания ВНСММ в плазме воротной вены в 3,6 раза, а на эритроцитах — в 2,1 раза (табл. 2), вызывали интенсификацию в печени процессов свободнорадикального окисления. Светосумма возросла в 5,3 раза, вспышка — в 4,0 раза. Активация процессов свободнорадикального окисления обуславливала цитолиз гепатоцитов и выход АЛТ и ГГТ в кровь (табл. 2). Содержание АЛТ в сыворотке воротной вены возросло в 1,6 раза, а печеночной — в 2,2 раза. Более высокими оказались значения ГГТ: в сыворотке крови воротной вены уровень ГГТ возрос в 4,8 раза, а в печеночной вены — в 5,4 раза. Характерно, что в сыворотке крови печеночной вены активность АЛТ и ГГТ превышала уровень одноименных показателей сыворотки воротной вены на 24,5% и 16,4%. Таким образом, печеночная фракция этих двух ферментов еще в большей степени увеличивала их содержание, поступавшее в воротную вену от поджелудочной железы, тонкого и толстого кишечника.

Содержание мочевины в воротной вене превышало контрольные значения на 46,8%, а в печеночной вене — на 48,3%. Это косвенно свидетельствует о поражении почек при панкреонекрозе и ретенционной гиперазотемии вследствие уменьшения выведения мочевины с мочой.

Поскольку печень является органом, депонирующим гликоген и активно участвующей в процессах глюконеогенеза, то для оценки ее функционального состояния нами оценивалось изменение концентрации глюкозы крови до и после прохождения ее через печень, что косвенно могло служить о нарушении углеводного обмена. Оказалось, что в опытной группе уровень глюкозы практически не изменялся. Отсутствие значимых изменений показателя можно объяснить, с одной стороны, снижением процессов глюко-

Таблица 1

Влияние адеметионина на интенсивность процессов свободнорадикального окисления в печени и поджелудочной железе крыс при панкреонекрозе, Me [LQ; HQ]

Исследуемый показатель	Исследуемые группы		
	Контрольная	Основная	Группа сравнения
<b>Печень</b>			
ВНСММ, у.е.	1,83 [1,71; 1,89]	2,05* [1,87; 2,34]	1,80+ (12,2%) [1,68; 1,87]
Светосумма, у.е. х мин	0,94 [0,37; 1,79]	4,96* [1,99; 7,81]	2,46**+ (50,5%) [2,37; 3,01]
Вспышка, у.е.	0,27 [0,09; 0,58]	1,07* [0,94; 3,65]	0,58**+ (45,8%) [0,47; 0,67]
Спонтанная светимость, у.е.	0,81 [0,34; 1,07]	0,85* [0,64; 1,42]	0,36**+ (57,6%) [0,21; 0,39]
<b>Поджелудочная железа</b>			
ВНСММ, у.е.	0,91 [0,91; 0,94]	1,30* [1,27; 1,42]	1,21**+ (6,9%) [1,13; 1,24]
Светосумма, у.е. х мин	0,64 [0,46; 0,73]	1,81* [0,83; 3,28]	0,64+ (64,6%) [0,35; 1,75]
Вспышка, у.е.	0,69 [0,59; 0,82]	0,67 [0,54; 1,00]	1,06+ (-58,2%) [0,47; 0,67]
Спонтанная светимость, у.е.	1,74 [0,62; 1,46]	0,43* [0,35; 0,56]	0,53**+ (-23,2%) [0,29; 0,84]

Примечание. \* —  $p < 0,05$  по сравнению с контролем; + —  $p < 0,05$  между основной группой и группой сравнения

Таблица 2

Влияние адеметионина на функциональные показатели повреждения печени крыс при панкреонекрозе, Ме [LQ; HQ]

Исследуемый показатель	Исследуемые группы					
	Контрольная группа (I)		Основная группа (II)		Группа сравнения (III)	
	Воротная вена	Печеночная вена	Воротная вена	Печеночная вена	Воротная вена	Печеночная вена
Амилаза, МЕ/л	824 [776; 1028]	882 [704; 1135]	34111* [30102; 34586]	33321* [4872; 35646]	3994** (88,3%) [2400; 5570]	4843** (85,4%) [4154; 5910]
АЛТ, МЕ/л	41,6 [25,6; 50,2]	37,1 [28,8; 50,9]	66,8* [66,7; 67,5]	83,2* [79,4; 94,8]	48,8+ (26,9%) [42,2; 53,1]	39,6+ (52,4%) [22,8; 47,9]
ГГТ, МЕ/л	4,15 [3,40; 4,50]	4,30 [2,90; 5,00]	20,10* [12,20; 20,90]	23,40* [17,00; 39,90]	13,30** (33,8%) [9,00; 16,40]	18,90** (19,2%) [12,75; 21,55]
Мочевина, ммоль/л	6,19 [5,47; 6,83]	6,52 [5,10; 6,58]	9,09* [7,82; 9,32]	9,67* [7,79; 10,22]	6,19+ (31,9%) [5,47; 6,83]	7,29+ (24,6%) [6,01; 7,43]
Глюкоза, ммоль/л	13,07 [8,35; 15,68]	8,73 [7,92; 10,12]	9,22 [9,20; 9,29]	8,99 [8,06; 9,88]	8,27 (10,3%) [6,63; 9,25]	9,80 (-9,0%) [8,67; 10,35]
ВНСММ в плазме, у.е.	5,07 [4,94; 5,17]	4,41 [4,24; 5,26]	18,13* [16,65; 19,25]	9,19* [7,91; 13,30]	12,01** (33,7%) [6,71; 17,84]	5,53+ (39,8%) [3,97; 7,17]
ВНСММ на эритроц., у.е.	10,75 [9,08; 13,05]	8,31 [8,10; 8,49]	22,73* [19,85; 24,40]	16,67* [16,32; 16,86]	10,34+ (54,5%) [9,18; 12,78]	11,76** (29,4%) [9,35; 12,27]
Светосумма, у.е. × мин	2,74 [2,61; 4,56]	3,04 [1,20; 5,00]	5,62* [5,00; 8,31]	4,49 [2,94; 6,83]	3,75+ (33,2%) [2,64; 4,29]	3,63+ (19,1%) [2,64; 4,09]
Вспышка, у.е.	1,42 [0,86; 2,39]	1,00 [0,66; 1,18]	1,00 [0,66; 1,18]	0,74 [0,56; 0,88]	0,57** (43,0%) [0,50; 0,72]	0,92 (-24,3%) [0,60; 0,94]
Спонтанная светимость, у.е.	0,67 [0,26; 1,02]	0,30 [0,18; 0,56]	0,46 [0,41; 0,60]	0,36 [0,26; 0,63]	0,31+ (32,6%) [0,28; 0,41]	0,47+ (-30,5%) [0,36; 0,54]

Примечание. \* —  $p < 0,05$  по сравнению с контролем; + —  $p < 0,05$  между основной группой и группой сравнения

неогенеза в печени, а с другой, — нарушением утилизации глюкозы клетками организма из-за уменьшения синтеза инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы [2]. Концентрация глюкозы после введения животным адеметионина не отличалась от значений контрольной группы в крови обеих вен. Однако прослеживалась тенденция к ее повышению в печеночной вене, что свидетельствует о восстановлении синтетических процессов в гепатоцитах.

В серии опытов, где животным после моделирования панкреонекроза вводили адеметионин, поражения печени оказались менее выраженными: светосумма возросла всего в 2,6 раза, вспышка — в 2,1 раза, а спонтанная светимость уменьшилась в 2,2 раза. Благодаря мембранопротективному эффекту адеметионина уменьшилось поступление ферментов в воротную (АЛТ на 36,8%; ГГТ — на 51,1%), и в печеночную (ГГТ — на 110,1%; ГГТ — на 23,8%) вены. Повысилась элиминация мочевины почками, поскольку содержание ее в крови не отличалось от контроля. Содержание ВНСММ в воротной вены уменьшилось на 50,9%, но более значимо в печеночной вене — на 66,2%, что могло косвенно свидетельствовать об их утилизации гепатоцитами.

Индекс эффективности гепатозащитного действия адеметионина по светосумме достигал 50,5%, по вспышке — 45,8% и по спонтанной светимости —

57,6%. Индексы эффективности адеметионина по другим биохимическим параметрам сыворотки крови печеночной и воротной вены также оказались положительными (табл. 2).

Адеметионин оказывал положительный эффект и на поджелудочную железу, существенно уменьшая ее цитолитическое повреждение (табл. 1), что подтверждается уменьшением содержания амилазы в крови воротной вены в 8,5 раз, а в печеночной вене — в 6,9 раза (табл. 2).

Таким образом, панкреонекроз сопровождается развитием печеночной недостаточности, патогенетическими факторами которой служат активация процессов свободнорадикального окисления и эндотоксемия, индуцирующие цитолитическое повреждение гепатоцитов. Адеметионин, вводимый в первые минуты после моделирования панкреонекроза, обладая антихолестатическим, детоксикационным, мембранопротективным, регенерирующим, антиоксидантным и антифиброзирующим эффектами, уменьшает функционально-метаболические повреждения печени.

### Список литературы

1. *Ершов А.В.* Патогенетические факторы развития сердечно-сосудистой недостаточности при панкреонекрозе: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — Омск, 2007. — 22 с.

2. **Лифшиц В.М., Сидельникова В.И.** Биохимические анализы в клинике. 6-е изд-е. — М.: Триада-Х, 2006. — 216 с.
3. **Малахова М.Я.** Метод регистрации эндогенной интоксикации: Пособие для врачей. — СПб., 1995. — 33 с.
4. **Савельев В.С., Филимонов М.И., Бурневич С.З.** Панкреонекрозы. — М.: МИА, 2008. — 264 с.
5. **Суханов Д.С., Виноградова Т.И., Заболотных Н.В.** и др. Сравнительное изучение гепатопротекторного действия ремаксолола, реамберина и адеметионина при повреждении печени противотуберкулезными препаратами (экспериментальное исследование) // Антибиотики и химиотерапия. — 2001. — Т. 56, №1-2. — С. 13—17.
6. **Фархутдинов Р.Р., Лиховских В.А.** Хемилюминесцентные методы исследования свободно-радикального окисления в биологии и медицине. — Уфа, 1995. — 23 с.
7. **Шугаев А.И., Гера И.Н., Мосоян С.С. и др.** Факторы, определяющие развитие гнойных осложнений острого деструктивного панкреатита в реактивной фазе // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. — 2009. — №1. — С. 54—56.
8. **Beger H.G., Rau B., Isenmann R.** Natural history of necrotizing pancreatitis // Pancreatology. — 2003. — Vol. 3, №2. — P. 93—101.
9. **Hofer S., Brenner T., Bopp C. et al.** Cell death biomarkers are early predictors for survival patients with hepatic dysfunction // Crit. Care. — 2009. — Vol. 13, №4. — P. 173—177.

Поступила 15.10.12

**Сведения об авторах:**

*Долгих Владимир Терентьевич*, д-р мед. наук, проф. зав. каф. патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ГБОУ ВПО ОГМА Минздрава России

Д.С. Суханов<sup>1</sup>, Е.Б. Артюшкова<sup>2</sup>, В.Т. Дудка<sup>3</sup>

## **Гепато- и эндотелиопротективное действие рунихола и адеметионина при экспериментальном поражении печени противотуберкулезными препаратами в сочетании с алкоголем**

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова Минздрава России (191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41)

<sup>2</sup> НИИ экологической медицины ГБОУ ВПО Курский государственный медицинский университет Минздрава России (305041, Курск, ул. К. Маркса, д. 3)

<sup>3</sup> ГБОУ ВПО Курский государственный медицинский университет Минздрава России (305041, Курск, ул. К. Маркса, д. 3)

*В опытах на 66 крысах-самцах проведено изучение гепато- и эндотелиопротективного действия таблеток рунихола и адеметионина при поражении печени противотуберкулезными препаратами основного и резервного ряда в сочетании с алкоголем. Установлено однонаправленное положительное действие изучаемых препаратов, проявляющееся в снижении уровня биохимических маркеров цитолиза и холестаза в сочетании со значительным уменьшением проявлений жировой, гиалиново-капельной и гидropической дистрофии. При этом рунихол оказал более выраженное антицитолитическое действие, в то время как под действием адеметионина отмечена нормализация коэффициента эндотелиальной дисфункции.*

**Ключевые слова:** противотуберкулезные препараты, поражения печени, алкоголь, рунихол, адеметионин

D.S. Sukhanov, E.B. Artyushkova, V.T. Dudka

## **Hepato- and endothelioprotective action of runihol and ademetonine in experimental liver injury induced by TB drugs in combination with alcohol**

*Hepato- and endothelioprotective action of runihol and ademetonine in 66 male rats with liver disease induced by essential and second-line antituberculosis drugs in combination with alcohol were studied. One-directed affirmative action study drugs, shown to reduce the level of biochemical markers of cytolysis and cholestasis in conjunction with a significant reduction in symptoms of fatty, hyaline droplet and hydropic degeneration. In this runihol had a more pronounced anticytolytic effect, while under the influence of ademethionine the normalization endothelial dysfunction was established.*

**Key words:** antituberculosis drugs, liver injury, alcohol, runihol, ademethionine

В связи с необходимостью длительной терапии туберкулеза и высокой частотой употребления алкоголя у больных данной инфекцией остается актуальным поиск новых лекарственных препаратов для терапии этих состояний [2, 9]. Одним из новых оригинальных лекарственных препаратов является рунихол таблетки, покрытые оболочкой, находящийся на стадии доклинических исследований [5, 6]. В состав препарата входят четыре активных компонента: янтарная кислота, метионин, инозин и таурин.

В основе большинства внутриклеточных патологических процессов, в том числе в печени, лежит митохондриальная дисфункция, оптимальная коррекция

которой возможна путём активации сукцинатоксидазного окисления, обладающего мощной энергопродукцией [7]. Введение экзогенного сукцината способствует нормализации аэробного окисления в митохондриях, устраняет разобщение окислительного фосфорилирования и угнетение микросомальных процессов. Метионин, входящий в состав препарата, способный к превращению в организме в S-аденозил-L-метионин (адеметионин), является эндогенным донором метильной группы и участвует в биологических реакциях трансметилирования, обеспечивающих текучесть и поляризацию мембран за счет увеличения содержания фосфолипидов, и транссульфатирования, восстанавливающих пул эндогенного глутатиона [3, 8].

*Цель исследования* — провести сравнительную оценку эффективности рунихола и адеметионина при поражении печени противотуберкулезными препаратами основного и резервного ряда в сочетании с алкоголем.

**Для корреспонденции:** Суханов Дмитрий Сергеевич — к.м.н., доцент кафедры фтизиопульмонологии и торакальной хирургии ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, e-mail: dmitriysukhanov@mail.ru

### Материал и методы

Исследование выполнялось в лаборатории доклинических исследований НИИ Экологической медицины Курского государственного медицинского университета в соответствии с «European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS No. 123» на 66 белых крысах-самцах массой 180—200 г. Поражение печени моделировалось введением противотуберкулезных препаратов (ПТП) основного и резервного ряда и этилового спирта с учетом дозировок, используемых в лаборатории экспериментального туберкулеза и новых медицинских технологий Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии [4, 5], а именно:

- противотуберкулезные препараты (ПТП) 1 ряда: изониазид 50 мг/кг подкожно + рифампицин 250 мг/кг внутривенно + пиперазид 45 мг/кг внутривенно;
- ПТП 2 ряда: ПАСК 1400 мг/кг внутривенно + протионамид 140 мг/кг внутривенно + циклосерин 140 мг/кг внутривенно;
- алкоголь: в поилку наливался 10% раствор алкоголя с добавлением в качестве вкусовой добавки 0,1% сахара.

Исследуемые препараты вводились внутривенно ежедневно один раз в сутки в течение 12 и 25 дней в следующих дозах: рунихол — 278 мг/кг, адemetионин — 161 мг/кг.

Методом рандомизации сформировано 11 групп наблюдения ( $n=6$  в каждой группе):

1. Интактные 1 ( $n=6$ ) — наблюдение 12 дней;
2. Контроль 1 (ПТП 1 ряда + алкоголь) 12 суток;
3. ПТП 1 ряда + алкоголь + рунихол 12 суток;
4. ПТП 1 ряда + алкоголь + адemetионин 12 суток;
5. Контроль 2 (ПТП 2 ряда + алкоголь) 12 суток;
6. ПТП 2 ряда + алкоголь + рунихол 12 суток;
7. ПТП 2 ряда + алкоголь + адemetионин 12 суток;
8. Интактные 2 ( $n=6$ ) — наблюдение 25 дней;
9. Контроль 3 (ПТП 1 ряда + алкоголь) 25 суток;
10. ПТП 1 ряда + алкоголь + рунихол 25 суток;
11. ПТП 1 ряда + алкоголь + адemetионин 25 суток.

На 13 и 26 день от начала эксперимента оценивались систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частота сердечных сокращений (ЧСС) на аппаратно-программном комплексе «Віорас» с постановкой функциональных сосудистых проб (на эндотелийзависимую вазодилатацию (ЭВД) — внутривенное введение ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного, а так-

же эндотелийнезависимую вазодилатацию (ЭНВД) в ответ на внутривенное введение раствора нитропруссида натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного).

Оценка коэффициента эндотелиальной дисфункции (КЭД) проводилась как отношение площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение НП ( $S_{НП}$ ) к площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение АХ ( $S_{АХ}$ ).

В комплекс биохимических исследований входило определение уровня общего билирубина, общего белка, холестерина, триглицеридов, АСТ, АЛТ, щелочной фосфатазы на биохимическом анализаторе Виталон 400.

Для морфологического подтверждения развития моделируемых патологических процессов и в комплексной оценке эффективности препаратов проведено гистологическое исследование печени. Материал фиксирован в 10% формалине с последующей заливкой в парафин. нейтрального формалина с последующей стандартной проводкой, срезы окрашиваются гематоксилином и эозином.

В связи с однородностью содержания животных во всех исследуемых группах и невозможностью опровергнуть нулевую гипотезу о нормальности распределения из-за небольшого количества единиц наблюдения в статистической обработке использованы методы, применяемые для нормального распределения данных. Обработка полученных результатов проведена с помощью метода ANOVA для множественного сравнения выборочных средних. При опровержении нулевой гипотезы о равенстве средних исследуемых групп использовалось попарное сравнение с помощью теста Тьюки. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$  [1].

### Результаты и обсуждение

Статистически значимых отличий в массе тела, сердца и печени между интактными, контрольными и всеми экспериментальными группами крыс обнаружено не было.

При проведении биохимических исследований через 12 дней после моделирования поражения печени с помощью введения противотуберкулезных препаратов 1 ряда и алкоголя обнаружено статистически значимое увеличение концентрации триглицеридов, АСТ, щелочной фосфатазы, общего билирубина и холестерина что свидетельствует о вовлечении печени в патологический процесс (таблица). Моделирование токсического поражения печени с помощью противотуберкулезных препаратов 2 ряда и алкоголя привело к статистически значимому увеличению концентрации триглицеридов, щелочной фосфатазы и билирубина.

При применении таблеток рунихола и адеметионина обнаружено статистически значимое снижение концентрации всех исследуемых биохимических показателей функционирования печени и их приближение к физиологической норме для данного вида животных. Несколько более выраженным гепатопротективным действием обладал препарат рунихол, так как в соответствующей группе животных все биохимические показатели оказались в пределах физиологической нормы, а при применении таблеток адеметионина уровень АСТ оставался достоверно выше, чем у интактных животных.

При проведении биохимических исследований через 25 дней после моделирования поражения печени с помощью введения противотуберкулезных препаратов основного ряда и алкоголя и его коррекции с помощью рунихола и адеметионина статистически значимых изменений в большинстве биохимических показателях не обнаружено ни в одной из экспериментальных групп. Одновременно, моделирование поражения печени привело к достоверному увеличению концентрации билирубина. При применении исследуемых препаратов обнаружено статистически значимое снижение концентрации билирубина и его значения в данных группах оставалось в пределах физиологической нормы (таблица).

При проведении гистологического исследования у крыс группы контроль 1 обнаружена диффузная крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов и диффузная мелкокапельная жировая дистрофия с тотальным поражением долек (рис. 1 на 2-й странице обложки).

Степень изменений цитоплазмы гепатоцитов более выражена, за счет этого нарушена структура балок, на обширных участках коллабированы синусоидные капилляры. Очагово наблюдается кариолизис в гепатоцитах. Изменения выражены однотипно во всех зонах печеночных долек.

У животных, получавших ПТП 1 ряда + алкоголь и рунихол в течение 12 дней обнаружены участки очаговой мелкокапельной жировой дистрофии гепатоцитов наряду с участками печеночной ткани с полным отсутствием патологических воспалительных и дистрофических изменений (рис. 2 на 2-й странице обложки).

Гистологическая картина печени животных, получавших наряду с ПТП 1 ряда + алкоголь препарат адеметионин не отличалась от таковой в группе животных, получавших рунихол. Отдельные участки ткани с очагами мелкокапельной жировой дистрофии чередовались с участками печеночной ткани с полным отсутствием патологических изменений.

Таблица

Биохимические показатели в экспериментальных группах после моделирования поражения печени и его коррекции

Препарат	Триглицериды	АСТ, Ед/л	АЛТ, Ед/л	Щелочная фосфатаза, Ед/л	Билирубин, мкмоль/л	Общий белок, г/л	Холестерин, ммоль/л
Интактные 1	0,26±0,04	140,2±9,76	50,8±2,13	133,7±9,53	1,21±0,31	56,3±2,29	0,46±0,04
Контроль 1 (ПТП 1 ряда + алкоголь)	0,62±0,07*	159,7±6,59*	43,3±5,46	246,1±21,04*	21,18±4,04*	63±1,32	1,18±0,14*
ПТП 1 ряда + алкоголь + Рунихол	0,41±0,1**	139,5±6,13**	37,8±4,83	171,5±20,01**	8,03±1,51**	61,3±0,95	0,74±0,06**
ПТП 1 ряда + алкоголь + адеметионин	0,28±0,04**	143,6±5,41	42,2±4,8	178,2±34,3	6,84±1,02**	63,3±1,3	0,73±0,06**
Контроль 2 (ПАСК протионамид + циклосерин + алкоголь)	0,55±0,15*	154,9±10,19	41±3,27	175,2±11,59*	7,44±1,59*	62,7±3,73	0,46±0,04
ПТП 2 ряда + алкоголь + Рунихол	0,27±0,04***	141±5,15	38,3±4,03	157,3±18,89	1,53±0,54***	63,8±1,48	1,08±0,05*
ПТП 2 ряда + алкоголь + адеметионин	0,29±0,04***	152,2±6,99	35±1,86	151,3±20,19	1,27±0,43***	63,1±1,45	0,66±0,02***
Интактные 2	0,3±0,05	162,8±11,1	69,2±8,42	152,9±16,31	1,7±0,38	58±1,48	0,86±0,08
Контроль 3 (ПТП 1 ряда + алкоголь) 25 суток)	0,44±0,1	143,6±7,72	58,2±4,99	123,2±9,07	4,48±0,94*	61,4±58,5	0,56±0,09
ПТП 1 ряда + алкоголь + Рунихол 25 суток	0,35±0,08	125,9±15,38	52,7±8,2	103,6±10,91	1,84±0,6***	58,5±2,69	0,59±0,09
ПТП 1 ряда + алкоголь + адеметионин 25 суток	0,36±0,08	138,8±7,85	60,1±5,6	114,3±16,46	1,31±0,21***	60,5±3,8	0,4±0,06

Примечание. \* —  $p < 0,05$  в сравнении с интактными животными; \*\* —  $p < 0,05$  в сравнении с Контроль 1; \*\*\* —  $p < 0,05$  в сравнении с Контроль 2

У животных группы контроль 2 (ПТП 2 ряда) на фоне отсутствия воспалительных изменений печени в центральных зонах долек обнаружена выраженная гиалиново-капельная дистрофия гепатоцитов с участками гидропической дистрофии.

На фоне введения рунихола в сочетании с ПТП 2 ряда и алкоголем в центральных зонах долек печени обнаруживались лишь отдельные участки гиалиново-капельной дистрофии гепатоцитов наряду с участками печеночной ткани с полным отсутствием патологических дистрофических изменений.

Гистологическая картина печени животных, получавших на фоне ПТП 2 ряда и алкоголя препарат адеметионин в целом соответствовала таковой в группе животных, получавших таблетки рунихола.

Важно отметить, что у крыс группы контроль 3 обнаружены лишь единичные гепатоциты с участками мелкокапельной жировой дистрофии на фоне неизменной печени, которая полностью нивелировалась под воздействием рунихола и адеметионина. В связи с небольшой показательностью эксперимента при 25-дневном введении ПТП 1 ряда + алкоголь, опыт по введению ПТП 2 ряда в сочетании с алкоголем аналогичной длительности не ставился.

Моделирование поражения печени с помощью противотуберкулезных препаратов 1, 2 ряда и алкоголя а также введение таблеток рунихол и адеметионин не привело к статистически значимому изменению исходного артериального давления во всех сериях экспериментов. При внутривенном введении интактным животным раствора АХ наблюдалось падение уровня артериального давления с последующим его восстановлением. Моделирование поражения печени с помощью ПТП 1 ряда, ПТП 2 ряда и алкоголя, привело к статистически значимому увеличению абсолютных значений САД и ДАД в ответ на внутривенное введение АХ, что свидетельствует о снижении выработки оксида азота сосудистым эндотелием в ответ на ацетилхолиновую стимуляцию. Статистически значимых различий на реакцию ЭЗВД между группой контроль 1, контроль 2 и соответствующими им экспериментальными группами препаратов не наблюдалось.

В ответ на введение раствора нитропруссид натрия также наблюдалось падение значений систолического и диастолического артериального давления с последующей постепенной нормализацией показателей. Установлено, что сочетание противотуберкулезных препаратов 1, 2 ряда и алкоголь, а также применение рунихола и адеметионина не влияло на выраженность реакции ЭНВД по систолическому АД и диастолическому АД.

Рассчитав КЭД, было обнаружено, что под влиянием введения противотуберкулезных препаратов 1

ряда и алкоголя через 12 дней он увеличивался более чем в 2 раза. Статистически значимым положительным воздействием на величину коэффициента эндотелиальной дисфункции обладал как препарат рунихол, так и препарат сравнения адеметионин, что свидетельствует об эффективной коррекции моделируемого поражения печени и важной роли в данной патологии сосудистого эндотелия.

При применении противотуберкулезных препаратов 2 ряда и алкоголя обнаружено увеличение коэффициента эндотелиальной дисфункции в 1,8 раза. Дополнительное введение рунихола статистически значимо не влияло на КЭД, а адеметионин статистически значимо снижало КЭД, приближая его к значениям интактных животных.

У животных, получавших в течение 25 суток противотуберкулезные препараты 1 ряда и алкоголь, время реакции эндотелийзависимой и эндотелинезависимой вазодилатации сокращалось незначительно, не нося статистически достоверного характера. Аналогичная тенденция прослеживалась и при оценке КЭД.

## Заключение

Введение противотуберкулезных препаратов в сочетании с алкоголем в течение 12 дней приводит к тяжелому токсическому поражению печени, сопровождающемуся характерной динамикой гистологических (диффузная крупно- и мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов при воздействии препаратов 1 ряда и гиалиново-капельная и гидропическая при воздействии препаратов 2 ряда). При 25-дневном введении ПТП 1 ряда в сочетании с алкоголем патологические изменения в печени выражены незначительно.

Применение рунихола и адеметионина приводит к однонаправленным положительным сдвигам биохимических показателей в сочетании с выраженной коррекцией дистрофии печеночных клеток. При этом под влиянием рунихола отмечено более выраженное снижение АСТ.

Применение таблеток рунихол не влияло, а таблетки адеметионин позволили статистически значимо снизить КЭД и приблизить его к значениям интактных животных.

На основании результатов проведенных экспериментальных исследований препарат рунихол выраженной гепатопротективным действием на выбранной модели патологии и может быть рекомендован к клиническому изучению.



## Список литературы

1. **Банержи А.** Медицинская статистика понятным языком. — М.: Практическая медицина, 2007.
2. **Загдын З.М., Браженко Н.А., Браженко О.Н.** и др. Коморбидность туберкулеза, алкоголизма и наркомании // Пульмонология. — 2007. — Вып. 2. — С. 22–27.
3. **Никитин И.Г.** Гепатопротекторы: мифы и реальные возможности // Фарматека. — 2007. — 13. — С. 14–18.
4. **Сливка Ю.И.** Сравнительная характеристика гепатотоксичности изониазида, рифампицина и пипразинамида // Фармакология и токсикология. — 1989. — №4. — С. 82–85.
5. **Суханов Д.С., Виноградова Т.И., Заболотных Н.В., Васильева С.Н., Витовская М.Л.** Сравнительное влияние рунихола и экзогенного S-аденозил-L-метионина на морфологическую картину печени при гепатотоксическом воздействии противотуберкулезных препаратов резервного ряда // Архив патологии. — 2012. — Т. 74, №5. — С. 51–57.
6. **Суханов Д.С., Виноградова Т.И., Петров А.Ю., Заболотных Н.В., Коваленко А.Л., Васильева С.Н., Романцов М.Г.** Влияние сукцинат- и метионинсодержащего препарата «Рунихол» и адметионина на процессы репаративной регенерации печени в условиях экспериментальной частичной гепатэктомии // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2012. — Т. 75, №4. — С. 20–23.
7. **Хазанов Б.А.** Фармакологическая регуляция энергетического обмена // Экспер. Клин. Фармакол. — 2009. — 34. — С. 61–64.
8. **Santini D., Vincenzi B., Massaceisi C.** et al. S-Adenosylmethionine supplementation for treatment of chemotherapy-induced liver injury // Anticancer Res. — 2003. — 23. — 6D. — P. 5173–5179.
9. **Senaratne W.V., Pinidiyapathirage M.J., Perera G.A.** et al. Anti-tuberculosis drug Induced Hepatitis — a Sri Lankan experience // Ceylon Med. J. — 2006. — Vol. 51, №2. — P. 9–14.

Поступила 16.04.13

## Сведения об авторах:

*Артюшкова Елена Борисовна* — директор НИИ экологической медицины ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России, д.б.н.

*Дудка Виктор Тарасович* — зав. кафедрой патологической анатомии ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России, доцент

А.А. Спасов, И.Н. Иежица, М.В. Харитоновна, М.С. Кравченко, Г.Л. Снигур, **В.Б. Писарев**

## **Соли магния в коррекции кальций-оксалатного нефролитиаза, вызванного введением натрия оксалата и селективного ингибитора ЦОГ-2 целекоксиба**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования  
Волгоградский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
400131, Волгоград, пл. Павших Борцов, 1

*Изучено влияние солей магния и их комбинаций с витамином В<sub>6</sub> на формирование кальций-оксалатного нефролитиаза при введении натрия оксалата (3% от массы рациона) и целекоксиба (100 мг/кг массы тела). Через 14 сут. после начала эксперимента у животных достоверно увеличилась концентрация оксалатов в моче, появлялась выраженная кристаллурия, отмечалась тенденция к снижению клиренса креатинина. После этого животным перорально через зонд вводили препараты: магний L-аспарагинат, магний хлорид, их комбинация с витамином В<sub>6</sub> (в дозе 50 мг элементарного магния на кг массы тела) в течение последующих 14 сут. На 28 сут эксперимента у животных, получавших соли магния, отмечалось снижение интенсивности кристаллурии и оксалурии в среднем на 45%, на 19% возрастал клиренс креатинина, в 1,5–2 раза уменьшилось соотношение кальций/магний мочи по сравнению с животными, получавшими только натрия оксалат и целекоксиб. Морфологическое исследование выявило снижение объемной доли кальцификатов почечной ткани. Таким образом, соли магния препятствовали дальнейшему развитию нефролитиаза, при этом наиболее эффективными оказались магния L-аспарагинат и магне В<sub>6</sub>.*

**Ключевые слова:** нефролитиаз, магния L-аспарагинат, магния хлорид, пиридоксин, целекоксиб

А.А. Spasov, I.N. Iezhitsa, M.V. Kharitonova, M.S. Kravchenko, G.L. Snigur, **V.B. Pisarev**

## **Experimental evidence of magnesium salts for treatment of calcium oxalate nephrolithiasis in an animal model based on sodium oxalate and a cyclooxygenase 2 selective inhibitor**

Volgograd State Medical University, Research Institute of Pharmacology, 1, Pavshikh Bortsov sq., Volgograd, 400131, Russia

*The purpose of present study was to investigate influence of magnesium (Mg) salts (Mg L-aspartate, Mg chloride) and their combinations with pyridoxine on development of calcium-oxalate nephrolithiasis induced by sodium oxalate (3% diet weight) and celecoxib (100 mg per kg of bodyweight) according to B.C. Jeong et al. (Urol. Res. 2005; 33(6): 453–459). On 14<sup>th</sup> day of diet urinary oxalate level and crystalluria were significantly increased, creatinine clearance tended to be lower as compared to control group. Mg L-aspartate, Mg chloride and their combinations with pyridoxine, MagneB<sub>6</sub> (Mg lactate in combination with pyridoxine) and Mg sulfate were given by intragastric intubation from 15<sup>th</sup> till 28<sup>th</sup> days of diet (50 mg Mg per kg body weight). On 28<sup>th</sup> day urinary oxalate level in rats treated with Mg salts was lower by in average 45%, creatinine clearance was increased by 19%, Ca/Mg ratio decreased by 1.5–2 times in comparison with animals fed with diet alone. Light microscopic examination of kidney sections have revealed decreased inclusion volume fraction of renal calcification in rats treated with Mg salts as to compare with untreated rats receiving sodium oxalate and celecoxib (0.3–1.0% vs. 4%). So, Mg salts prevented development of calcium-oxalate nephrolithiasis in hyperoxaluric rats. Morphological and laboratory tests showed Mg aspartate and magne В<sub>6</sub> were more effective Mg-containing substances in comparison with other studied salts.*

**Key words:** nephrolithiasis, magnesium L-aspartate, magnesium chloride, pyridoxine hydrochloride, celecoxib

В последние годы среди урологических заболеваний отмечено преобладание мочекаменной болезни (МКБ), которую в настоящее время относят к наи-

более значимой в медико-демографическом отношении группе заболеваний [1]. У 70–80% больных мочекаменной болезнью в составе почечных конкрементов преобладает оксалат кальция. Причиной формирования данного вида почечных конкрементов может быть как избыточное поступление оксалата и его предшественников с пищей, так и врожденные на-

**Для корреспонденции:** Спасов Александр Алексеевич, член-корр. РАМН, засл. деят. науки РФ, д-р мед. наук, проф., зав. каф. фармакологии ГБОУ ВПО ВолГМУ Минздрава РФ. E-mail: farm@vlpst.ru

рушения метаболизма оксалата. В то же время показано, что магний (Mg) способен играть роль ингибитора камнеобразования *in vitro* [12], хотя данные литературы, подтверждающие его эффективность *in vivo*, зачастую противоречивы. С одной стороны, Prien E.L. и Gershoff S.N. [11], Khan S.R. [13] показали, что магния оксид в комбинации с пиридоксином способствовали уменьшению размеров почечных конкрементов, с другой стороны, эти изменения не всегда были статистически значимы.

**Цель исследования** — оценка влияния магния хлорида, магния L-аспарагината и их комбинаций с пиридоксином на течение кальций-оксалатного нефролитиаза.

### Методика

Оценка влияния солей магния на течение нефролитиаза, вызванного введением оксалата натрия и целекоксиба, проводилась согласно методике, описанной В.С. Jeong с соавторами (2005) [10]. Эксперименты выполнялись на 98 белых беспородных крысах-самцах, исходной массой 180—254 г. Первая «интактная» группа животных составляла контроль. У остальных крыс моделировали нефролитиаз путем добавления в пищевой рацион натрия оксалат (3% от массы рациона) и целекоксиб (целебрекс®, Pfizer,

США) в дозе 100 мг/кг массы тела. План исследования представлен на рисунке.

Моча крыс в течение суток собиралась в метаболических камерах после пероральной водной нагрузки из расчета 4 мл дистиллированной воды на 200 г массы тела животного и хранилась при 4°C. Для изучения мочевого осадка отбирали 1 мл из первой трехчасовой порции мочи и микроскопировали, измеряли рН.

В моче определяли уровень оксалатов [4]. Содержание магния в плазме, эритроцитах и моче — цветной реакцией с титановым желтым [2]. Концентрацию фосфатов, кальция, креатинина в плазме и моче определяли с помощью стандартных наборов фирмы «Лахема» (Чехия).

Для оценки функции почечных канальцев рассчитывались следующие относительные показатели:

Фракционная экскреция магния (ФЭМg) [5]:

$$\text{ФЭМg} = \frac{U(\text{Mg}) \times P(\text{Cr})}{0,7 \times P(\text{Mg}) \times U(\text{Cr})} \times 100\%,$$

где:

U(Mg) и U(Cr) — концентрация соответственно магния и креатинина в моче, мМ/л;

P(Mg) и P(Cr) — концентрация соответственно магния и креатинина в плазме крови, мМ/л.



План исследования влияния солей магния на кальций-оксалатный нефролитиаз

Фракционная экскреция кальция/фосфатов (ФЭ-Са/Р) [8]:

$$\text{ФЭСа /Р} = \frac{U(\text{Са /Р}) \times P(\text{Cr})}{P(\text{Са /Р}) \times U(\text{Cr})} \times 100\%,$$

где:

U — концентрация кальция/фосфора/креатинина в моче, мМ/л;

P — концентрация кальция/фосфатов/креатинина в плазме крови, мМ/л.

Для оценки функциональной активности клубочков рассчитывался клиренс креатинина Cl(Cr):

$$\text{Cr(Cr)} = \frac{U(\text{Cr}) \times V}{P(\text{Cr}) \times 24 \times 60},$$

где:

U(Cr) — концентрация креатинина в суточной моче, мМ/л;

P(Cr) — концентрация креатинина в плазме крови, мМ/л;

V — суточный диурез, мл.

Также оценивались отношение концентрации кальция к концентрации магния и концентрации креатинина к концентрации оксалата в суточной моче [3]. Последний показатель косвенно характеризует зависимость функциональной активности клубочков от уровня оксалатов в моче.

После того, как у животных с моделируемой патологией уровень кристаллурии, оксалурии, кальциурии и рН мочи стали статистически значимо отличаться от контроля, им через зонд вводили соли магния: Mg L-аспарагинат, Mg хлорид и их комбинации с витамином B<sub>6</sub>, а также препараты сравнения Mg сульфат и Магне B<sub>6</sub> (Mg лактат с витамином B<sub>6</sub>) фирмы Sanofi Aventis (Франция) в дозе 50 мг элементарного магния на кг массы тела. Соотношение магний/пиридоксин составляло 10:1. Через 14 сут. введения солей забой животных проводили методом декапитации под эфирным наркозом с соблюдением всех норм GLP.

Для морфологических исследований почки фиксировали в течение 24 ч в нейтральном забуференном 4%-ном растворе формалина (рН 7,4). Заливали в парафиновые блоки по общепринятым морфологическим методикам. Парафиновые поперечные срезы почек толщиной 3—5 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. С помощью программы «ВидеоТестМорфо-4» (Россия, СПб., 2004) определяли объемную долю (ОД) кальцификатов в процентах и их размеры в мкм<sup>2</sup>.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Statistika 6.0 с использованием однофакторного дисперсного анализа и критерия Дункана.

## Результаты и обсуждение

Через 14 сут. после начала эксперимента масса тела животных и диурез достоверно не изменились. У всех крыс отмечалось статистически значимое повышение уровня оксалатов в моче (с 59,22±2,23 до 85,91±8,75 мкМ/л; ρ=0,014), кристаллов оксалата кальция (с 1±1 до 5±1; ρ=0,003), снижение рН мочи (с 6,42±0,10 до 6,14±0,11; ρ=0,061). Снижение клиренса креатинина (с 1,01±0,13 до 0,89±0,12 мл/мин) не было существенно. Уровень магния в плазме крови, эритроцитах и моче оставался в пределах физиологической нормы. Фракционная экскреция магния у опытных животных возросла на 20%. Уровень фосфора в плазме крови, моче и его фракционная экскреция, а также концентрации кальция в плазме крови и моче статистически значимо не изменились. Фракционная экскреция кальция повысилась на 22%. Соотношение Са/Mg мочи статистически значимо не изменилось, а соотношение оксалат/креатинин в группе, получавшей натрия оксалат и целекоксиб, выросло на 11%. Таким образом, перечисленные выше изменения лабораторных показателей указывали на развитие у животных экспериментального уролитиаза.

При микроскопическом исследовании почек интактных крыс ни в одном из отделов почечной паренхимы патологическое отложение солей кальция не отмечалось. У крыс, получавших диету, были выявлены кальцификаты (61,3 мкм<sup>2</sup>) в мозговом (наружной и внутренней зонах), корковом веществе и собирательных трубках, объемная доля составила 4%.

С 15-х суток эксперимента части животных вводили соли магния через зонд.

Через 28 сут. после начала эксперимента в группе, получавшей только обогащенную оксалатами и целекоксибом диету, патология прогрессировала: так уровень оксалатов в моче вырос на 171% (ρ<0,0001), усилилась кристаллурия (до 105 кристаллов в 10 мкл мочевого осадка, ρ<0,0001), клиренс креатинина снизился на 29% по сравнению с контролем (ρ<0,1). Возрастала фракционная экскреция магния на 10%, фосфора — на 23, кальция — на 35% (ρ<0,05). Уровень магния в плазме крови и эритроцитах не изменялся. Отмечено увеличение соотношения Са/Mg и оксалат/креатинин в моче на 16 и 189% соответственно. Масса животных и диурез статистически значимо не различались (табл. 1).

У животных, которым вводили соли магния, уролитиаз по совокупности лабораторных показателей протекал в более легкой форме, нежели в группе с экспериментальной патологией. На 14-е сут. у животных, леченных солями магния, отмечался статистически значимо более низкий уровень оксалатов и кристаллов в моче, более высокое значение рН. Уровень магния в эритроцитах был статистически

значимо выше, чем в норме (табл. 2). По уровню магния в эритроцитах группы, получавшие соли магния, расположились в следующем порядке: Mg L-аспарагинат в комбинации с витамином B<sub>6</sub> > Mg хлорид в комбинации с витамином B<sub>6</sub> > Mg L-аспарагинат > Магне B<sub>6</sub> > Mg хлорид > Mg сульфат. При этом были обнаружены следующие статистически значимые различия: показатели

групп, получавших Mg L-аспарагинат и Mg хлорид в комбинациях с витамином B<sub>6</sub>, отличались от таковых в группах с Mg хлоридом, Mg L-аспарагинатом, препаратом сравнения Mg сульфатом. Влияние Mg L-аспарагината в комбинации с витамином B<sub>6</sub> отличалось от действия Магне B<sub>6</sub>, Mg хлорида и Mg L-аспарагината. Отличия от Mg сульфата были статистически значимы. Необходимо отметить, что,

Таблица 1

**Влияние солей магния (при пероральном введении) в дозе 50 мг элементарного магния /кг массы тела животного на некоторые показатели мочи в условиях диеты, содержащей оксалат натрия и цецекоксіб, 28 день диеты, M±m**

Показатель	F-статистика	Интактный контроль	NaOx + цецекоксіб	Mg аспарагинат B <sub>6</sub> + NaOx + цецекоксіб	Mg аспарагинат + NaOx + цецекоксіб	Mg хлорид B <sub>6</sub> + NaOx + цецекоксіб	Mg хлорид + NaOx + цецекоксіб	МагнеB <sub>6</sub> + NaOx + цецекоксіб	Mg сульфат + NaOx + цецекоксіб
Диурез, мл	F(7,37)=0,43; p=0,88	6,82±0,49 (n=6)	5,55±0,87 (n=6)	6,02±1,24 (n=5)	6,40±0,67 (n=5)	6,72±0,59 (n=5)	6,37±0,58 (n=6)	6,57±0,53 (n=6)	6,63±0,48 (n=6)
Масса тела, г	F(7,37)=0,45; p=0,86	215,5±5,4 (n=6)	201,7±8,3 (n=6)	216,4±9,8 (n=5)	212,0±11,1 (n=5)	210,4±7,2 (n=5)	217,7±12,3 (n=6)	208,7±9,3 (n=6)	212,0±4,3 (n=6)
Концентрация магния в моче, мМ/л	F(7,37)=37,58 p<0,0001	8,89±0,46 (n=6)	8,02±0,36* (n=6)	15,49±0,56 <sup>*,**,\$,†,‡</sup> (n=5)	11,79±0,61 <sup>*,**,\$,†</sup> (n=5)	12,98±0,51 <sup>*,**,\$,†,‡</sup> (n=5)	11,42±0,39 <sup>*,**,\$,†</sup> (n=6)	12,77±0,22 <sup>*,**,\$,†</sup> (n=6)	10,26±0,31 <sup>*,**</sup> (n=6)
Суточная экскреция магния, мкг на 100 г массы тела животного	F(7,37)=2,88; p=0,02	668,75±40,2 (n=6)	539,43±95,1 (n=6)	1027,3±216,77 <sup>**</sup> (n=5)	866,9±118,3 <sup>**</sup> (n=5)	1002,4±112,9 <sup>*</sup> (n=5)	821,9±107,4 <sup>*,**</sup> (n=6)	982,9±112,5 <sup>**</sup> (n=6)	771,4±64,1 (n=6)
Фракционная экскреция магния	F(7,37)=0,57; p=0,78	5,15±0,36 (n=6)	5,66±0,20 (n=6)	6,43±1,27 (n=5)	5,60±0,74 (n=5)	5,53±0,47 (n=5)	5,12±0,40 (n=6)	5,86±0,47 (n=6)	5,30±0,51 (n=6)
Концентрация фосфатов в моче, мМ/л	F(7,37)=3,68; p<0,0041	17,13±0,34 (n=6)	17,18±0,40 (n=6)	15,83±0,70 (n=5)	14,85±1,08 <sup>*,**</sup> (n=5)	14,58±0,77 <sup>*,**</sup> (n=5)	14,60±0,58 <sup>*,**</sup> (n=6)	14,92±0,58 <sup>*,**</sup> (n=6)	15,41±0,47 <sup>**</sup> (n=6)
Суточная экскреция фосфатов мочи, мг на 100 г массы	F(7,37)=0,24; p=0,97	1,67±0,09 (n=6)	1,46±0,22 (n=6)	1,36±0,29 (n=5)	1,39±0,17 (n=5)	1,48±0,24 (n=5)	1,36±0,18 (n=6)	1,47±0,16 (n=6)	1,49±0,09 (n=6)
Фракционная экскреция фосфора,%	F(7,37)=1,08; p=0,4	7,63±0,65 (n=6)	9,35±0,77 (n=6)	7,21±1,30 (n=5)	7,36±0,73 (n=5)	6,94±0,74 (n=5)	6,77±0,76 (n=6)	7,76±0,97 (n=6)	7,67±0,89 (n=6)
Концентрация кальция в моче, мМ/л	F(7,37)=1,23; p=0,31	4,47±0,179 (n=6)	4,73±0,23 (n=6)	4,18±0,37 (n=5)	4,69±0,26 (n=5)	4,64±0,162 (n=5)	4,48±0,19 (n=6)	4,24±0,21 (n=6)	4,16±0,21 (n=6)
Суточная экскреция кальция мочи, мг на 100 г	F(7,37)=1,09; p=0,3865	0,101±0,006 (n=6)	0,095±0,016 (n=6)	0,081±0,015 (n=5)	0,102±0,01 (n=5)	0,109±0,014 (n=5)	0,099±0,016 (n=6)	0,100±0,015 (n=6)	0,094±0,008 (n=6)
Фракционная экскреция кальция	F(7,37)=1,11; p=0,38	0,786±0,085 (n=6)	1,06±0,094 (n=6)	0,808±0,149 (n=5)	0,933±0,044 (n=5)	0,869±0,092 (n=5)	0,892±0,101 (n=6)	0,930±0,049 (n=6)	0,875±0,088 (n=6)
Ca/Mg мочи	F(7,37)=9,93; p<0,0001	0,508±0,032 (n=6)	0,593±0,034* (n=6)	0,272±0,029 <sup>*,**,\$,†,‡</sup> (n=5)	0,404±0,038 <sup>*,**</sup> (n=5)	0,359±0,016 <sup>*,**,\$</sup> (n=5)	0,394±0,021 <sup>*,**</sup> (n=6)	0,333±0,017 <sup>*,**</sup> (n=6)	0,407±0,024 <sup>*,**</sup> (n=6)
Суточная экскреция оксалатов, мкг на 100 г массы тела животного.	F(7,37)=4,92; p=0,0005	16,31±2,16 (n=6)	37,49±4,61* (n=6)	20,69±2,20 <sup>**</sup> (n=5)	23,79±3,63 <sup>**</sup> (n=5)	23,12±1,85 <sup>**</sup> (n=5)	21,97±2,09 <sup>**</sup> (n=6)	24,57±3,67 <sup>**</sup> (n=6)	26,31±3,07 <sup>*,**</sup> (n=6)
Концентрация оксалатов в моче, мМ/л	F(7,37)=5,93; p<0,0001	56,94±4,95 (n=6)	154,36±8,37* (n=6)	84,94±11,54 <sup>**</sup> (n=5)	89,42±13,77 <sup>**</sup> (n=5)	83,96±12,81 <sup>**</sup> (n=5)	87,86±13,73 <sup>**</sup> (n=6)	84,47±13,20 <sup>**</sup> (n=6)	95,91±13,50 <sup>*,**</sup> (n=6)
pH мочи	F(7,37)=31,99 p<0,0001	6,33±1,22 (n=6)	6,14±0,11* (n=6)	7,82±0,07 <sup>**</sup> (n=5)	7,76±0,10 <sup>**</sup> (n=5)	7,72±0,11 <sup>**</sup> (n=5)	7,80±0,09 <sup>**</sup> (n=6)	7,80±0,15 <sup>**</sup> (n=6)	7,65±0,13 <sup>**</sup> (n=6)
Клиренс креатинина, мл в минуту	F(7,37)=1,23; p=0,3136	1,09±0,11 (n=6)	0,77±0,15 (n=6)	0,91±0,061 (n=5)	0,91±0,03 (n=5)	1,06±0,06 (n=5)	1,01±0,09 (n=6)	1,04±0,15 (n=6)	1,04±0,10 (n=6)
Соотношение оксалат/креатинин в моче × 1000	F(7,37)=9,93; p<0,0001	3,69±0,24 (n=6)	10,69±0,66* (n=6)	5,09±0,4 <sup>**</sup> (n=5)	5,63±1,17 <sup>**</sup> (n=5)	4,81±0,68 <sup>**</sup> (n=5)	5,1±0,7 <sup>**</sup> (n=6)	5,74±0,99 <sup>**</sup> (n=6)	6,05±0,78 <sup>*,**</sup> (n=6)
Количество кристаллов оксалата в 10 мкл мочевого осадка	F(7,37)=18,38 p<0,0001	2±1 (n=6)	105±12* (n=6)	33±7 <sup>*,**</sup> (n=5)	44±5 <sup>*,**</sup> (n=5)	42±9 <sup>*,**</sup> (n=5)	46±8 <sup>*,**</sup> (n=6)	43±8 <sup>*,**</sup> (n=6)	54±7 <sup>*,**</sup> (n=6)

Примечание. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Statistika 6,0 с использованием однофакторного дисперсного анализа и критерия Дункана; \* — отличия достоверны от контроля; \*\* — отличия достоверны от группы животных, получавших натрия оксалат и цецекоксіб; \$ — достоверно от группы животных, получавших Mg L-аспарагинат + B<sub>6</sub>; † — достоверно от группы животных, получавших Mg L-аспарагинат; # — достоверно от группы животных, получавших Mg хлорид; ‡ — достоверно от группы животных, получавших магне B<sub>6</sub> (Mg лактат с витамином B<sub>6</sub>); † — отличия достоверны от группы животных, получавших Mg сульфат; n — количество животных в группе на момент измерения

несмотря на статистически значимые межгрупповые различия, в группах животных, получавших препараты магния, все изменения были в пределах верхних границ физиологической нормы.

Изменения состава мочи представлены в табл. 1. Концентрация магния в моче после введения солей. Результат ранжирования групп по показателю концентрации магния в моче выглядит следующим образом (табл. 1): Mg L-аспарагинат в комбинации с витамином B<sub>6</sub> > Mg хлорид в комбинации с витамином B<sub>6</sub> > Магне B<sub>6</sub> > Mg L-аспарагинат > Mg хлорид > Mg сульфат. Показатели групп животных, получавших Mg L-аспарагинат и Mg хлорид в комбинациях с витамином B<sub>6</sub>, между собой статистически значимо не различались, группа Mg L-аспарагината в комбинации с витамином B<sub>6</sub> достоверно отличалась от всех других групп, а Mg хлорида в комбинации с витамином B<sub>6</sub> — от группы Mg хлорида. Все показатели статистически значимо отличались от соответствующих показателей при использовании препарата сравнения Mg сульфата. Концентрация кальция в моче снизилась, что наряду с повышением уровня магния в моче приводило к существенному снижению соотношения кальций/магний мочи. В результате введения солей магния имело место снижение фракционной экскреции фосфора и кальция. Клиренс креатинина и фракционная экскреция магния в группах, получавших соли, возрастали по сравнению с группами контроля и опыта (табл. 1).

По степени коррекции гипероксалурии, выделения кристаллов оксалата кальция, повышению рН исследуемые соли проявили сходную эффективность, за исключением Mg сульфата, меньше всех способство-

вавшего компенсации патологических изменений, и по ряду показателей (концентрация оксалатов в моче и суточная экскреция оксалатов с мочой, клиренс креатинина) отличавшегося не только от группы патологии, но и контроля. При этом статистически значимые различия были выявлены только по степени коррекции выделения кристаллов с мочой между группами с Mg L-аспарагинатом в комбинации с витамином B<sub>6</sub> и Mg сульфатом.

Данные проведенного морфологического исследования свидетельствуют об уменьшении объемной доли кальцификатов в почках у животных, получавших соли магния, по сравнению с группой животных, получавших только натрия оксалат и целекоксид. Последний как известно усиливает цитотоксический эффект оксалата [10, 14]. При этом наиболее эффективными оказались магне B<sub>6</sub> и магния L-аспарагинат.

По литературным данным, магний способен оказывать тормозящее влияние на образование кристаллов кальция оксалата [13]. Однако данные, полученные ранее [11], не выявили достоверных различий. Возможно, это связано с тем, что в данном исследовании изучалось влияние на формирование кальций-оксалатного нефролитиаза магния оксида, который обладает низкой биодоступностью [7]. Ранее нами [9] было проведено исследование скорости компенсации дефицита магния различными органическими и неорганическими солями. Было показано, что магния хлорид и магния- L-аспарагинат наиболее эффективно компенсируют алиментарный дефицит и достоверно превосходят магния оксид по данному показателю. Магний конкурирует с оксалатами на этапе

Таблица 2

**Влияние солей магния (при пероральном введении) в дозе 50 мг элементарного магния /кг массы тела животного на некоторые показатели крови в условиях диеты, содержащей оксалат натрия и целекоксид, 28 день диеты, M±m**

Показатель	F-статистика	Интактный контроль	NaOx + целекоксид	Mg аспарагинат B <sub>6</sub> + NaOx + целекоксид	Mg аспарагинат + NaOx + целекоксид	Mg хлорид B <sub>6</sub> + NaOx + целекоксид	Mg хлорид + NaOx + целекоксид	МагнеB <sub>6</sub> + NaOx + целекоксид	Mg сульфат + NaOx + целекоксид
Магний эритроцитов, мМ/л	F(7,37)=22,72; p<0,0001	1,81±0,03 (n=6)	1,74±0,05 (n=6)	2,40±0,07 <sup>*,**</sup> , <sup>†,‡,§</sup> (n=5)	2,23±0,08 (n=5)	2,30±0,07 <sup>*,**</sup> , <sup>‡</sup> (n=5)	2,10±0,041 <sup>*,**</sup> (n=6)	2,17±0,05 <sup>*,**</sup> (n=6)	2,11±0,05 <sup>*,**</sup> (n=6)
Концентрация креатинина в плазме крови, мМ/л	F(7,37)=1,09; p=0,39	67,51±1,05 (n=6)	73,94±4,09 (n=6)	74,89±3,26 (n=5)	78,97±4,74 (n=5)	76,02±4,03 (n=5)	74,13±2,95 (n=6)	72,24±4,41 (n=6)	71,29±3,00 (n=6)
Концентрация фосфатов в плазме крови, мМ/л	F(7,37)=,56; p=0,78	1,00±0,033 (n=6)	0,95±0,05 (n=6)	1,00±0,07 (n=5)	0,98±0,05 (n=5)	0,94±0,06 (n=5)	0,96±0,05 (n=6)	0,91±0,04 (n=6)	0,93±0,06 (n=6)
Концентрация кальция в плазме крови, мМ/л	F(7,37)=1,29; p=0,2815	2,59±0,20 (n=6)	2,29±0,09 (n=6)	2,36±0,16 (n=5)	2,43±0,17 (n=5)	2,39±0,14 (n=5)	2,26±0,14 (n=6)	2,10±0,13 (n=6)	2,19±0,14 (n=6)

Примечание. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Statistika 6,0 с использованием однофакторного дисперсного анализа и критерия Дункана: \* — отличия достоверны от контроля; \*\* — отличия достоверны от группы животных, получавших натрия оксалат и целекоксид; § — достоверно от группы животных, получавших Mg L-аспарагинат + B<sub>6</sub>; † — достоверно от группы животных, получавших Mg L-аспарагинат; ‡ — достоверно от группы животных, получавших Mg хлорид; † — достоверно от группы животных, получавших Магне B<sub>6</sub> (Mg лактат с витамином B<sub>6</sub>), ‡ — отличия достоверны от группы животных, получавших Mg сульфат; n — количество животных в группе на момент измерения.

всасывания в кишечнике [6]. Кроме того, хотя достоверных изменений клиренса креатина отмечено не было, проявлялась тенденция к его снижению у крыс, получавших натрия оксалат и целекоксиб, что, возможно, связано с токсическими эффектами целекоксиба и цитотоксическим эффектом оксалата [14]. После введения солей магния происходило частичное возвращение клиренса креатинина к нормальным показателям. Антилитогенное действие магния связано с его способностью повышать рН мочи и увеличивать экскрецию цитрата, а также образовывать магния оксалат, обладающий большей растворимостью, чем кальция оксалат [11].

Таким образом, у животных, получавших на протяжении 28 сут. натрия оксалат и целекоксиб, сформировался нефролитиаз. В группах животных, которым вводили соли магния и их комбинации с витамином В<sub>6</sub> уро- и нефролитиаз был менее выраженным, при этом наиболее эффективными были препараты магне В<sub>6</sub> и магния L-аспарагинат.

*Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, региональный грант РФФИ «Поволжье» №07-04-96606 «Нарушения гомеостаза магния и его коррекция в патогенезе формирования уrolитиаза»*

### Список литературы

1. *Лопаткин Н.А., Мартов А.Г.* Состояние и перспективы развития урологической помощи в Российской Федерации // Матер. X Российского съезда урологов. — Москва, 2002. Официальный сайт Российского общества урологов. — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.uroline.ru/society/plenum/sjesd1.php3>
2. *Меньшиков В.В.* Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.М. Золотнинская. — М.: Медицина, 1987. — С. 266—267.
3. *Рыбина И.Л., Вошула В.И.* // БМЖ. — 2006. — №1. — С. 15.
4. *Сивориновский Г.А.* // Лабораторное дело. — 1969. — №7. — С. 401—404.
5. *Allegra A., Corica F., Ientile R.* et al. // Magnes. Res. — 1998. — Vol. 11, №1. — P. 11—18.
6. *Dobson D.M., Finalayson B.* // Surg. Forum. — 1973. — Vol. 24. — P. 540.
7. *Durlach J., Guiet-Bara A., Pages N.* et al. // Magnes. Res. — 2005. — Vol. 18, №3. — P. 187—192.
8. *Garsia-Rodríguez M.B., Peres-Garsia C.C., Rios-Granja M.A.* et al. // Vet. Res. — 2003. — Vol. 34. — P. 379—387.
9. *Iezhita I.N., Spasov A.A., Kravchenko M.S.* et al. // J Japan Soc Magnes Res. — 2006. — Vol. 25, №2. — P. 99.
10. *Jeong B.C., Park M.Y., Kwak C.* et al. // Urol Res. — 2005. — Vol. 33, №6. — P. 453—459.
11. *Khan S.R., Shevock P.N., Hackett R.L.* // J. Urol. — 1993. — Vol. 149. — P. 412—416.
12. *Kohri K., Garside J., Blacklock N.J.* // Br. J. Urol. — 1988. — Vol. 133. — P. 123—125.
13. *Prien E.L., Gershoff S.N.* // J. Urol. — 1974. — Vol. 112. — P. 509.
14. *Sarica K., Erbagci A., Yagci F.* et al. // Urol. Res. — 2004. — Vol. 32, №4. — P. 271—277.

Поступила 07.07.10

### Сведения об авторах:

*Иежица Игорь Николаевич*, канд. биол. наук, доцент, ст. науч. сотр., лаб. лекарственной безопасности НИИ фармакологии ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава РФ

*Снигур Григорий Леонидович*, канд. мед. наук, ассистент каф. патологической анатомии ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава РФ

*Харитоновна Мария Валериевна*, канд. мед. наук, ассистент каф. фармакологии ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава РФ

*Кравченко Мария Сергеевна*, канд. фарм. наук, мл. науч. сотр. лаб. лекарственной безопасности НИИ фармакологии ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава РФ

© Коллектив авторов, 2013  
УДК 616-092

Б.И. Кузник<sup>1</sup>, И.А. Файн<sup>2</sup>, А.В. Каминский<sup>2</sup>, О.Г. Максимова<sup>1</sup>, Е.М. Кустовская<sup>1</sup>

## ***SKF как показатель биологического возраста системы гемостаза и сосудов у детей и взрослых в условиях нормы и патологии***

<sup>1</sup> Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 672090, Забайкальский край, Чита, ул. Горького, 39а

<sup>2</sup> Elfi-Tech Ltd, Rehovot, Israel

*Предлагается неинвазивный метод для определения биологического возраста здоровых и больных людей, основанный на исследовании состояния системы гемостаза и сосудистой стенки. С этой целью вводится коэффициент SKF, отражающий скорость Броуновского движения эритроцитов в замкнутом отрезке сосуда. Показано, что чем тяжелее протекает заболевание, тем сильнее изменяется коэффициент SKF. Особенно выражено повышается SKF при сердечно-сосудистых и онкологических заболеваниях, а также при сахарном диабете. Приводятся доказательства, что SKF зависит от вязкости плазмы и крови, в значительной мере определяемой состоянием системы гемостаза. Кроме того, на коэффициент SKF оказывает влияние состояние сосудистой стенки.*

**Ключевые слова:** SKF, биологический возраст, гемостаз, сосудистая стенка

B.I. Kuznik<sup>1</sup>, I.A. Fain<sup>2</sup>, A.V. Kaminski<sup>2</sup>, O.G. Maksimova<sup>1</sup>, E.M. Kustovskaya<sup>1</sup>

## ***SKF-index as an indicator of biological age of hemostasis and blood vessels in children and adults in norm and pathology***

<sup>1</sup> Chita State Medical Academy, 39a, Gorkogo str., Chita, 672090, Zabaykalsky Krai, Russia

<sup>2</sup> Elfi-Tech Ltd, Rehovot, Israel

*A novel noninvasive method of an assessment of the hemostasis system and the vascular walls functioning is proposed. This method is based on the methodology of dynamic light scattering (DLS). New index SKF, which is derived from the previously established relationship between the intravascular mobility of the erythrocytes and the biological age, has been introduced. We demonstrated that the degree of the severity of the diseases correlates with the SKF index. More specifically, an increased value of the SKF index was found for the groups with cardio-vascular, oncological diseases and diabetes mellitus. In addition we provided evidences that the SKF index depends on the blood and plasma viscosity related to activity stage of the hemostasis system as well as on the functioning of the vascular walls.*

**Key words:** SKF, biological age, hemostasis, vascular wall

В настоящее время в клиническую практику все шире внедряются неинвазивные методы изучения состава и физико-химических свойств крови. К таковым, в частности, относится способ пульсоксиметрии, применяемый для определения оксигенации артериальной крови [12]. Сравнительно недавно была предложена методика так называемой окклюзионной спектроскопии (ОС), основанная на искусственной остановке кровотока на периферии с измерением оптического отклика на разных длинах волн [11].

Нами [6, 7] был предложен метод, позволяющий оценивать степень вязкости плазмы и кинетику агрегации эритроцитов. Этот способ основывается на комбинации

окклюзионной спектроскопии (ОС) и методики динамического рассеивания света (ДРС). Разработанный аппарат [11] реализует методику измерения изучаемых параметров на пальце по аналогии с пульс-оксигемометром. Методом ДРС осуществляется измерение рассеянного когерентного света. По виду спектра мощности флуктуаций и интенсивности рассеянного света можно рассчитать диаметр частиц, а также их распределение по размерам. Известно, что сигнал ДРС применяется как оптический метод для измерения подвижности рассеивающих свет частиц в суспензии. В классической методике ДРС измеряется временем затухания автокорреляционной функции. При использовании методики ДРС с целью измерения подвижности эритроцитов *in vivo* учитывается тот факт, что качественное описание автокорреляционной функции затруднено из-за ограниченного времени измерения и двигательных помех. Вот почему с этой целью используется более грубая, но

**Для корреспонденции:** Кузник Борис Ильич, д-р мед. наук, проф. каф. нормальной физиологии ФГБОУ ВПО «ЧГМА» Минздрава РФ. E-mail: bi\_kuznik@mail.ru



устойчивая интегральная характеристика Фурье спектра сигнала S. Эта величина служит показателем, отражающим движение эритроцитов.

Как было установлено ранее [8, 10], величина S линейным образом связана с логарифмическим показателем возраста людей, т.е.  $\log$  возраста равен  $\alpha \times S + \alpha$ , где коэффициенты  $\alpha$  и  $\beta$  определяются методом наименьших квадратов, как дающие минимальную ошибку между  $\log$  (возраста) и  $SKF = \alpha \times S + \beta$ . Предлагаемый нами коэффициент SKF (по фамилии авторов — Shenkman, Kuznik, Fine) равен  $\alpha \times S + \beta$  и является неким биологическим эквивалентом подвижности эритроцитов, выраженным в логарифмических единицах возраста. Коэффициенты  $\alpha$  и  $\beta$  фиксируются после калибровки и таким образом SKF это прямая и однозначная функция величины S. В то же время величина SKF более удобна для использования, чем S, из-за того, что ей можно приписать вполне определенный биологический смысл. В наших исследованиях коэффициент SKF отражает подвижность эритроцитов в искусственно замкнутом отрезке сосуда. Понятно, что величина SKF зависит от множества факторов, обсуждаемых в данном сообщении.

Далее нами было показано, что существует прямая корреляция между индексом SKF и возрастом обследуемых, т.е. чем больше возраст испытуемого, тем больше величина SKF [3, 10]. Естественно возникло предположение, что с помощью определения SKF можно судить о биологическом возрасте человека, как в условиях нормы, так и патологии.

*Цель исследования* — определение SKF при широком спектре заболеваний у людей разного возраста, а также выяснение механизма указанных сдвигов.

### Методика

Наши наблюдения были проведены на 865 относительно здоровых и больных людях (мужчинах и женщинах) в возрасте от 1,5 до 85 лет с самой различной патологией. Здоровые лица составили 1-ю группу исследований (1). Все больные по тяжести патологического процесса условно были разделены на 2 группы: легкой и средней степени тяжести — 2-я группа; тяжелые больные составили 3-ю группу. К легкой группе заболевания мы отнесли пациентов, находящихся в стадии ремиссии; к

тяжелой — в острой стадии или в период обострения. Кроме того, к тяжелым больным мы причислили пациентов, перенесших инфаркты и инсульты, страдающих расстройствами кровообращения, проходящих курс химиотерапии после операционного вмешательства по поводу различных онкологических заболеваний, а также с диффузными поражениями соединительной ткани (ревматоидный артрит, СКВ). У всех испытуемых были проведены измерения оптического спектр-сигнала отраженного света прибором ELFI-3 [6—8], которые сводятся к следующим действиям. Больной может находиться в положении сидя или лёжа. Сенсор прикрепляется к основанию среднего или указательного пальца. Оператор активирует начало измерения через компьютер и на пневматическое кольцо подается давление 280 мм рт. ст. В течение 0,1 с происходит сдавливание сосудов в месте измерения и оптическая система начинает освещать пережатый участок пальца. Измеренный сигнал сохраняется в памяти компьютера для дальнейшей обработки. Через 20 с давление сбрасывается до нуля. После 15 с после перерыва проводилось повторное измерение. Всего выполнено 5 последовательных определений.

*Статистическая обработка материала.* Коэффициент линейной корреляции и существование различий (R и r) между SKF и логарифмом возраста были вычислены в соответствии с классическим определением Пирсона.

### Результаты и обсуждение

Одной из основных задач исследований было сравнение коэффициента SKF у здоровых и больных людей одной и той же возрастной группы (таб. 1).

Проведенные исследования показали, что чем больше возраст человека, тем больше SKF, и чем тяжелее протекает заболевание, тем сильнее возрастает SKF. Исключение из этого правила составляет лишь группа здоровых и больных людей в возрастной группе старше 35—59 лет. В этой группе SKF был таким же, как и у людей более старшего возраста. Это явление вполне объяснимо. Известно, что после 40—50 лет у большинства людей, считающих себя практически здоровых, выявляется атеросклероз и нередко — первые признаки гипертонической болезни, о чем пациенты даже не догадыва-

Зависимость коэффициента SKF от возраста и тяжести заболевания (M±SD)

Таблица 1

Группы	Возраст (лет)													
	1—5		6—9		10—15		16—18		19—34		35—59		>60	
	N	M±SD	N	M±SD	N	M±SD	N	M±SD	N	M±SD	N	M±SD	N	M±SD
1	38	0,89±0,16	119	1,00±0,17	81	1,04±0,20	17	1,11±0,18	153	1,30±0,16	53	1,40±0,15	10	1,43±0,05
2	52	0,92±0,16	36	1,04±0,19	73	1,09±0,20	18	1,22±0,25	19	1,37±0,25	43	1,42±0,2	18	1,45±0,12
3	13	1,04±0,78	17	1,00±0,24	43	1,18±0,16	45	1,28±0,17	—	—	36	1,47±0,1	10	1,45±0,18

Примечание. 1 — здоровые; 2 — больные с лёгкой и средней степенью тяжести; 3 — тяжелобольные; N — число обследованных

ются. Что же касается людей старше 60 лет, то у всех у них обнаруживаются атеросклеротические изменения в аорте. Это объясняет отсутствие существенной разницы в коэффициенте SKF в указанных возрастных группах. Кроме того, в группе здоровых людей в возрасте старше 60 лет оказалось сравнительно мало обследованных людей, что могло сказаться на результатах исследований.

В следующей серии изучено изменение коэффициента SKF у людей различного возраста, страдающих онкологическими (включая лейкозы) заболеваниями, сердечно-сосудистой патологией и сахарным диабетом 1-го и 2-го типов. В связи с относительно малым числом наблюдений, нам пришлось объединить отдельные возрастные группы. При этом средний возраст в группах здоровых и больных с различной патологией оказался сопоставимым (табл. 2).

Как видно из представленных данных, с увеличением возраста существенно возрастает коэффициент SKF. У онкологических больных, находящихся в стадии ремиссии, и у пациентов с сердечно-сосудистой патологией наблюдается значительное повышение SKF. Особенно резко возрастает SKF у детей больных сахарным диабетом.

Известно, что при онкологических заболеваниях, патологии сердечно-сосудистой системы и сахарном диабете 1-го и 2-го типов не только усиливается внутрисосудистое свёртывание крови вплоть до развития хронической стадии ДВС [1, 2, 3, 13] но и проявляется эндотелиаль-

ная дисфункция [1, 4, 5]. Решено было выяснить, в какой степени индекс SKF зависит от состояния свёртывающей системы крови, во многом определяющей её вязкость. В связи со сказанным изучены взаимосвязи между SKF и основными параметрами, характеризующими состояние коагуляционного гемостаза (табл. 3).

Представленные данные свидетельствуют, что относительно высокие коэффициенты корреляции обнаружены между исследуемым сигналом и МНО (международное нормализованное отношение), протромбиновым индексом, концентрацией протеина С, РФМК, РФМК + D-димер.

Таким образом, одним из ведущих факторов, определяющих величину SKF, является состояние свёртывающей системы крови. Известно, что содержание РФМК отражает интенсивность внутрисосудистого свёртывания крови. Высокая корреляционная взаимосвязь между показателями оптического сигнала и РФМК позволяет прийти к выводу, что с помощью предлагаемого метода можно составить общее представление об интенсивности внутрисосудистого свёртывания крови. Если к этому прибавить, что существует относительно высокая корреляция оптического эквивалента с уровнем фибриногена, то с помощью этого параметра и уровня РФМК можно с большой долей вероятности предположить наличие ги-

Таблица 2

Коэффициент SKF у здоровых и больных людей (онкологические заболевания, патология сердечно-сосудистой системы и сахарный диабет) различного возраста

Группы	Возраст (лет)					
	2 — 10		11 — 18		36 — 85	
	N	M±SD	N	M±SD	N	M±SD
Здоровые	171	0,98±0,18	87	1,06±0,19	83	1,426±0,14
Онкологические заболевания	10	1,021±0,2	13	1,187±0,17		
Заболевания сердечно-сосудистой системы	20	1,05±0,19	52	1,16±0,19	74	1,432±0,16
Сахарный диабет			17	1,28±0,2		

Таблица 3

Сравнительный анализ лабораторных тестов, характеризующих состояние гемостаза, и неинвазивных измерений

Параметр	Диапазон	Среднее	Стандартное отклонение	Корреляция, R (p)
АПТВ, с	20,6—79	35	8,6	0,27 (0,07)
МНО	0,81—5,8	1,3	0,75	0,55 (0,00012)
Протромбиновый индекс, %	10,4—142	83	32	0,54 (0,0012)
Протеин С, %	23,4—186	47	33	0,6 (0,000025)
АТ III, %	35—151	97	24	0,11 (0,5)
Фибриноген, г/л	1,4—7,16	3,7	1,08	0,35, (0,001)
D-димер мг/л	0,04—4	0,78	0,8	0,18 (0,028)
Плазминоген, %	58—140	103	18	0,2 (0,1)
I/фибриноген + РФМК, г/л	0,035—0,227	0,11	0,036	0,65 (5×10 <sup>-7</sup> )
СОЭ, мм/ч	3—66	20	17,5	0,37 (0,002)

Примечание. В скобках указан показатель достоверности (p)

перкоагуляционного синдрома и даже его переход в диссеминированное внутрисосудистое свёртывание крови.

В то же время обнаружены высокие корреляционные связи между показателями МНО, протромбиновым индексом, с одной стороны, и измеряемым оптическим сигналом, — с другой. Полученные факты свидетельствуют о том, что с помощью измерения оптического сигнала можно контролировать и корректировать приём непрямых антикоагулянтов, поддерживая необходимый уровень протромбина (1). Представленные данные позволяют придти к заключению, что SKF в значительной степени зависит от подвижности эритроцитов, определяемой вязкостью плазмы и крови, значительно возрастающей у пожилых и старых людей [3, 8, 12].

Нам представляется, что вторым компонентом, влияющим на показатель SKF, является состояние сосудистой стенки, во многом определяющее уровень кровяного давления. Известно, что сосудистая стенка экспрессирует тканевой фактор (ТФ), естественные антикоагулянты и ингибиторы фибринолиза, определяющие ее роль в процессах свёртывания крови [1, 2, 4, 5]. При тяжелых заболеваниях, независимо от их природы, экспрессия ТФ резко возрастает, а секреция естественных антикоагулянтов и фибринолитических агентов значительно снижается [1, 4, 5, 9]. Вот почему при атеросклерозе, сопровождающемся расстройствами со стороны сердечно-сосудистой системы (инфаркты миокарда, ишемические и геморрагические инсульты, нарушение кровообращения), онкологических заболеваниях, врожденных и приобретенных тромбофилиях, сахарном диабете аутоиммунных процессах и др. отмечается развитие гиперкоагуляции и торможение фибринолиза [1]. Всё это приводит к повышению вязкости крови и, как следствие, снижению подвижности эритроцитов. Об этом, в частности, говорят и наши данные, представленные в таблицах, ибо, чем тяжелее протекает заболевание, тем сильнее повышается SKF независимо от возраста.

Представленные сведения позволяют сделать заключение, что коэффициент SKF с большой долей вероятности свидетельствует о биологическом возрасте человека, ибо последний в основном определяется состоянием его внутренней среды и сердечно-сосудистой системы. Заболевания, приводящие к изменению состава крови и состояния сосудистой стенки, сопровождаются увеличением биологического возраста. Разумеется, при острых заболеваниях это явление носит временный характер, после завершения патологического процесса SKF возвращается к

норме. Иное наблюдается при развитии таких хронических заболеваний, как атеросклероз, сопровождающийся тяжелыми расстройствами деятельности сердечно-сосудистой системы, онкологическая патология и сахарным диабетом. В этих случаях показатель SKF демонстрирует стабильно высокие цифры (биологический возраст увеличен). С улучшением состояния наблюдается его снижение, однако, не достигающее, как правило, нормы.

### Список литературы

1. **Кузник Б.И.** Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. — Чита: Экспресс-издательство, 2010. — 828 с.
2. **Кузник Б.И., Скипетров В.П.** Форменные элементы крови, сосудистая стенка, гемостаз и тромбоз. — М.: Медицина, 1974. — 320 с.
3. **Кузник Б.И., Файн И.А., Ройтман Е.В., Каминский А.В.** Неинвазивные методы исследования системы гемостаза // Тромбоз, гемостаз, реология. — 2011. — №1. — С. 40—48.
4. **Bruinstoop E., van de Ree M.A., Huisman M.V.** The use of d-dimer in specific clinical conditions: a narrative review // Eur. J. Intern. Med. — 2009. — Vol. 20. — P. 441—446.
5. **Cosmi B., Lrgnani C., Tosetto A.** Sex, age and normal post-anticoagulation D-dimer as risk factors for recurrence after idiopathic venous Thromboembolism in the prolong study extension // J. Thrombosis and haemostasis. — 2010. — Vol. 8, №9. — P. 1933—1942.
6. **Fine I., Kaminsky A.** In vivo dynamic light scattering measurements of red blood cell aggregation // Proc. of SPIE. 2007. — Vol. 6436. — P. 64360C-1 — 64360C-10.
7. **Fine I., Kaminsky A.** Speckle-based measurement of the light scattering by red blood cells // Proc. SPIE. — 2011. — P. 78980A-1 — 78980A-14.
8. **Fine I., Kaminsky A., Kuznik B., Shenkman L.** A non-invasive method for the assessment of hemostasis in vivo by using dynamic light scattering // Laser Physics. — 2012. — Vol. 22, №2. — P. 1—7.
9. **Hinsbergh von V.W.M.** The endothelium: vascular control of haemostasis // Europ. J. Obstetr. Gynec. Reprod. Biol. — 2001. — Vol. 95. — P. 198—201.
10. **Kuznik B.I., Fine I.A., Kaminsky A.V.** Non-invasive method of the examination of the hemostatic system // Bull. Exp. Biol. Med. — 2011. — Vol. 151, №5. — P. 594—597.
11. **Goldberg W.I.** Dynamic Light Scattering. // Am. J. Phys. — 1999. — Vol. 67(12). — P. 1152—1160.
12. **Popel A.S., Johnson P.C.** Microcirculation and hemorheology // Annu. Rev. Fluid. Mech. — 2005. — Vol. 37, №43. — P. 69.
13. **Vitcovsky Y., Kuznik B., Solpov A., Magen E.** Status of platelet-lymphocyte aggregation in circulating blood of patients type 1 diabetes with and without diabetic neuropathy // IMAJ. — 2008, №10. — P. 691—694.

Поступила 12.10.12

М.Ф. Уткина<sup>1</sup>, С.А. Румянцев<sup>2</sup>, Е.Н. Архипова<sup>3</sup>, О.К. Трухина<sup>1</sup>, И.Б. Алчинова<sup>3</sup>

## **Результаты применения метода лазерной корреляционной спектроскопии при динамическом наблюдении детей и подростков с железодефицитной анемией**

<sup>1</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Детская городская поликлиника №150, 109451, Москва, ул. Братиславская, 1

<sup>2</sup> Федеральное государственное учреждение Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Министерства Здравоохранения РФ, 117997, Москва, просп. Ленинский (дублер), 117, к. 2

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

*С помощью метода лазерной корреляционной спектроскопии установлено распределение субклеточных частиц в сыворотке крови детей с железодефицитной анемией. Сравнение полученных результатов с данными стандартных клинических исследований показало высокую информативность разрабатываемого подхода. Была выявлена группа риска по развитию анемии. Обнаружены различия в направлении метаболических сдвигов у детей до и после терапии.*

**Ключевые слова:** лазерная корреляционная спектроскопия, железодефицитная анемия, группы риска, распределение частиц сыворотки крови по размерам

M.F. Utkina<sup>1</sup>, S.A. Rumjancev<sup>2</sup>, E.N. Arhipova<sup>3</sup>, O.K. Truhina<sup>1</sup>, I.B. Alchinova<sup>3</sup>

## **The results of laser correlation spectroscopy method for dynamic monitoring of children and adolescents with iron deficient anemia**

<sup>1</sup> City children polyclinic №150, 1, Bratislavskaya str., Moscow, 109451, Russia

<sup>2</sup> Federal Scientific Clinical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology named by Dmitry Rogachev, 117-2, Leninskiy prosp., Moscow, 117997, Russia

<sup>3</sup> The Institute for General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

*Using laser correlation spectroscopy method, we evaluated the distribution of subcellular components of blood serum from children with iron-deficient anemia. Comparison of the obtained results with the data of standard clinical studies demonstrated high information value of the developed approach. Risk group for anemia was determined. We revealed differences in the direction of metabolic shifts in children before and after therapy.*

**Key words:** laser correlation spectroscopy, iron-deficient anemia, risk groups, distribution of subcellular components of blood serum

Железодефицитная анемия (ЖДА) — это приобретенное заболевание из группы дефицитных анемий, где основным патогенетическим фактором является недостаток железа в организме. ЖДА встречается во всех странах мира, но распространенность ее зависит от многих причин: социально-экономических условий, характера питания [12]. По данным Всероссийской диспансеризации детского населения от 2002 г. железодефицитные анемии, по-прежнему, являются значимой проблемой детской гематологии, педиатрии и детского здравоохранения. ЖДА составляет 90% от всех анемических состояний у детей, и встречаемость

этого заболевания за последние годы только возрастает. Так за период с 1992 по 2002 гг. распространенность ЖДА у детей в возрасте до 15 лет возросла с 452 до 1821 случая на 100 тыс. населения соответствующего возраста, а у подростков 15—18 лет — с 103 до 591 [8, 11].

Основными причинами дефицита железа, рассматриваемыми в педиатрической практике, являются алиментарный дефицит железа, как следствие несбалансированного питания, потери железа, превышающие физиологические, дефицит железа при рождении, повышенные потребности организма в железе во время активного роста ребенка. Такие алиментарно-зависимые факторы, как сниженное всасывание и увеличенные потери железа, характер-

**Для корреспонденции:** Уткина Мария Федоровна, окружной детский гематолог ЮВАО г.Москвы, ГБУЗ ДГП №150. E-mail: mfutkina@yandex.ru

ны для подросткового возраста, в связи с сочетанной патологией ЖКТ, наличием маточных кровотечений [10, 12].

В настоящее время, особое внимание уделяется контролю по улучшению качества диспансерного наблюдения детского населения в рамках первичного звена здравоохранения, так как своевременная диагностика заболеваний на практике напрямую зависит от качества и регулярности проводимой диспансеризации детей и подростков [13].

Критерии клиничко-лабораторной диагностики ЖДА — это совокупность сидеропенического и анемического синдромов, оценка результатов лабораторного обследования. В клиническом анализе крови (ОАК) ориентируются на снижение концентрации гемоглобина менее 110 г/л, незначительное снижение количества эритроцитов менее  $3,8 \times 10^{12}$ /л, нормальное содержание ретикулоцитов до 0,2%, гипохромия, анизоцитоз, пойкилоцитоз эритроцитов, увеличение СОЭ более 10—12 мм/ч. В биохимическом анализе крови (БХАК) оценивают: снижение концентрации сывороточного железа (СЖ) менее 12,5 мкмоль/л, повышение общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС) более 69 мкмоль/л, снижение коэффициента насыщения трансферрина железом (КНТ) менее 17%, снижение концентрации сывороточного ферритина (СФ) менее 30 нг/мл [12, 15].

При изучении патогенеза этого заболевания особое место уделяется выявлению групп риска по конкретным нозологиям. Формирование групп риска у детей осуществляется при учете наследственных факторов, оценке антенатального и неонатального периодов развития, условий жизни, экологической обстановки, профессиональных вредностей родителей. Особое внимание уделяется разработке и применению малоинвазивных методов обследования.

Учитывая уже имеющийся опыт применения экспрессного метода лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС) в различных отраслях медицины [1, 2, 3], в частности, в онкологии [9], онкопроктологии [5], в вирусологии [4], в гематологии [7], представляет интерес проведение оценки использования результатов лазерной корреляционной спектроскопии, в качестве дополнительного критерия при определении групп риска по развитию хронической патологии у детей и подростков [6]. Также с целью оценки эффективности терапии препаратами железа в динамике, в практической работе врача-гематолога в комплексе с результатами клиничко-лабораторного обследования были применены данные исследования сыворотки крови методом ЛКС детей и подростков, состоящих на диспансерном наблюдении с диагнозом ЖДА.

## Методика

Под наблюдением в окружном гематологическом кабинете ЮВАО Детской городской поликлиники №150 г.Москвы находились дети и подростки с диагнозом *железодефицитная анемия D50.8*. Группа состояла из 25 чел., из них в возрасте от 0 до 3 лет — 16 чел., от 3 до 7 лет — 4 чел., от 7 до 14 лет — 2 чел., от 14 до 18 лет — 3 чел.

Контрольная группа условно здоровых детей и подростков состояла из 60 чел. (Z00.1 — дети до 1 года, Z00.2 — дети до 14 лет, Z00.3 — подростки), в возрасте от 0 до 3 лет — 8 чел., от 3 до 7 лет — 13 чел., от 7 до 14 лет — 33 чел., от 14 до 18 лет — 6 чел.

Всем детям и подросткам было проведено физикальное и клиничко-лабораторное обследование и ЛК-спектрометрия сыворотки крови. Клинический анализ крови выполняли с помощью полуавтоматического гематологического анализатора Swelab AC910EO+ на 18 параметров, с определением СОЭ и обязательным подсчетом лейкоцитарной формулы, ретикулоцитов и тромбоцитов. Биохимическое исследование сыворотки крови было проведено в следующем объеме: печеночные трансаминазы, ЦФ, ЛДГ, СЖ, общий белок, общий билирубин, глюкоза, мочевина, креатинин.

Исследование сыворотки крови методом ЛКС выполняли с помощью прибора ЛКС-03-«ИНТОКС», который предназначен для определения процентного вклада в светорассеяние частиц разного размера в биологических жидкостях [14].

Для удобства анализа полученных ЛК-спектров сыворотки крови пациентов, принятый семиотический классификатор в этой работе был адаптирован для обработки данных групп детей с гематологической патологией. Эмпирическое исследование свыше 200 ЛК-гистограмм позволило выделить три информативные зоны: I зона — суммарный вклад в светорассеяние частиц размером 0—16 нм, II зона — 17—90 нм, III зона — более 91 нм.

Обследование проводили после получения информированного согласия родителей.

## Результаты и обсуждение

В результате проведенных наблюдений рассмотрено комплексное использование данных стандартных клиничко-лабораторных исследований и данных исследования сыворотки крови методом ЛКС.

Контрольная группа детей и подростков была создана при прохождении плановой диспансеризации, которая включала в себя: осмотр педиатра и оценку состояния здоровья узкими специалистами (невролог,

ЛОР, окулист, хирург, ортопед), проведение лабораторных исследований (ОАК, БХАК).

По результатам обследования, у 14 чел. (23,3%), на момент диспансеризации, было выявлено наличие ОРЗ без идентификации возбудителя. Рассматривая возрастные характеристики, отмечено, что клиническая картина ОРЗ чаще встречалась в группе подростков (33,4%) и детей в возрасте от 3 до 7 лет (30,8%). Минимальное количество детей с ОРЗ было выявлено в группе от 7 до 14 лет (18,2%). Максимальное количество пациентов с латентным дефицитом железа отмечено в подростковой группе (33,4%).

Выявлено, что в группе детей в возрасте от 0 до 3 лет (n=8) у 2 чел. (25%) в ОАК был зарегистрирован лейкоцитоз, моноцитоз, ускорение СОЭ. В БХАК у одного человека (12,5%) выявлено увеличение фракций ЛДГ. В группе детей от 3 до 7 лет (n=13) в гемограмме реактивные изменения лейкоцитарной формулы отмечены у 4 чел. (30,8%), в БХАК сидеропения выявлена у трёх детей (23,1%), увеличение показателей ЦФ — у 1 человека (7,7%). В группе детей от 7 до 14 лет (n=33) в ОАК лейкоцитоз, моноцитоз, тромбоцитоз зарегистрированы у 6 чел. (18,2%). В БХАК сидеропения была выявлена у пяти детей (15,2%), увеличение показателей ЦФ отмечено у 7 чел. (21,2%). Среди подростков от 14 до 18 лет (n=6) в ОАК реактивные изменения лейкоцитарной формулы зафиксированы у 2 чел. (33,4%). В БХАК сидеропения выявлена у двух подростков (33,4%), увеличение фракций ЦФ и ЛДГ отмечено также у двух человек (33,4%) равнопроцентно, билирубинемия выявлена у одного подростка (16,7%).

Возрастная характеристика суммарных гистограмм контрольной группы пациентов представлена на рис. 1.

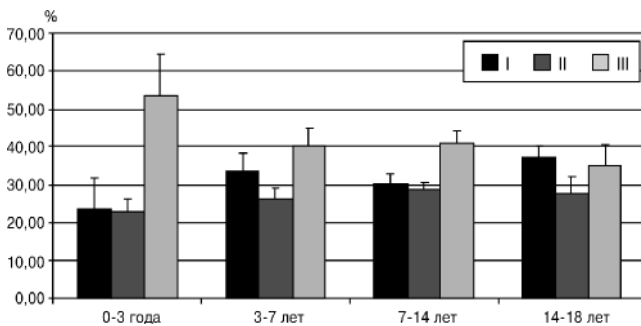


Рис. 1. Суммарные ЛК-гистограммы контрольной группы пациентов различного возраста:

По оси ординат — вклад в светорассеяние, %;

По оси абсцисс: I зона — суммарный вклад в светорассеяние частиц размером 0—16 нм; II зона — 17—90 нм; III зона — более 91 нм

Значимых различий ЛК-гистограмм детей различного возраста обнаружено не было. Наиболее близкой гистограммой, характеризующей практически здорового ребенка, следует считать суммарную ЛК — гистограмму детей от 7 до 14 лет, так как в этой группе была выявлена самая низкая встречаемость ОРЗ, что является условием достоверности результатов исследования методом ЛКС.

Группа детей с верифицированным диагнозом ЖДА составила 25 чел. Патология исследуемых была доказана клинико-лабораторными методами, во всех случаях диагностирована анемия I—III степени, сидеропения.

По данным исследования сыворотки крови методом ЛКС пациентов с диагнозом ЖДА выявлено, что в 72% случаев на гистограммах преобладала III зона ЛК-спектра, отражающая наличие крупных молекулярных частиц размером более 91 нм (рис. 2).

Полученные результаты позволили использовать данные ЛКС совместно с показателями стандартных клинико-лабораторных исследований при динамическом наблюдении детей и подростков с диагнозом ЖДА на фоне проводимой терапии препаратами железа.

На основании результатов анамнеза, физикального осмотра, клинического (Hb, MCV, MCH, MCHC, RDW, ретикулоциты) и биохимического исследований (СЖ, СФ, ОЖСС, ЛЖСС, КНТ) крови в группе детей и подростков с диагнозом ЖДА (n=25) во всех случаях были диагностированы сидеропенический и анемический синдромы, анемия I—III степени, сидеропения. Данные комплексного обследования 6 пациентов (24%), были оценены в динамике от 3 до 6 мес., на фоне лечения препаратами железа (III) гидроксид полимальтозата. Препарат Феррум Лек был назначен в форме сиропа (50 мг/5 мл 100 мл) детям в возрасте от 0 до 10 лет, в форме жевательных таблеток (100 мг №30) — де-

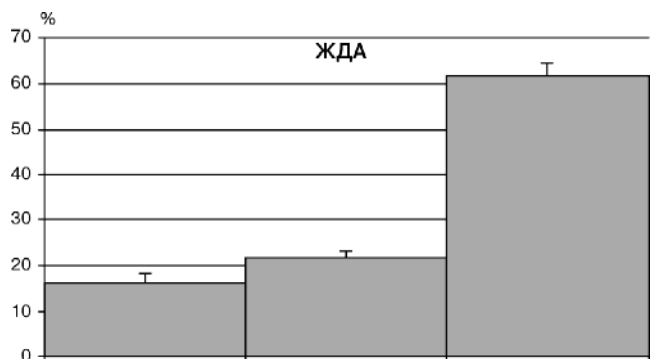


Рис. 2. Суммарная ЛК-гистограмма сыворотки крови группы детей с диагнозом ЖДА:

По оси ординат — вклад в светорассеяние, %;

По оси абсцисс: I зона — суммарный вклад в светорассеяние частиц размером 0—16 нм; II зона — 17—90 нм; III зона — более 91 нм

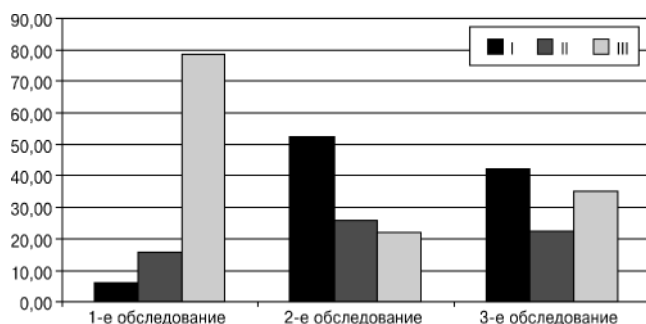


Рис. 3. Динамика суммарных ЛК-гистограмм на фоне лечения препаратами железа. Пациент В., 1 год 2 мес.: По оси ординат — вклад в светорассеяние, %; По оси абсцисс: I зона — суммарный вклад в светорассеяние частиц размером 0—16 нм; II зона — 17—90 нм; III зона — более 91 нм

тям и подросткам от 10 до 18 лет. Доза терапии (от 3 до 8 мг/кг) и длительность курса лечения (от 3 до 6 мес.) зависела от массы тела пациента и степени анемии с учетом терапевтического плана поликлинического отделения. По результатам клинко-лабораторных исследований в процессе лечения препаратами железа была зарегистрирована положительная динамика: ретикулоцитарная реакция на 10-й день от начала терапии, начало повышения уровня гемоглобина после месяца лечения на 10 г/л и повышение гематокрита на 2—3%, исчезновение жалоб и клинических проявлений анемии, нормализация показателей СЖ, восстановление эритроцитарных индексов. По данным динамических обследований, у 4 чел. (16%) было выявлено наличие ОРЗ и у трёх пациентов (12%) подтверждено наличие сопутствующей соматической патологии (атопический дерматит, аллергический ринит).

При динамической оценке результатов исследования сыворотки крови методом ЛКС пациентов с диагнозом ЖДА на фоне лечения железосодержащими препаратами, были выявлены диагностически-значимые закономерности: гистограммы представлены снижением столбца III зоны во всех группах исследуемых (рис. 3).

Получение достоверного результата при исследовании сыворотки крови методом ЛКС возможно при условии отсутствия сопутствующих инфекционных заболеваний. Выраженное преобладание III зоны на ЛК-гистограммах у пациентов с ЖДА позволило выделить в контрольной выборке группу детей (группу риска) со сходными гистограммами, что заставляет уделить им больше внимания и провести дополнительные исследования с целью исключения хронической патологии, в данном случае, определяющие наличие дефицита железа.

Таким образом, в работе впервые были сопоставлены результаты двух принципиально разных методов исследования: результаты клинко-лабораторного обследования и данные исследования сыворотки крови методом ЛКС. Сочетанное применение этих методов позволит в дальнейшем более плодотворно использовать их с целью динамического наблюдения за больными с оценкой эффективности проводимой терапии. Основными методами обследования при диспансерном наблюдении с целью вторичной профилактики ЛДЖ и ЖДА являются клинко-лабораторные исследования. Но, учитывая высокую пропускную способность прибора ЛКС-03-«ИНТОКС», отсутствие необходимости в расходных реактивах и простоту выполнения измерений, появляется возможность сокращения временного интервала контрольного мониторинга проводимой терапии. Комплексное использование представленных методов также целесообразно применить в ходе диспансерных обследований с целью формирования групп риска по развитию хронических заболеваний. Учитывая выявленные изменения в метаболизме конкретного ребенка, появляется возможность своевременно проводить индивидуальные профилактические мероприятия и оценить объем необходимой диагностической помощи.

### Список литературы

1. *Бажора Ю.И., Кресюн В.И., Носкин Л.А.*, и др. Лазерная корреляционная спектроскопия крови: Метод. рекомендации. — О.: Друк, 1995. — 26.
2. *Бажора Ю.И., Кресюн В.И., Носкин Л.А.* и др. Лазерная корреляционная спектроскопия — новый метод мониторинга в токсикологии // Современные проблемы токсикологии. — 1998. — 2. — 7—11.
3. *Бажора Ю.И., Носкин Л.А.*, Лазерная корреляционная спектроскопия в медицине. — О.: Друк, 2002. — 400 с.
4. *Балабонов С.М., Лебедев А.Д., Носкин В.А.* Вирусологические аспекты применения лазерной корреляционной спектроскопии // Сб. науч. работ ЛИЯФ. — Л., 1987. — 16—19.
5. *Биленко А.А., Андронов Д.Ю., Михова И.А.* Диагностические возможности лазерной корреляционной спектроскопии плазмы крови в онкопроктологии // Клин. Хирургия. — 1996. — 8. — 28—29.
6. *Карганов М.Ю., Киселев М.Ф., Комаров Г.Д.* и др. Полисистемный саногенетический мониторинг. — М., 2001. — 344 с.
7. *Ковалева О.И., Ковалева Л.Г., Горбунова Н.А., Карганов М.Ю.* Новые возможности ранней диагностики заболеваний системы крови // Гематология и трансфузиология. — 2004. — 49(4). — 7—13.
8. *Красильникова М.В.* Железодефицитные состояния у подростков: частотные характеристики, структура и вторичная профилактика: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — М., 2006.
9. *Мерлич К.И., Гешелин С.А., Варбанец В.Ф.* и др. Субфракционный состав плазмы крови при доброкачественных опухолях и раке молочной железы по данным

лазерной корреляционной спектроскопии // Бюлл. экпер. биол. и мед. — 1993. — 116(8). — 193—195.

10. *Ожегов Е.А.* Оптимизация лечения железодефицитной анемии у детей и подростков: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — М., 2005.

11. *Румянцев А.Г.* Вопросы современной педиатрии. — 2010. — 9 (4). — 7—15.

12. *Румянцев А.Г., Коровина Н.А., Чернов В.М.* и др. Диагностика и лечение железодефицитной анемии у детей: Методическое пособие для врачей. — М., 2004. — 45 с.

13. *Румянцев А.Г., Панков Д.Д.* Актуальные проблемы подростковой медицины. — М.: Столичный бизнес, 2002. — 376 с.

14. *Karganov M., Alchinova I., Arkhipova E., Skalny A.V.* Laser Correlation Spectroscopy: Nutritional, Ecological and

Toxic Aspects // «Biophysics» / A.N. Misra ed. — InTech, 2012. — P. 1—16.

15. Recommendations to prevent and control iron deficiency in the United States. Centers for Disease Control and Prevention // MMWR Recomm. Rep. — 1998. — 47 (3). — 1—29.

Поступила 28.03.13

#### Сведения об авторах:

*Румянцев Сергей Александрович*, д-р мед. наук, проф., зав. отд. молекулярной и экспериментальной медицины ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

*Алчинова Ирина Борисовна*, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. ФГБУ НИИОПП РАМН

*Архипова Елена Николаевна*, ст. науч. сотр. ФГБУ НИИОПП РАМН

*Трухина Ольга Константиновна*, зав. клин. лаб. ГБУЗ ДГП №150 ДЗ г.Москвы



Х.М. Марков

## **Мозговой кровоток и церебральный инсульт. Часть 2. Патогенез и терапия церебрального инсульта**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр здоровья детей» Российской академии медицинских наук, 119991, Москва, Ломоносовский просп., 2, стр.1

*Приводятся данные, касающиеся патогенеза церебрального инсульта, а также роли оксида азота в механизмах его развития. Проанализированы сведения об изменениях уровней экспрессии группы ферментов NOS, концентраций оксида азота и его метаболитов в ишемизированных отделах мозга. Приведены данные о связи системы NOS с другими ферментными системами. Рассмотрены возможности использования оксида азота в церебральном инсульте.*

**Ключевые слова:** мозговой кровоток, церебральный инсульт, ауторегуляция мозгового кровотока, вазотропные агенты

Kh.M. Markov

## **Brain blood flow and cerebral insult. Part 2. Cerebral insult pathogenesis and therapy**

Scientific Centre of Children Health, 2, b.1, Lomonosovsky prospekt, Moscow, 119991, Russia

*The data relating to the pathogenesis of cerebral stroke, and the role of nitric oxide in the mechanism of its development is presented. Information on the changes of the expression levels of enzymes NOS, concentrations of nitric oxide and its metabolites in the ischemic regions of the brain is analyzed. The data on the connection between the NOS with other enzyme systems is shown. The possibilities of the use of nitric oxide in cerebral stroke are discussed.*

**Key words:** brain blood flow, cerebral insult, blood flow autoregulation, vasotropic agent

### **1. Патогенез церебрального инсульта и система оксида**

Удовлетворение метаболических требований мозга своевременной и адекватной доставкой ему с кровью кислорода, глюкозы, других питательных веществ является абсолютно необходимым условием его нормального функционирования. Он исключительно чувствителен, больше чем любой другой орган, к малейшим, физиологически неоправданным, изменениям этого процесса [56]. Поэтому любые нарушения кровоснабжения мозга чреваты серьезными последствиями. Одним из наиболее частых и грозных из них является церебральный инсульт. После инфаркта миокарда и онкологических заболеваний, церебральный инсульт является третьей ведущей причиной смертности в развитых странах. Различают две основные формы этого заболевания. Чаще всего (80%) встречается ишемический инсульт, возникающий в результате закупорки какой-нибудь церебральной артерии (инфаркт). Эта закупорка может быть вызвана или образованием локального тромба или эмболией (сеп-

тический эндокардит, нарушения ритма сердца, фибрилляция предсердий, при хирургических операциях на сердце). Другим типом церебрального инсульта является субарахноидальное кровоотечение (15—20% случаев), вызываемое разрывом артерии в головном мозге, чаще всего под влиянием высокого системного артериального давления. И в том и в другом случае происходит резкое нарушение кровообращения и снабжения мозга кислородом, вплоть до полного (или почти полного) прекращения кровотока. Это приводит к различного рода церебральным нарушениям (психоэмоциональные, умственные, речь, амнезия, афазия), двигательным, сенсорным и др. Поскольку NO играет ведущую роль в регуляции церебрального кровотока, вполне оправданно возникает вопрос об активности NOS и уровне NO в пораженной области мозга, об их значении для патогенеза и саногенеза церебрального инсульта.

Результаты первых исследований этой проблемы отличаются большой противоречивостью. Судя по величине возникающего после закупорки средней мозговой артерии церебрального инфаркта и сопоставлений этих данных с направленностью и степенью изменений уровня NO можно было думать как о том, что

**Для корреспонденции:** Марков Христо Матеевич, проф., д-р мед. наук, ФГБУ «НЦЗД» РАМН. E-mail: info@nczd.ru

он способствует [13, 65], так и о том, что он тормозит развитие инсульта [75, 77]. Чаще всего сообщалось о повышенном уровне NO в зоне церебрального инфаркта, причем этот факт рассматривался, как весьма неблагоприятный сдвиг, усугубляющий течение возникшего патологического процесса.

Castillo et al. [21a] обследовали 102 больных с острым церебральным инсультом различной этиологии и площади пораженной ткани, а также 24 здоровых людей (контроль). Об уровне NO в церебральной жидкости судили по содержанию в ней нитрита и нитрата — стойких продуктов обмена NO (NO-m) через 24 ч после появления первых симптомов инсульта. Каждый больной подвергался серии клинических исследований и определению величины инфаркта. Концентрация NO-m в цереброспинальной жидкости была значительно выше у больных, чем у здоровых людей. И хотя концентрации NO-m не различались в различных подгруппах больных, они четко коррелировали с величиной разившегося церебрального инфаркта. Кроме того, концентрация NO-m была значительно выше у больных с инсультом, у которых в дальнейшем возникали серьезные неврологические нарушения. Эффект NO не зависел от других проявлений болезни, свидетельствующих о прогрессировании инсульта, таких, как гипертермия, высокое содержание глюкозы в сыворотке крови, воспаление в течение первой недели госпитализации. Все это, по мнению авторов, свидетельствует о важной роли NO в патогенезе церебрального инсульта.

Другими исследователями при определении метаболитов NO в центральной нервной системе *in vivo* с помощью микродиализа при глобальной и фокальной церебральной ишемии, были получены противоречивые данные [30]. Необходимо отметить, однако, что определение NO-m проводилось только в острой стадии (первые сутки) фокальной церебральной ишемии. При определении уровня NO-m в подострой стадии инсульта (24—48 ч), он был всегда существенно повышенным [30]. По данным Zhang et al. [75], повышенная экспрессия eNOS имела место в ишемизированном (по сравнению с неишемизированным) полушарии мозга уже через 1 ч после начала ишемии, достигала максимума через 24 ч и оставалась увеличенной в течение 7 сут. Эти данные получены в экспериментах с постоянной ишемией. Временная же ишемия (с последующей реперфузией) вызывала у отдельных животных экспрессию eNOS только через 6 ч после ее начала, а в большинстве случаев спустя 24 ч, оставаясь повышенной еще 168 ч реперфузии. В конце первых суток экспрессия eNOS повышена, а pNOS понижена.

В отношении того, в какой части сосудов ишемизированной области мозга происходит экспрессия eNOS существуют определенные противоречия. По данным

одних авторов, это имеет место главным образом в артериях и артериолах и существенно слабее в капиллярах [75]. Другие исследователи наблюдали повышенную экспрессию eNOS во всех микрососудах после ишемии, включая капилляры и венулы. Роль вновь образующихся после ишемии сосудов (ангиогенез) в повышении уровня eNOS не является сколько-нибудь значительной, так как ангиогенез происходит в пограничной области между ишемизированной и неишемизированной тканями. Значение этого фактора возможно через 72—168 ч после начала ишемии. Однако повышенная экспрессия eNOS происходит на много раньше — уже через 24 ч, когда образование новых сосудов еще не имеет места [75].

В качестве возможных непосредственных стимулов, вызывающих постишемическое повышение уровня eNOS рассматриваются локальная гипоксия, острое интралюминальное напряжение сдвига (продвижение крови по сосудам и трением об их стенки — shear stress), продукция мозговой тканью, кровеносными сосудами и клетками крови факторов роста и/или воспалительных агентов [44, 68]. Молекулярные механизмы, контролирующие экспрессию eNOS после ишемии могут включать активацию киназной передачи сигналов и факторов транскрипции, таких как индуцируемый гипоксией фактор-1 и активатор протеина-1 [44]. Что касается медиатора, ответственного за повышение уровней eNOS после ишемии, следует иметь в виду два обстоятельства. Первое — повышение уровня eNOS ограничено областью инфаркта. Следовательно, участие в этом процессе диффундирующих субстанций из зоны инфаркта или нейрональное опосредование передачи сигналов в пограничных областях не должны иметь места. Второе — сравнительно отставленное во времени (6—24 ч) повышение уровня eNOS после ишемии существенно увеличивает число возможных триггерных механизмов реакции. Немедленные и отставленные эффекты (связанные с реперфузией) на эндотелиальные клетки, такие как увеличение напряжения сдвига, прилипание лейкоцитов, продукция цитокинов или других субстанций могут участвовать в повышении экспрессии eNOS [13, 44].

Увеличение экспрессии eNOS и уровня NO после ишемии мозга имеет несомненно положительное значение, усиливая вазодилатацию церебральных резистивных сосудов, богато снабженных нитроксидергическими нервами [71], тормозя агрегацию в пограничной с инфарктом области мозга. Поэтому, повышение уровня NO в головном мозге путем введения L-аргинина (субстрата NOS) или NO-доноров тормозит развитие инсульта в ответ на закупорку средней мозговой артерии: площадь поражения существенно меньше, чем у контрольных животных с нормальным

или пониженным уровнем NO. Снижение же уровня NO при введении ингибиторов NOS дает прямо противоположный эффект [54].

Искусственное или естественное повышение уровня церебрального NO имеет явно компенсаторное значение при ишемии мозга. Об этом убедительно свидетельствует ряд экспериментальных и клинических данных о том, что дефицит NO в головном мозге резко увеличивает величину и неврологические последствия ишемического инсульта. Особенно демонстративны в этом плане исследования на крысах Окамото-Аоки (SHR) с наследственно обусловленной артериальной гипертензией, у которых обнаружен пониженный синтез NO в головном мозге. Необходимо отметить в этой связи, что оксид азота нормально продуцируется в центральной нервной системе, оказывая снижающее уровень АД влияние. Показано, что торможение активности NOS в ЦНС вызывает прессорную реакцию [19]. Пониженный уровень NO в головном мозге является одним из механизмов развития гипертензии у спонтанно гипертензивных крыс отеченной выше линии [8,9,19].

Malinski et al. [59] обнаружили значительно меньшее (на 60%) повышение уровня NO в области мозга, подвергнутой ишемии путем перевязки средней мозговой артерии у спонтанно гипертензивных крыс (СГК); размер инфаркта был при этом на существенно больше по сравнению с контрольными животными. При введении последним L-NAME (ингибитора синтеза NO) степень повышения уровня NO после возникновения церебрального инсульта в ответ на закупорку средней мозговой артерии была такой же, как у СГК с генетически обусловленным дефицитом NO в головной мозге [45]. Размер инфаркта был больше на 51—180% у этих животных и по данным других авторов [21]. Вызываемые им неврологические нарушения также были существенно более выраженными, а смертность от инсульта повышена у СГК. Полагают, что такая резко выраженная предрасположенность к инсульту при дефиците NO обусловлена во многом нарушением в этих условиях коллатерального кровотока по анастомозам между передней и задней церебральными артериями. Дело в том, что ишемизированная область мозга не может больше получать нормальное количество крови из закупоренной средней мозговой артерии и единственным, оставшимся источником кровотока для этой области, остаются анастомозы с другими церебральными артериями [70]. Здесь необходимо учесть еще одно обстоятельство. Генетически обусловленная (как у СГК) или приобретенная недостаточность экспрессии eNOS и уровня NO в головном мозге может привести к развитию хронической системной гипертензии, которая вызывает гипертрофию сосудистых гладких мышц и увеличение соотношения стенки сосуда/его просвет [8]. В ре-

зультате возрастает сопротивление кровотоку резистивных сосудов, в том числе коллатеральных, снижение их дилатационных возможностей, а отсюда и всего комплекса компенсаторных механизмов мозга при церебральном ишемическом инсульте.

Однако, роль повышенного уровня системного АД *per se*, в том числе при хронической гипертензии, в патогенезе ишемического инсульта не следует преувеличивать, хотя значение этого фактора, несомненно. Дело в том, что хотя существует определенная зависимость между степенью повышения АД и величиной церебрального инфаркта, нормализация уровня АД антигипертензивной терапией у СГК вызывает лишь небольшое уменьшение размеров инсульта по сравнению с животными с повышенным АД [45]. Кроме того, экспериментальная ДОК-солевая гипертензия с таким же уровнем АД, как у СГК, приводит к возникновению значительно меньшего по размерам ишемического инсульта, по сравнению с СГК, у которых имеет место генетически обусловленный дефицит NO в головном мозге [25, 70]. Следовательно, именно этот дефицит (любой этиологии, не только наследственный) определяет большое значение пониженной экспрессии eNOS и синтезируемого ею оксида азота в патогенезе ишемического инсульта. Повышение же этой экспрессии обуславливает явно протективную, компенсаторную роль NO при церебральной ишемии. Ведущим при этом является способность NO расширять церебральные сосуды и опосредовать эффекты эндотелий-зависимых вазодилататоров, причем не только ацетилхолина, брадикинина, но и таких классических для мозга, как кайнат [28] или N-метил-D-аспартат [61]. Нейрогенная вазодилатация опосредуется нитроксидагическими нервами [71], как уже отмечалось выше. Кроме того, синтезируемый NO синтазой оксида азота тормозит вазоконстрикторные реакции церебральных сосудов и возникновение их спазмов, рост сосудов и их гипертрофию [12] — структурные изменения, которые могут снижать максимальный вазодилаторный потенциал [8]. NO может также оказывать положительное влияние на проницаемость сосудов, в том числе на гематоэнцефалический барьер [29].

О положительной, компенсаторной роли eNOS и NO в патогенезе церебрального инсульта свидетельствуют и некоторые другие данные, касающиеся второй формы этого заболевания — субарахноидальной геморрагии. Дело в том, что она сопровождается повышением тонуса небольших артерий и артериол, а также снижением вазодилаторных эффектов NO и аденозина [41,70], что должно ограничивать кровотечение. Эти эффекты наиболее резко выражены через 48 ч после начала острого кровотечения и приходят к норме спустя 96 ч [67]. Показано, что поскольку субарахноидальная геморрагия не влияет на вызываемые

мые сомато-сензорные потенциалы, уменьшение реакции артериол на сомато-сензорную стимуляцию не обусловлены изменениями увеличенной нейрональной и метаболической активности [66]. NO и аденозин, вазодилатационные эффекты которых уменьшены при субарахноидальном кровотоке, идут параллельно с эффектами этого кровотока на сомато-сензорную стимуляцию и рассматриваются, как медиаторы реакций церебрального кровотока на эту стимуляцию [16]. Таким образом, в зависимости от конкретных условий не только повышение, но и понижение уровня NO (как в данном случае) может иметь компенсаторное, церебропротективное значение [9].

Среди заслуживающих особого внимания данных последних лет, следует отметить и установленное влияние eNOS на активность ферментов, регулирующих функцию нейронов. Установлено, что он участвует в регуляции нейрональной передачи своими эффектами на аксоны [37]. eNOS стимулирует нейрогенез стволовых клеток мозга, возникающий после различного рода поражений его [14,23]. Воспроизводимый на генетическом уровне дефицит eNOS тормозит этот нейрогенез и восстановление функций нейронов после экспериментального инсульта [23]. Таким образом, вызываемая дефицитом NO дисфункция эндотелия нарушает функции не только сосудов, но и нейронов.

Говоря о механизмах положительных терапевтических эффектов NO при церебральном инсульте, необходимо еще раз сказать о нитроксидагической иннервации сосудистой гладкой мускулы, открытие которой привело к новому пониманию некоторых аспектов нейрогенного контроля тонуса резистивных сосудов. Нитроксидагические нервы являются постганглионарными парасимпатическими нервами, стимуляция которых опосредуется оксидом азота и отличает их от холинергических нервов. Термин «нитроксидагические» предлагается для того, чтобы избежать путаницы с «холинергическими» нервами, для которых ацетилхолин играет роль нейротрансмитера. Физиологическая роль нитроксидагических нервов в сосудистых гладких мышцах включает доминантный вазодилататорный контроль церебральных и глазных артерий, а также реципрокную регуляцию с адренергическими сосудосуживающими нервами [71].

Оставался, однако, открытым вопрос, почему в одних случаях повышение уровня NO в головном мозге препятствует развитию церебрального инсульта, обладая выраженным церебропротективным действием, а в других эффект NO в такой же концентрации был прямо противоположным. Впервые механизмы такого двойного, разнонаправленного действия были проанализированы в работах Huang et al. и Nkharana et al. [38, 43]. В одной из работ воспроизведена закупорка средней мозговой артерии у мышей

с разрушенным геном eNOS (т.н. eNOS нокаутных мышей). У этих мышей размер церебрального инфаркта был больше, чем у контрольных с неразрушенным геном eNOS. Эти же авторы сообщили, что у мышей с разрушенным геном nNOS (nNOS нокаутных мышей) вызываемый закупоркой средней мозговой артерии инфаркт был меньше, чем у контрольных. На основе этих данных авторы заключили, что NO обладает двойной ролью в патогенезе фокальной церебральной ишемии. Если его источником является eNOS, он вызывает расширение сосудов и уменьшение величины инфаркта. Если же NO синтезируется нейрональной nNOS, он увеличивает размер инфаркта своим нейротоксическим действием. Эта интерпретация нашла подтверждение в работе Yoshida et al. [74], которые отметили уменьшение размера церебрального инфаркта у мышей, которым вводили 7-нитроиндазол (специфический ингибитор nNOS), а также в ряде других работ.

Ишемическая нейротоксичность синтезируемого nNOS оксида азота обусловлена тем, что образующийся в высоких концентрациях глутамат после церебральной ишемии активирует несколько комплексов постишемических глутаматных рецепторов, главным образом NMDA/Ca<sup>2+</sup>. Последнее, повышая уровень внутриклеточного кальция, активирует несколько кальций-зависимых цитодеструктивных ферментов, в том числе nNOS, что ведет к синтезу NO в большой локальной концентрации с последующим образованием свободных радикалов кислорода (пероксинитрита, в частности) и церебральными морфофункциональными нарушениями. Исследования на трансгенных мышцах и применение селективных ингибиторов ясно показали важное значение этой изоформы NOS в патофизиологии церебральной ишемии и патогенезе инсульта [9].

Роль iNOS в патогенезе церебральной ишемии не так однозначна, как eNOS и nNOS. Дело в том, что нейропротективный эффект L-аргинина и NO-доноров теряется через 2 ч после начала церебральной ишемии. Еще важнее тот факт, что если введение L-аргинина производят через 24 ч после этого, величина развивающегося инфаркта больше, чем в контроле (без введения L-аргинина) [6]. Полагают, что эта разница обусловлена появлением iNOS в ишемизированной области мозга через 6—12 ч после вызвавший инфаркт острой церебральной ишемии [50]. Было показано, что iNOS участвует в развитии отставленных во времени нейрональных. У лишенных iNOS мышей размер инфаркта, после острой фокальной ишемии, значительно меньше, чем у мышей, обладающих iNOS [48]. Уместно напомнить в связи с этим, что в отличие от eNOS и nNOS, iNOS является кальций-независимой и индуцируется главным об-

разом цитокинами нейтрофилов при воспалении (в данном случае в очаге церебрального инсульта). Показано, что *iNOS*mRNA появляется только спустя 12 ч после начала ишемии, достигает максимальной концентрации через 48 ч и медленно (в течение 7 сут.) снижается до исходного уровня [11, 47]. Главным источником выделяемого ишемизированным мозгом NO является *iNOS*. Отставленное во времени появление *iNOS* обуславливает раннее нейропротективное и более позднее нейротоксическое действие L-аргинина, так как он является естественным субстратом всех трех изоформ NOS.

Говоря о нейротоксичности *iNOS* и ее участии в развитии воспалительного процесса в зоне церебрального инсульта, необходимо коротко коснуться взаимодействия NO и простаноидов (ПН) в это время и в этой же области мозга. ПН, как и NO, содержатся во всех клетках ЦНС. Их количество там также как и NO, зависит от типа клеток и возраста. В нормальных (физиологических) условиях среди простаноидов преобладают простаглицлин ( $PG_{12}$ ) и простаглицдин  $E_2$  ( $PG_{E_2}$ ). В этих условиях ПН, как и NO, синтезируются конститутивными изоформами циклооксигеназы (COX-1) и eNOS, совместно поддерживая нормальный кровоток в головном мозге и осуществляя локальную профилактику сосудистых нарушений в нем. При этом пониженная активность одной из этих изоформ компенсируется повышением активности другой [7, 77]. Нарушение взаимодействий между ними и одновременное понижение уровней eNO и ПН приводят к возникновению резкой ишемии мозга и развитию обширных церебральных инсультов [45]. Введение L-аргинина не только восстанавливает нормальное содержание NO, но благодаря активации последним циклооксигеназы COX, создает ситуацию, при которой совместное действие повышенных концентраций eNO и простаглицлина значительно увеличивают региональный церебральный кровоток, охраняя ткани мозга в период ишемии-реперфузии (более надежно, чем это имеет место под влиянием одного NO) [7].

Совсем другие отношения складываются между NO и ПН. Они генерируются в большом количестве индуцируемыми изоформами *iNOS* и COX-2 при многих патологических процессах в головном мозге, в том числе локальной церебральной ишемии и вызываемом ею ишемическом инсульте [7, 9]. Установлено, что совместное увеличение синтеза NO и простаглицлина в этом месте связано с возникающим локальным воспалительным процессом, который принимает активное участие в становлении и прогрессировании ишемических поражений мозга [33]. Продуцируемый иммунновоспалительной изоформой NOS (*iNOS*) оксид азота является одним из главных факторов постишемического воспаления, способствующего поражению тка-

ни мозга [5, 50]. Своего максимума, вызываемая церебральным инсультом индукция *iNOS* в ишемизированной области мозга, достигает спустя 24—48 ч после ишемии в нейтрофилах, инфильтрирующих данную область и клетках церебральных сосудов [50, 72]. Введение ингибитора *iNOS* аминоксидина тормозит развитие воспалительного процесса и уменьшает размер поражения при окклюзии в средней мозговой артерии. У искусственно лишенных на генетическом уровне *iNOS* мышей величина инфаркта и выраженность воспаления также меньше в ответ на окклюзию той же мозговой артерии, чем в контроле [50, 51]. Эти данные указывают на то, что большие количества продуцируемого *iNO* синтазой NO способствуют развитию воспалительного процесса и оказывают токсическое действие на ишемизированную область мозга в поздней стадии церебрального инсульта.

Имеются данные о том, что церебральная ишемия увеличивает и экспрессию COX-2 [64, 72], которая, как и *iNOS*, обладает выраженными провоспалительными свойствами [5, 7]. При этом продолжительность времени, необходимого для максимального увеличения этой экспрессии, такая же, как для *iNOS*. Однако, в отличие от последней, экспрессия COX-2 происходит в нейронах пограничной области мозга — между нормальной и ишемизированной тканями [64]. Ингибитор COX-2 соединение NS-398 уменьшает площадь инфаркта и выраженность воспалительного процесса, вызываемые окклюзией средней мозговой артерии, указывая на то, что поражение мозговой ткани в данных условиях обусловлено активацией COX-2. Таким образом, как *iNOS*, так и COX-2 экспрессируются церебральной ишемией, что способствует развитию воспалительного процесса и поражению ткани мозга после развития церебрального инсульта [5]. Поскольку индукция *iNOS* и COX-2 происходит в одно и то же время, логично допустить, что NO, продуцируемый *iNOS*, активирует COX-2 в ишемизированном участке мозга. Это положение было четко показано в исследованиях Nogava et al. [64], которые установили, что NO, синтезируемый *iNOS*, повышает каталитическую активность и провоспалительное действие COX-2 в зоне церебрального инсульта. На периферии последнего содержащиеся *iNOS* нейтрофилы оказались в близком соседстве с содержащими COX-2 нейронами. Ингибитор *iNOS* аминоксидин уменьшал постишемическую аккумуляцию синтезируемых COX-2 ПН (простаглицлин и  $PG_{E_2}$ ) только в ишемизированной области, в которой происходит экспрессия как *iNOS*, так и COX-2. У лишенных *iNOS*-гена животных накопление указанных ПН также уменьшалось.

Механизмы повышения оксидом азота активности COX-2 могут быть разными. Один из них состоит в

том, что NO связывается с гем-группой COX-2. NO может, кроме того, подавлять процесс аутоинактивации COX-2. Следует иметь в виду, что образующийся при реакции NO с супероксидом пероксинитрит и последующая пероксидация липидов могут способствовать высвобождению арахидоновой кислоты (субстрата COX) из клеточной мембраны. Что касается обратного эффекта — повышения простаноидами активности NOS, то его механизм менее изучен. Можно думать о том, что ПН воздействуют на синтез NO через цАМФ, так как последний повышает стабильность NOS mRNA, а также активность ее транскрипции [76].

Как уже отмечалось выше, большое количество NO, синтезируемого iNOS, обладает нейротоксическим эффектом. Оказалось, что этот эффект NO опосредуется повышением активности COX-2, которая также токсически воздействует на церебральные нейроны и так же как NO может, через синтезируемые ею простаноиды, способствовать образованию свободных радикалов кислорода. Полагают, что последние являются главными нейротоксическими соединениями, опосредующими данные эффекты iNOS-NO и COX-2 — ПН на ткани мозга. Есть основание думать, что взаимодействие между NO, COX-2 и свободными радикалами кислорода играет существенную роль в патогенезе и других заболеваний мозга, связанных с воспалением, таких как множественный склероз, болезнь Альцгеймера и др. [64].

В последние годы внимание клиницистов привлекает так называемая эпизодическая (прерывистая) гипоксия (ЭГ) в связи с предполагаемой ролью ее в патофизиологических нарушениях, ведущих к obstructивной остановке дыхания во время сна недоношенных детей и внезапной смерти новорожденных. Дисфункция сердечно-сосудистой системы оказывает существенное влияние на заболеваемость и смертность от этих синдромов. Мозг очень чувствителен к эпизодической гипоксии (ЭГ), обнаруживая четкие пространственные и временные различия возникающих нарушений.

В эксперименте показано, что периоды длительной непрерывной церебральной гипоксии и ишемии стимулируют развитие воспалительных процессов в паренхиме мозга, характеризующихся нейтрофилов, что приводит к дополнительным нарушениям в соответствующих областях [53]. У больных страдающих остановкой дыхания во время сна, имеет место увеличение в плазме крови цитокинов, пуриновых катаболитов, растворимых адгезивных молекул и маркеров оксидативного стресса, указывающих на наличие у них хронического воспаления. Еще более выраженный воспалительный процесс развивается после эпизодической гипоксии, причем церебральные наруше-

ния, возникающие от повторных эпизодов гипоксии мозга, более выражены, чем после единичных периодов непрерывной длительной ишемии, эквивалентной по времени коммутативной длительности гипоксических эпизодов [57]. В головном мозге NO оказывает неодинаковые эффекты на течение воспалительного процесса после церебральной ишемии. В то время как синтезируемый eNO синтазой оксид азота тормозит развитие этого процесса [58] и улучшает перфузию ткани, синтезируемый pNO синтазой оксид азота потенцирует развитие воспалительного процесса и вызывает повреждение нейронов после эпизодической гипоксии [26].

Altay et al. [10] показали, что относительно короткая эпизодическая гипоксия достаточна для того, чтобы дать начало длительному воспалительному процессу в церебральной микроциркуляции. В течение 4 ч лейкоциты прилипают к эндотелию кортикальных венул, а интенсивность реакции еще более усиливается в последующие 24 ч. К 48 ч эта реакция ослабевает. Синтезируемый pNO синтазой NO оказывает сильное влияние на взаимодействие клеток эндотелия и лейкоцитов, начавшееся под влиянием эпизодической гипоксии, так как такое взаимодействие полностью отсутствует у лишенных pNOS мышшей. Вызываемое же эпизодической гипоксией увеличение микрососудистого стаза у лишенных eNOS мышшей свидетельствует о том, что синтезируемый eNO синтазой NO ограничивает воспалительную реакцию церебральных микрососудов после эпизодической гипоксии. eNOS может также предотвращать повреждение нейронов при вызываемых эпизодической гипоксией инсультах; гибель пирамидальных клеток гиппокампа имела место только у eNOS мутантных животных.

Изучение механизмов влияния eNOS на вызываемый эпизодической гипоксией воспалительный процесс показало, что этот эффект связан с торможением eNO взаимодействия между клетками эндотелия и лейкоцитами путем блокировки активации ядерного фактора транскрипции NFκB [66]. Это ведет к уменьшению экспрессии селективных и интегринов в области эпизодической гипоксии, а также к торможению NADPH оксидазы нейтрофилов и взаимодействия тромбоцитов с эндотелием. Влияние pNOS на воспалительный процесс после эпизодической гипоксии связано, как полагают [26] с образованием мощного оксиданта пероксинитрита при взаимодействии супероксиданиона с синтезируемым в значительных количествах pNO синтазой оксидом азота. Показано, что резкая кратковременная и эпизодическая церебральные гипоксии сильно увеличивают экспрессию pNOS и синтез ею NO, что способствует образованию пероксинитрита и приводит к повреждению нейронов, причем больше, чем после глобальной длительной ишемии.

## 2. Терапия острого ишемического инсульта

### 2.1. Оксид азота в терапии церебрального инсульта

Лечение острого ишемического инсульта (как и острого инфаркта миокарда) сопряжено с большими трудностями, одна из которых — необходимость принятия срочных мер, так как назначение тромболитических препаратов может быть полезным только в течение не более 3 часов после первых симптомов болезни [63], что на практике возможно лишь у небольшого количества больных. Попытка блокировать развитие патологического процесса спустя несколько часов путем активации глутаматом NMDA-рецепторов и внутриклеточного поглощения кальция оказались бесполезными. Это может быть связано с тем, что соответствующие препараты не могут достичь своего места действия из-за ишемии зоны инфаркта. Установлено, однако, что ишемизированная область мозга спустя 24 ч после начала церебральной ишемии все еще метаболически активна [60], что делает теоретически возможным лечебный эффект фармакологических препаратов в это время и уменьшение размера пораженной ткани.

Говоря о возможном применении NO в терапии церебрального инсульта необходимо иметь в виду действие некоторых патогенных факторов, которые ухудшают состояние ишемизированной области мозга и могут препятствовать эффектам NO. Среди этих факторов особо следует отметить свободные радикалы кислорода (СРК), истощение энергии в клетках и нарушения экспрессии генов, ведущих к апоптотической смерти клеток. Благодаря наличию неспаренного электрона, СРК обладают очень высокой реактогенностью. В нормальных условиях они являются сопутствующими продуктами метаболизма, которые удаляются антиоксидантными ферментами — супероксид дисмутазой, каталазой, глутатион-пероксидазой, а также  $\alpha$ -токоферолом (витамином E), аскорбиновой кислотой и некоторыми другими соединениями. Однако, в ряде случаев системы очищения клеток от СРК быстро насыщаются, что позволяет СРК вступать в различного рода реакции, поражая нуклеиновые кислоты, белки, липиды, углеводы. Это ведет к резкому нарушению нормальных процессов в клетках мозга, вплоть до их гибели. Свободные радикалы кислорода образуются в большом количестве при реперфузии ишемизированной области мозга и активно участвуют в возникновении ее поражений. Значение цитотоксичности СРК ясно проявляет себя у трансгенных мышей, недостаточно экспрессирующих ген супероксид дисмутазы. У таких мышей размер развивающегося инфаркта после ишемии мозга существенно больше, чем у контрольных животных [22]. Введение же внутривенно супероксид дисмутазы, связан-

ной с полиэтиленгликолем, ограничивает величину инфарктов у мышей, подвергшихся ишемии-реперфузии, по сравнению с контролем. Так же у мышей, генетически подготовленных к тому, чтобы экспрессировать повышенные количества супероксид дисмутазы, развитие церебральных инфарктов тормозится [73].

Содержание NOS и синтезируемого ею NO значительно возрастает при острой ишемии мозга [39]. Будучи свободным радикалом кислорода, NO в больших количествах быстро вступает в реакцию с кислородом, что ведет к образованию пероксинитрита, который является мощным оксидантом и высоко токсичным соединением. В высоких концентрациях NO становится нейротоксичным и через другие механизмы, включая опосредуемую железом пероксидацию липидов и истощение энергии в клетках путем разрушения митохондриальных ферментов и нуклеиновых кислот. В повышенных концентрациях NO может также запускать апоптоз и апоптотическую гибель нервных клеток [52].

Из сказанного следует, что восстановление нормального уровня СРК после острой церебральной ишемии должно быть первостепенным терапевтическим мероприятием у таких больных. Это имеет не только важное самостоятельное значение, но одновременно является и необходимым условием для получения лечебного эффекта от применения с этой же целью NO. Очищение ишемизированного мозга от избыточного количества СРК можно добиться, как уже отмечалось, введением антиоксидантных соединений, таких как супероксид дисмутаза, витамины E, C и другие.

Роль NO в патогенезе и терапии церебральной ишемии во многом зависит от изоформ NOS, что подробно обсуждалось выше.

Таким образом, активное участие NO в патогенезе и патокинезе острого церебрального инсульта может служить мишенью для различного рода конкретных терапевтических мероприятий у соответствующих больных. При этом, однако, необходимо учитывать наличие противоположных эффектов NO, обусловленных различными изоформами NOS, секретирующих его и временем, прошедшим после начала возникновения ишемии.

В отношении eNO ситуация предельно ясна: положительного терапевтического эффекта можно ожидать при его применении в ранние часы после инсульта, когда целесообразно вводить L-аргинин [6], а также прямые или косвенные NO-доноры. Вместе с тем, из группы косвенных NO-доноров особо следует отметить статины, поскольку они довольно широко применяются в последнее время для профилактики и лечения церебрального инсульта; при этом они обнаруживают некоторые особенности своего действия,

которые необходимо обязательно учитывать при его применении.

В последние годы было установлено, что статины, такие, как аторвастатин, провастатин, симвастатин, зокор, мевакор оказывают протективное действие на мозг в острой стадии ишемического инсульта, обусловленное повышением ими активности eNOS и eNO [9, 15, 33, 69]. Оказалось, однако, что прекращение приема статинов в острой стадии инсульта нарушает функцию церебральных сосудов и усугубляет поражение мозга. Это имеет место, в частности, когда больные не могут больше принимать статины и приходится отменять их назначение в первые дни после инсульта. Было показано (в том числе на клеточном уровне), что такие осложнения вызваны резким падением уровня eNO сразу после отмены статинов.

Bianco et al. [15] проследили за судьбой 89 больных, перенесших острый ишемический инсульт 3 мес тому назад. 37 из 46 пациентов (60%), у которых терапия статинами была прекращена в первые 3 сут. после инсульта, умерли, в то время как среди 43 больных, у которых эта терапия не была прекращена, смерть имела место только у 16 из них (39%). Даже с учетом возраста и тяжести инсульта, прекращение терапии статином в острой стадии инсульта сопровождалось повышенным в 4,66 раза риском смерти. В другой группе больных быстрое прекращение дачи статинов в острой стадии церебрального инсульта сопровождалось семикратным повышением риска возникновения неврологических нарушений, а также увеличением пораженной области мозга. Эти и другие аналогичные наблюдения свидетельствуют о том, что протективные эффекты терапии статинами не только исчезали после прекращения ее в острой стадии инсульта, но вызываемые ишемией нарушения (нейрологические, морфологические) были более выраженными у таких больных, чем у тех, у которых прием статинов не отменяли так рано.

Необходимо подчеркнуть, что приведенные данные не умаляют значения статинов и других NO-доноров в качестве лечебных средств при церебральном инсульте. Они лишь указывают на необходимость более длительного применения их (не только в острой стадии) во избежании нежелательных осложнений. Кроме того, эти наблюдения ясно демонстрируют протективную роль eNOS и eNO при церебральной ишемии — тесную обратную зависимость между уровнем eNO в ЦНС и тяжестью инсульта [9].

Поскольку eNO защищает мозг от вызываемых инсультом поражения его путем поддержания более высокого уровня церебрального кровотока, интерес представляет тот факт, что аналогичный эффект оказывают и физические упражнения. Установлено, что они увеличивают экспрессию eNOS, улучшают эндо-

телий-зависимое расслабление сосудов и повышают церебральный кровоток [27]. Gertz et al. [34] показали, что величина инфаркта, развивающегося после перерыва средней мозговой артерии в эксперименте, меньше у животных, которых до этого заставляли бегать по сравнению с контролем. Этот эффект зависит от eNOS и NO, так как у животных, лишенных eNOS на генетическом уровне, он полностью отсутствует.

Физические упражнения оказывают протективный эффект при церебральном инсульте путем увеличения количества числа прогениторных клеток (progenitor cells) (EPCs), способствуя вызываемому ими образованию новых кровеносных сосудов (ангиогенезу) [55]. Кроме того, физические упражнения повышают уровень эндотелиального фактора роста сосудов, который активирует eNOS и способствует ангиогенезу, а также экспрессии eNOS в сосудах и EPCs. При этом физические упражнения увеличивают вовлечение EPCs в ишемизированную область мозга, плотность сосудов и церебральный кровоток в ишемизированной и неишемизированной областях мозга. Таким образом, физические упражнения оказывают как краткосрочные, так и долгосрочные эффекты на церебральное кровообращение через eNOS и EPCs. Альтернативным путем может быть повышение экспрессии eNOS переносом гена этой изоформы NOS, возможность которого ясно показана в эксперименте Kharana [43].

Среди заслуживающих особого внимания данных последних лет, касающихся обсуждаемой здесь проблемы, следует отметить установленное влияние eNO на активность ферментов, регулирующих функции нейронов. Продуцируемый eNOS оксид азота в эндотелии сосудов оказывает существенное влияние на нейрональную трансмиссию своими эффектами на аксоны [20]. Показано, что eNO стимулирует нейрогенез стволовых клеток мозга, возникающий после различного рода поражений его [22]: дефицит eNOS, воспроизводимый на генетическом уровне, тормозит этот нейрогенез и восстановление функций нейронов после экспериментального инсульта [22]. Таким образом, вызываемая дефицитом eNO дисфункция эндотелия нарушает функции не только сосудов, но и нейронов.

Что касается pNOS и секретируемого ею pNOS как мишени для терапевтических мероприятий при церебральном инсульте, обсуждение этого вопроса требует учета двоякого рода данных. С одной стороны, вызываемая ингибиторами pNOS нейропротекция имеет место только спустя 2 часа после фокальной церебральной ишемии. У животных с травматическим повреждением мозга селективный ингибитор pNOS-7-нитроиндиол существенно улучшает нейро-



логические нарушения при его введении на 30 и 60 мин после повреждения, но после 2 ч становится неэффективным [49]. Кроме того, pNOS играет главную роль в развитии церебральной гиперемии и поэтому торможение pNOS может подавлять важные компенсаторные механизмы при церебральной ишемии. Следует также иметь в виду риск нарушения таких важных нейробиологических функций, как синаптическая пластичность и нейрональная передача сигналов при торможении данного фермента. Необходимо также учитывать данные о нарушенном, агрессивном поведении лишенных NOS животных. Наконец, торможение pNOS может активировать провоспалительный ядерный фактор каппа В, что ведет к индукции iNOS и тем самым косвенно увеличивать повреждение мозговой ткани после церебральной ишемии. Все сказанное вызывает серьезные сомнения относительно применения селективных ингибиторов pNOS в качестве лечебных средств при остром инсульте у людей.

Наиболее подходящим звеном системы NO в качестве лечебного средства при острой церебральной ишемии представляется на сегодняшний день iNOS, т.к. повышенные концентрации этой изоформы NOS возникают спустя несколько часов после начала ишемии и эффекты синтезируемого ею NO длятся несколько дней, обеспечивая тем самым необходимое время для применения других терапевтических средств [73]. Площадь церебральных инфарктов после перманентной окклюзии средней мозговой артерии на 28% меньше и двигательные нарушения выражены существенно слабее у мышей лишенных iNOS по сравнению с контрольными животными, обладающими этим геном [50]. Кроме того, относительно селективный ингибитор iNOS амингуанидин обнаруживает зависимость от времени и дозы нейропротективных эффектов: чем раньше вводится этот препарат и чем выше доза его, тем существеннее уменьшение размеров церебрального инфаркта. Сообщалось об уменьшении размера инфаркта на 68% и 85%, при введении амингуанидина через 1 и 2 ч после острой церебральной ишемии [24]. Кроме того, в отличие от других нейропротективных препаратов, амингуанидин продолжает оказывать значительное нейропротективное действие даже при его назначении спустя 24 ч после начала ишемии, причем величина инфаркта составляла только 33% по сравнению с контролем. При этом степень уменьшения коррелировала с состоянием двигательной активности. Иначе говоря, нейропротективный эффект амингуанидина весьма существен и с функциональной точки зрения.

Необходимо, однако, отметить, что амингуанидин не является абсолютно селективным для iNOS. Например, он тормозит и полиаминоксидазу. Опо-

средуемое этим ферментом выделение 3-аминопропанола в высоких концентрациях после церебральной ишемии обладает прямым нейротоксическим действием, вплоть до апоптотической смерти глиальных клеток. После церебральной ишемии происходит значительное повышение активности полиаминоксидазы, а амингуанидин тормозит последующую гиперпродукцию 3-аминопропанола, вызывая уменьшение величины церебрального инфаркта. Амингуанидин известен также тем, что он предотвращает осложнения, связанные с поражением мелких сосудов при инсулинзависимом диабете (ретинопатия, нефропатия), когда он применяется в течение длительного времени [17].

Способность амингуанидина блокировать нейродеструктивные процессы при острой церебральной ишемии отличает его от других нейропротективных средств, применяемых у людей. Из данных проведенных исследований следует, что эти свойства амингуанидина очень важны для лечения фактически всех больных с острым ишемическим инсультом. Особенно тех, кто поступает в клинику позднее 6 ч после его начала. Показано также, что этот препарат безопасен и хорошо переносится больными [17]. Он может применяться внутривенно и перорально и быть при этом высокоэффективным нейропротективным средством в обоих случаях. Терапевтический потенциал данного и других селективных ингибиторов iNOS при остром церебральном инсульте подвергается в настоящее время дополнительным клиническим испытаниям.

## 2.2. Церебральная ишемическая толерантность

Быстрое проведение реперфузии после ишемии мозга считается наиболее эффективным способом уменьшения области церебрального инфаркта и возникающих нейробиологических нарушений. Оказалось, однако, что сама реперфузия может (как и в сердце) вызвать дополнительные повреждения. Ишемия — реперфузионные поражения мозга становятся в настоящее время актуальной проблемой клинической и экспериментальной неврологии. Проводятся многочисленные исследования с целью найти средства, которые предотвращают или тормозят (уменьшают) возникновение ишемии — реперфузионных поражений мозга.

Мощным нейропротективным феноменом, который делает мозг резистентным к ишемическим повреждениям, является церебральная ишемическая толерантность [66]. В форме «предтолерантности» она воспроизводится предварительными легкими стрессорными воздействиями на мозг до возникновения длительной или постоянной ишемии. Ишемическую предтолерантность мозга можно получить, например, серией кратковременных эпизодов умеренной гипок-

сии [1, 2, 3, 4]. Выше были приведены данные о том, что длительная выраженная гипоксия и, особенно, резкая эпизодическая гипоксия вызывают существенные нарушения мозгового кровообращения. Однако кратковременная неоднократно повторяющаяся умеренная гипоксия (10%  $\text{CO}_2$  во вдыхаемом воздухе) повышает компенсаторные возможности мозга, в результате чего следующая (спустя некоторое время) длительная и выраженная гипоксия переносится мозгом легче; формируется, иначе говоря, гипоксическая предтолерантность церебрального кровообращения (как аналог ишемической предтолерантности сердца). Благоприятный терапевтический эффект может быть получен и созданием ишемической предтолерантности с помощью фармакологических препаратов [42].

Kunz et al. [46] использовали в качестве предварительного стимула ишемической толерантности липополисахарид (ЛПС). Введение его мышам за сутки до закупорки средней мозговой артерии (СМА) уменьшало размер инфаркта мозговой ткани на 68% и улучшало ишемический церебральный кровоток на 114% в области мозга, не затронутой инфарктом. Эти благоприятные эффекты не имели места у мышей, лишенных iNOS. ЛПС сохраняет также функционирование нейронов и сосудов и улучшает кровоток в области мозга, при риске инфаркта. Этот эффект опосредуется синтезируемым iNO синтазой NO. Аналогичные нейропротективные результаты ишемической предтолерантности мозга получены и другими авторами [42]. Однако в условиях клиники (на людях) применение ишемической предтолерантности возможно только в случаях, когда возникновение инсульта предсказуемо, что бывает редко и связано с различного рода техническими и другими трудностями.

Более перспективной в этом отношении является «ишемическая посттолерантность» мозга, которая воспроизводится несколькими короткими циклами реперфузии и реокклюзии сразу после относительно длительной или необратимой региональной или глобальной ишемии. По данным Wang et al. [72-A], ишемическая посттолерантность уменьшает гибель нейронов области СА-1 гиппокампа и теменной коры мозга, являющихся наиболее уязвимыми при ишемии. Нейропротективный эффект ишемической посттолерантности, судя по уменьшению величины инфаркта и других нарушений, вызываемых временной глобальной ишемией (в том числе возможность узнавания и памяти) сохранялись по крайней мере в течение 3-х не реперфузии, указывая на то, что ишемическая посттолерантность действительно предотвращает, а не просто замедляет гибель нейронов после глобальной ишемии. Последующее более подробное изучение этого вопроса показало, что выраженность и продолжительность церебропротективного (как и кардиоп-

ротективного) действия ишемической пред- и посттолерантности зависит от длительности предшествующей ишемии, а также количества, частоты и длительности отдельных эпизодов реперфузии-окклюзии. Аналогичные данные были получены и другими исследователями.

Внимания заслуживает тот факт, что после фокальной или глобальной ишемии мозга имеет место период гиперперфузии, вслед за которым развивается гипоперфузия [42]. При этом как гиперперфузия, так и гипоперфузия препятствуют восстановлению ишемизированного мозга; наблюдается корреляция между количеством нейронов и церебральным кровотоком. В раннем периоде реперфузии вновь поступающий кислород трансформируется в свободные радикалы, так как нарушается передача сигналов по дыхательной цепочке в митохондриях и это препятствует полному использованию кислорода. Было показано, что ишемическая посттолерантность уменьшает гиперперфузию, тормозя тем самым образование чрезмерных количеств свободных радикалов [40]. Последнее рассматривается как ключевой фактор ишемии-реперфузионных нарушений.

Гибель нейронов после глобальной ишемии мозга наступает с некоторой задержкой, причем количество погибших нейронов зависит от длительности периода реперфузии. Имеются данные о том, что смерть нейронов вызывается, по крайней мере, частично, апоптозом [35]. Решающим фактором, вызывающим апоптоз после церебральной ишемии, является выход цитохрома С из митохондрий в цитозоль [60], где он активирует каспазы, запускающие процесс апоптоза. Цитозольный цитохром С появляется в пирамидальных клетках СА-1 области гиппокампа уже через 2 ч после начала реперфузии и достигает максимума через 12 ч. Было также показано, что содержание цитозольного цитохрома С в коре головного мозга увеличивается через 1—3 сут. после 10-минутной ишемии [62]. Ишемическая посттолерантность, вызываемая главным образом оксидом азота, резко уменьшает выделение цитохрома С из митохондрий путем снижения их проницаемости, так как то же самое делает ингибитор митохондриальных пор проницаемости [22, 32]. Иными словами, нейропротективная роль ишемической посттолерантности является результатом торможения выделения цитохрома С из митохондрий, перегрузки их кальцием, избыточного образования СРК и апоптоза. В этих процессах NO играет важную роль, так как он, являясь одним из главных факторов создания ишемической толерантности, препятствует образованию СРК, апоптозу, перегрузке митохондрий кальцием, повышению их проницаемости и выделению им цитохрома С [78].

## Список литературы

1. Кошелев В.Б., Пинелис В.Г., Марков Х.М. и др. Влияние адаптации к высотной гипоксии на развитие структурных изменений резистивных сосудов // Кардиология. — 1985. — 25(1). — С. 81—84.
2. Малышев И.Ю., Манухина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота // Биохимия. — 1998. — 61(7). — С. 902—1006.
3. Манухина Е.Б., Малышев И.Ю., Смирин Б.В. Продукция и депонирование оксида азота при адаптации и гипоксии // Известия РАН. Серия биологическая. — 1999. — 21. — С. 211—215.
4. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации.
5. Марков Х.М. О биорегуляторной системе L-аргинин-оксид азота // Патол. физиол. exper. med. — 1996. — 1. — С. 34—39.
6. Марков Х.М. Оксид азота и сердечно-сосудистая система // Успехи физиол. наук. — 2001. — 32(3). — С. 49—65.
7. Марков Х.М. Взаимодействия биорегуляторных систем простаноидов и оксида азота // Патол. физиол. exper. терапия. — 2011 (в печати).
8. Марков Х.М. L-аргинин-оксид азота в терапии болезней сердца и сосудов // Кардиология. — 2007. — 7. — С. 43—54.
9. Марков Х.М. Болезни кровообращения: Монография. — М.: Полиграфсервис, 2011.
10. Altay T., Gonzales E.R., Park T.S. Cerebrovascular inflammation after briea episodic hypoxia: modulation by nNOS and eNOS // J. Appl. Physiol. — 2004. — 96. — P. 1223—1230.
11. Alvarez B., Ferrer-Sueta G., Freeman B.A., Radi R. Kinetics of peroxynitrite reaction with amino acids and human serum albumin // J. Biol. Chem. — 1999. — 274. — P. 842—848.
12. Baumbach G.L., Sigmund C.D., Faraci P.M. Structure of cerebral arterioles in mice deficient in expression of the gene for eNOS // Circulation Res. — 2004. — 95. — P. 822—829.
13. Beasley T.C., Bary F., Thore C. et al. Cerebral ischemia/reperfusion increases eNOS levels by an indomethacin sensitive mechanism // J. Cereb. Blood Flow-Metab. — 1998. — 18. — P. 88—96.
14. Bernal G.M., Peterson D.A. Neural stem cells as therapeutic agents for age-related brain repair // Aging Cell. — 2004. — 3. — P. 345—351.
15. Bianco M., Nombela F., Castellanos M. et al. Statin treatment withdraval in ischemic stroke: a controlled randomized study // Neurology. — 2008. — 70(19). — P. 1720—1728.
16. Britz G.W., Meno J.R., Park S. et al. Time dependent alterations in functional and pharmacological arteriolar reactivity after subarachnoid hemorrhage // Stroke. — 2007. — 38. — P. 1329—1335.
17. Bucala R., Vlassara H. Advanced glycation and products in diabetic renal and vascular disease // Am. J. Kidney Dis. — 1995. — 26. — P. 875—888.
18. Burke A.P., Farb A.C., Malkolm G.T. et al. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary artery disease who died suddenly // N. Engl. J. Med. — 1997. — 336. — P. 1278—1282.
19. Carbera C.L., Bealer S.L., Bohr D.F. Central depressor action of NO is deficient in genetic hypertension // Am. J. Hypertens. — 1996. — 9. — P. 237—241.
20. Carthwaite G., Bartus K., Malcolm D. Signaling from blood vessels to CNS axong through NO // J. Neurosci. — 2006. — 26. — P. 7730—7740.
21. Carswell H.V.O., Anderson N.H., Clark J.S. et al. Genetic and gender influences on sensitivity to focal cerebral ischemia in the stoke-prone spontaneously hypertensive rat // Hypertension. — 1999. — 33. — P. 681—685.
- 21a. Castillo
22. Chan P.H. Role of oxidants in ischemic brain damage // Stroke. — 1996. — 27. — P. 1124—1129.
23. Chen J., Zacharek A., Zhang C. et al. Endothelial NOS regulates brain-derived neurotrophic factor expression and neurogenesis after stroke // J. Neurosci. — 2005. — 25. — P. 2366—2375.
24. Cockcroft K.M., Meistrel M., Zimmerman G.A. et al. Cerebroprotective effects of aminoguanidine in a rodent model of stroke // Stroke. — 1996. — 27. — P. 1393—1398.
25. Coyle P., Heistad D.D. Blood flow through cerebral collateral vessels in hypertensive and normotensive rats // Hypertension. — 1998. — 8 (Suppl. II). — P. 67—71.
26. Eliasson M.J.L., Huang Z., Ferrante R.J. et al. nNOS activation and peroxynitrite formation in ischemic stroke linked to reural damage // J. Neurosci. — 1999. — 9. — P. 5910—5918.
27. Endres M., Laufs U., Liao J.K., Moskowitz M.A. Targeting eNOS for stroke protection // Trends Neurosci. — 2004. — 27. — P. 283—289.
28. Faraci F.M., Breesc K.R., Heistad M.D. Responses of cerebral arterioles to kainite // Stroke. — 1994. — 25. — P. 2080—2084.
29. Faraci F.M., Heistad D.D. Regulation of the cerebral circulation: role of endothelium and potassion channels // Physiol. Rev. — 1998. — 78. — P. 53—97.
30. Fassbender K., Fatar M., Ragoesche A. et al. Subacute but not acute generation of NO in facial cerebral ischemia // Stroke. — 2000. — 31. — P. 2208—2212.
31. Feuerstein G.Z., Wang X., Barone F.C. Role of inflammation in the pathogenesis of cerebral ischemia // Cerebrovascular diseases / Eds. Ginsberg M.D., Bogouslawski J. — Blackwell Science, Cambridge M.A., 1998. — P. 508—573.
32. Galie N., Ghofrani H.A., Torbicki A. et al. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension // N. Engl. J. Med. — 2005. — 353. — P. 2148—2157.
33. Gaspardone A., Arca M. Atorvastatin: its chinal role in cerebrovascular prevention // Drug 2007. — 67. — Suppl. 1. — P. 55—62.
34. Gertz K., Priller J., Kronenberg G. et al. Physical activity improves long-term stroke outcome via eNOS-dependent augmentation of neo-vascularization and cerebral blood flow // Circul. Res. — 2006. — 99. — P. 1132—1140.
35. Graham S.H., Chen J. Programmed cell death in cerebral ischemia // J. Cereb. Blood Flow. Metab. — 2001. — 21. — P. 99—109.
36. Gupta T.K. Pathophysiology of portal hypertension // Bullieres Clin. Gastroenterol. — 1998. — 1(2). — P. 203—219.
37. Gursoy-Ozdemir Y., Can Y., Dalkara T. Reperfusion-induced oxidative/nitrative injury toneurovascular unit after focal cerebral ischemia // Stroke. — 2004. — 35. — P. 1449—1453.
38. Huang Z., Huang P.L., Ma J. et al. Enlarged infarcts in eNOS knockout mice are attenuated by nitro-L-arginine // J. Cereb. Blood Flow Metab. — 1996. — 16. — P. 981—987.
39. Hundetz A.G., Shen H., Kampine J.P. NO from nNOS plays critical role in cerebral capillary flow response to hypoxia // Am. J. Physiol. — 1998. — 274. — H982—H989.
40. Ignarro L.I., Cirino G., Casino A. et al. NO as a signaling molecule in the vascular system: an overview // J. Cardiovasc. Pharmacol. — 1999. — 34. — P. 879—886.
41. Ishigaro M., Puryear C.B., Rosenblum W.I. et al. Enhanced myogenic tone in cerebral arteries from a rabbit model of subarachnoid hemorrhage // Am. J. Physiol. — 2002. — 282. — H2217—H2225.
42. Jiang X., Shi E., Nakajima Y., Sato S. Postconditioning, a series of brief interruption of early reperfusion, pre-

- vents neurologic injury after spinal cord ischemia // *Ann. Surg.* — 2006. — 244. — P. 148–153.
43. **Nkharana V.G., Smith L.A., Baker T.A.** et al. Protective vasomotor effects of in vivo recombinant eNOS gene expression in a canine model of cerebral vasospasm // *Stroke.* — 2002. — 33. — P. 782–789.
44. **Karantzoulis F., Antoniou H., Lai S.L.** et al. Characterization of the human eNOS promoter // *J. Biol. Chem.* — 1999. — 5. — P. 3076–3093.
45. **Kidd G.A., Debrick L.W., Brovcovic W.** et al. No Deficiency contributes to large cerebral infarct size. — *Hypertension.* — 2000. — 35. — P. 1111–1118.
46. **Kunz A., Laihac P., Abe T.** et al. Neurovascular protection by ischemic tolerance: role of NO // *Neurology of Disease.* — 2007. — 27. — P. 7083–7093.
47. **Ladecola C., Zhang F., Xu X.** Inhibition of iNOS ameliorates cerebral ischemic damage // *Am. J. Physiol.* — 1995. — 268. — R286–R292.
48. **Ladecola C., Zhang F., Xu S.** et al. Inducible NOS gene expression in brain following cerebral ischemia // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* — 1995. — 15. — P. 378–384.
49. **Ladecola C., Yang G., Xu S.** 7-Nitroindazole attenuates vasodilation from cerebral parallel fiber stimulation but not acetylcholine // *Am. J. Physiol.* — 1996. — 270. — R914–R919.
50. **Ladecola C., Zhang F., Casey R.** et al. iNOS in the ischemic area of the brain // *Stroke.* — 1996. — 27. — P. 1373–1380.
51. **Ladecola C., Zhang F., Casey R.** et al. Delayed reduction of ischemic brain infarct and neurological deficits in mice lacking the iNOS gene // *J. Neurosci.* — 1997. — 17. — P. 9157–9164.
52. **Ladecola C.** Bright and dark sides of NO in ischemia brain injury // *Trends Neurosci.* — 1997. — 20. — P. 132–139.
53. **Ladecola C., Alexander M.** Cerebral ischemia and inflammation // *Curr. Opin. Neurol.* — 2001. — P. 14. — P. 89–94.
54. **Lang Z.G., Chopp M., Malinski T., Bailey F.** NO changes in the rat brain after transient middle cerebral artery occlusion // *J. Neurol. Sci.* — 1995. — 128. — P. 22–27.
55. **Laufs U., Werner N., Endres M.** et al. Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation and enhances angiogenesis // *Circulation.* — 2004. — 109. — P. 220–226.
56. **Lee J.M., Grabb M.C., Zipfel G.J.** Brain Tissue responses to ischemia // *J. Clin. Invest.* — 2000. — 106. — P. 723–731.
57. **Lin B., Globus M.Y., Dietrich W.D.** et al. Differing neurochemical and morphological sequelae of global ischemia: comparison of single and multiple-insult paradigms // *J. Neurosci.* — 1992. — 59. — P. 2212–2223.
58. **Lindauer U., Drieh J., Angswurm K.** et al. Role Of NOS inhibition in leukocyte-endothelium interaction in the pial microvasculature // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* — 1996. — 16. — P. 1143–1152.
59. **Malinski T., Bailey F., Zhang Z.G., Chopp M.** NO measured by porphyrin microsensor in rat brain after transient middle cerebral artery occlusion // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* — 1993. — 13. — P. 355–358.
60. **Marchal G., Beaudouin V., Rioux P.** et al. Prolonged persistence of substantial volumes of potentially viable brain tissue after stroke // *Stroke.* — 1996. — 27. — P. 599–606.
61. **Meng W., Tobin J.R., Busija D.W.** Glutamate-induced cerebral vasodilatation is mediated by NO through N-methyl-D-Aspartate receptors // *Stroke.* — 1995. — 26. — P. 857–863.
62. **Muranyi M., Li P.A.** Bongkrekic acid ameliorates ischemic neuronal death in the cortex by preventing cytochrome C release and inhibiting astrocyte activation // *Neurosci. Lett.* — 2005. — 384. — P. 277–281.
63. The National Institute of Neurological Disease and Stroke rt-tPA Stroke study group // *N. Engl. Med.* — 1995. — 333. — P. 1581–1587.
64. **Nagawa S., Zhang F., Ross M.E.** et al. Expression of COX-2 in the ischemic cerebral area // *Neurosci.* — 1997. — 17. — P. 2746–2755.
65. **Navaro-Antelin J., Campos R., Lamas S.** Transcriptional induction of eNOS gene by Cyclosporine A: a role of activator protein-1 // *J. Biol. Chem.* — 2000. — 275. — P. 3075–3080.
66. **Ostrowski R.P., Colohan A.R., Zhang J.H.** Molecular mechanisms of early brain injury after subarachnoid hemorrhage // *Neurol. Res.* — 2006. — 28. — P. 399–414.
67. **Pluta R.M.** Delayed cerebral vasospasm and NO: review and hypothesis and proposed treatment // *Pharmacol. Ther.* — 2005. — 105. — P. 23–56.
68. **Pollok J.S., Carmines K.** Diabetic nephropathy: NO and renal medullary hypoxia // *Am. J. Physiol.* — 2007. — 294. — F28–F29.
69. **Rosengarten B., Dieter A., Manfred K.** Effect of initiation and acute withdrawal of statins on the neurovascular coupling mechanism // *Stroke.* — 2007. — 38. — P. 3193–3198.
70. **Sobey C.G., Quan L.** Impaired cerebral vasodilator responses to NO and PDE V inhibition after subarachnoid hemorrhage // *Am. J. Physiol.* — 1999. — 277. — H1718–H1724.
71. **Toda N., Okamura T.** Nitroxidergic nerve: regulation of vascular tone and blood flow in the brain // *J. Hypertens.* — 1996. — 14. — P. 423–434.
72. **Wang T., Hitron L., Pickel V.M.** Synaptic and vascular association of neuros containing COX-2 and NOS in somatosensory cortex // *Cereb. Cortex.* — 2005. — 15(8). — P. 1250–1260.
- 72-A. **Wang J., Vhen J., Gao Q.** et al. Ischemic postconditioning protects against global cerebral ischemia/reperfusion injury // *Stroke.* — 2008. — 39. — P. 983–989.
73. **Yang G.Y., Chan P.H., Chen J.** Human copper-zinc superoxide dismutase transgenic mice are highly resistant to reperfusion injury after focal cerebral ischemia // *Stroke.* — 1994. — 25. — P. 165–170.
74. **Yoshida T., Limmroth V., Ikikura K., Moskowitz M.A.** The NOS inhibitor, 7-nitroindazole, decreases focal infarct volume but not the response to topical acetylcholine in pial vessels // *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* — 1994. — 14. — P. 924–929.
75. **Zhang Z.G., Chopp M., Zaloga C.** et al. Cerebral eNOS expression after local cerebral ischemia // *Stroke.* — 1993. — 24. — P. 2016–2022.
76. **Zhang F., Casey R.M., Ross M.E.** et al. Aminoguanidine ameliorates and L-arginine worsens brain damage from intraluminal middle cerebral artery occlusion // *Stroke.* — 1996. — 27. — P. 317–323.
77. **Zhang V., Leffer C.W.** Compensatory role of NO in cerebral circulation of piglet chronically treated with indomethacin // *Am. J. Physiol.* — 2002. — 282. — R400–R410.
78. **Zhang W.H., Fu S.B., Lu F.H.** et al. Involvement of calcium-sensing receptor in ischemia/reperfusion-induced apoptosis in cardiomyocytes // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2006. — 347. — P. 872–881.

Поступила 08.06.11

В.А. Ахмедов<sup>1</sup>, В.Т. Долгих<sup>1</sup>, Д.В. Наумов<sup>2</sup>, Н.А. Нечипоренко<sup>2</sup>

## **Клиническое значение матриксных металлопротеиназ при сердечно-сосудистой патологии**

<sup>1</sup> Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Омская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, 644043, Омск, ул. Ленина, 12

<sup>2</sup> Негосударственное учреждение здравоохранения «Отделенческая клиническая больница на станции Омск-Пассажирский ОАО РЖД», 644099, Омск, ул. Карбышева, 41

*Матриксные протеиназы это многочисленное семейство эндопептидаз, участвующих в деградации экстрацеллюлярного матрикса. Оценка их клинической значимости при сердечно-сосудистой патологии позволит проводить патогенетически обоснованное лечение пациентов.*

**Ключевые слова:** матриксные металлопротеиназы, сердечно-сосудистая патология

V.A. Akhmedov<sup>1</sup>, V.T. Dolgikh<sup>1</sup>, D.V. Naumov<sup>2</sup>, N.A. Nechiporenko<sup>2</sup>

## **The clinical significance of matrix metalloproteases in heart and vascular pathology**

<sup>1</sup> Omsk state medical academy, 12, Lenin street, Omsk, 644043, Russia

<sup>2</sup> Railway Clinical Hospital on Omsk-Passazhirskaia station ОАО «Rzhd», 41, Karbyshev str., Omsk, 644099, Russia

*The matrix metalloproteases are the big family of endopeptidases that takes part in degradation of extracellular matrix. The investigation of clinical significance of matrix metalloproteases in heart and vascular pathology can organize the pathogenetic treatment of the patients with heart and vascular diseases.*

**Key words:** matrix metalloproteases, heart and vascular pathology

В современной литературе все больший акцент в патогенетических механизмах формирования сердечно-сосудистой патологии отводится матриксным металлопротеиназам (ММП). Матриксные протеиназы представляют собой многочисленное семейство цинк-зависимых эндопептидаз, которые принимают участие в деградации экстрацеллюлярного матрикса [8]. В соответствии с присущей структурой матриксные металлопротеиназы классифицируются на коллагеназы (ММП-1, ММП-8 и ММП-13), стромелизины (ММП-3, ММП-10 и ММП-11), желатиназы (ММП-2 и ММП-9), металлопротеиназу мембранного типа (МТ-ММП) и другие виды (матрилизины, металлоэстеразы и др.). Активность металлопротеиназ регулируется транскрипцией гена, а также их взаимодействием с тканевыми ингибиторами матриксных металлопротеиназ (ТИМП), среди которых на сегодняшний день известно четыре ингибитора (ТИМП-1, ТИМП-2, ТИМП-3 и ТИМП-4) [8].

Источником синтеза ММП, а также других протеаз, таких, как катепсины, являются воспалительные

клетки. Активированные макрофаги запускают выработку в организме провоспалительных цитокинов, а те, в свою очередь, усиливают притягивание ММП в клетки сосудистой стенки. Запускают синтез матриксных металлопротеиназ провоспалительные цитокины — ФНО $\alpha$  и интерлейкин-1 $\beta$ , а также С-реактивный белок, который активирует выработку ММП-1 макрофагами и ММП-10 эндотелиальными клетками, при этом, не влияя на синтез тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-1 [14].

Доказательство участия матриксных металлопротеиназ в формировании ишемической болезни сердца (ИБС) были получены в исследованиях, проведенных при аутопсии, которые убедительно продемонстрировали, что в коронарных сосудах, интенсивно пораженных атеросклеротическим процессом, выявлялось значительное повышение концентрации ММП-2 и ММП-9, а это неминуемо приводило к выраженной деградации матрикса, ослаблению и истончению сосудистой стенки [19]. Именно поэтому наиболее высокие показатели ММП-2 и ММП-9 обнаруживаются в аневризмах брюшного отдела аорты. В экспериментальных исследованиях на крысах было продемонстрировано, что локальное увеличение продукции естественного ингибитора синтеза

**Для корреспонденции:** Ахмедов Вадим Адильевич, д-р мед. наук, проф. каф. факультетской терапии ГБОУ ВПО ОмГМА Минздрава России. E-mail: v\_akhmedov@mail.ru

ММП-9 — тканевого ингибитора матричной металлопротеиназы-1 предотвращает дегенерацию и разрыв аневризмы аорты [22]. В формировании разрыва аневризмы аорты также активное участие принимает матричная металлопротеиназа-10 (ММП-10) [7].

Внезапный разрыв атеросклеротической бляшки приводит к локальной продукции тромбина в месте сосудистого повреждения, что значительно облегчает активацию ММП-2 [21]. Активация выработки матричной металлопротеиназы-14 способствует притягиванию к атеросклеротической бляшке сосудистых гладкомышечных клеток и фибробластов, что является немаловажным фактором развития гиперплазии интимы [9].

На активацию синтеза матричных металлопротеиназ оказывает влияние целый ряд факторов. Было доказано, что гормональная терапия женщин в постменопаузальном периоде способствует снижению выработки ММП-9 [11]. Лица с семейной гиперхолестеринемией характеризуются повышенной концентрацией в сыворотке крови ММП-3, ММП-9 и ТИМП-1 и это ассоциируется у них с частым формированием атеросклероза сонных артерий [4]. Значительно повышенная концентрация ММП-9 у этой категории пациентов может быть уменьшена длительной терапией статинами [12]. Повышенный синтез ММП-9 и ТИМП-1 выявляется у пациентов с сахарным диабетом и метаболическим синдромом [20]. В экспериментальных исследованиях на животных было показано, что увеличение концентрации глюкозы в крови приводит к гиперпродукции ММП-1, ММП-2 клетками эндотелия и ММП-9 макрофагами, но не влияет на продукцию ТИМП-1 [6]. В проведенных нами исследованиях [1] было показано, что повышение содержания в сыворотке крови ММП-9 у больных с метаболическим синдромом положительно коррелирует с величиной и вариабельностью пульсового и систолического артериального давления, что указывает на связь концентрации ММП-9 со степенью увеличения содержания коллагена в сосудистой стенке. Также нами было отмечено, что у больных метаболическим синдромом с увеличенным индексом массы миокарда левого желудочка содержание в крови ММП-9 достоверно выше, чем у больных с нормальной массой миокарда, что может свидетельствовать о том, что увеличение массы и утолщение стенок миокарда могут быть обусловлены не только гипертрофией, но и увеличением содержания коллагеновой ткани в миокарде, что может приводить к увеличению частоты и продолжительности пароксизмов фибрилляции [1].

Увеличение концентрации ММП-9 и ТИМП-1 наблюдается у пациентов с высоким артериальным

давлением и утолщением стенок артерий [2, 22]. Также повышение выработки ММП-9 и ТИМП-1 отмечается у курящих людей, при этом имеется прямая зависимость со стажем курения [16].

Таким образом, данные современной литературы убедительно демонстрируют активное участие матричных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в патогенезе различных проявлений атеросклероза и ИБС, что открывает перспективы проведения патогенетической коррекции данных изменений. На сегодняшний день уже имеются данные о том, что терапия статинами приводит к значительному снижению выработки ММП-9 и других металлопротеиназ (ММП-1, 2, 3) [13]. Также доказано, что терапия блокаторами ангиотензиновых рецепторов приводит к снижению выработки ММП-9, ММП-1 и 2 [5], а назначение  $\beta$ -адреноблокатора карведилола снижает выработку ММП-1 [17]. Ряд антибиотиков, в частности доксициклин уменьшает внутрисосудистую и системную выработку матричных металлопротеиназ [3], а назначение антиоксидантов приводит к снижению выработки ММП-1 [18].

Значительное повышение концентрации ММП-2 и ММП-9 в сыворотке крови пациентов с острым коронарным синдромом поднимает вопрос о возможности появления в скором будущем неинвазивного диагностического теста для оценки дестабилизации атеросклеротических бляшек [10].

В настоящее время ведется работа над созданием специфических ингибиторов матричных металлопротеиназ, применение которых позволит при выраженном атеросклеротическом процессе защитить пациента от внезапного разрыва атеросклеротической бляшки, а также от формирования аневризмы аорты и сердечной недостаточности [15].

### Список литературы

1. *Ахмедов В.А., Долгих В.Т., Наумов Д.В., Дворников В.Э.* Металлопротеиназная активность у больных с метаболическим синдромом и фибрилляцией предсердий // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. — 2010. — Т. 8. — Вып. 4. — С. 113–118.
2. *Allaire E., Forough R., Clowes M.* et al. Local overexpression of TIMP-1 prevents aortic aneurysm degeneration and rupture in a rat model // J. Clin. Invest. — 1998. — Vol. 102. — P. 1413–1420.
3. *Axisa B., Loftus I.M., Naylor A.R.* et al. Prospective, randomized, double-blind trial investigating the effect of doxycycline on matrix metalloproteinase expression within atherosclerotic carotid plaques // Stroke. — 2002. — Vol. 33, №12. — P. 2858–2864.
4. *Beaudeux J.L., Giral P., Bruckert E.* et al. Serum matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 as potential markers of carotid atherosclerosis in infraclinical hyperlipidemia // Atherosclerosis. — 2003. — Vol. 169. — P. 139–146.

5. **Cipollone F., Fazio M., Iezzi A.** et al. Blockade of the angiotensin II type 1 receptor stabilizes atherosclerotic plaques in humans by inhibiting prostaglandin E2-dependent matrix metalloproteinase activity // *Circulation*. — 2004. — Vol. 109, №12. — P. 1482–1488.
6. **Death A.K., Fisher E.J., McGrath K.C.** et al. High glucose alters matrix metalloproteinase expression in two key vascular cells: potential impact on atherosclerosis in diabetes // *Atherosclerosis*. — 2003. — Vol. 168. — P. 263–269.
7. **Dollery C.M., Libby P.** Atherosclerosis and proteinase activation // *Cardiovasc. Res.* — 2006. — Vol. 69. — P. 625–635.
8. **Johnson J.L.** Matrix metalloproteinases: influence on smooth muscle cells and atherosclerotic plaque stability // *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.* — 2007. — Vol. 5, №2. — P. 265–282.
9. **Johnson J.L.** Matrix metalloproteinases: influence on smooth muscle cells and atherosclerotic plaque stability // *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.* — 2007. — Vol. 5. — P. 265–282.
10. **Kai H., Ikeda H., Yasukawa H.** et al. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 1998. — Vol. 32. — P. 368–372.
11. **Koh K.K., Ahn J.Y., Kang M.H.** et al. Effects of hormone replacement therapy on plaque stability, inflammation, and fibrinolysis in hypertensive or overweight postmenopausal women // *Am. J. Cardiol.* — 2001. — Vol. 88, №12. — P. 1423–1426.
12. **Koh K.K., Son J.W., Ahn J.Y.** et al. Comparative effects of diet and statin on NO bioactivity and matrix metalloproteinases in hypercholesterolemic patients with coronary artery disease // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2002. — Vol. 22, №9. — P. 19–23.
13. **Luan Z., Chase A.J., Newby A.C.** Statins inhibit secretion of metalloproteinases-1, -2, -3, and -9 from vascular smooth muscle cells and macrophages // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2003. — Vol. 23. — P. 769–775.
14. **Montero I., Orbe J., Varo N.** et al. C-reactive protein induces matrix metalloproteinase-1 and -10 in human endothelial cells: implications for clinical and subclinical atherosclerosis // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2006. — Vol. 47, №7. — P. 1369–1378.
15. **Mukherjee R., Brinsa T.A., Dowdy K.B.** et al. Myocardial infarct expansion and matrix metalloproteinase inhibition // *Circulation*. — 2003. — Vol. 107. — P. 618–625.
16. **Nakamura T., Ebihara I., Shimada N.** et al. Effect of cigarette smoking on plasma metalloproteinase-9 concentration // *Clin. Chim. Acta.* — 1998. — Vol. 276. — P. 173–177.
17. **Ohtsuka T., Hamada M., Saeki H.** et al. Serum levels of matrix metalloproteinases and tumor necrosis factor- $\alpha$  in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy and effect of carvedilol on these levels // *Am. J. Cardiol.* — 2003. — Vol. 91, №8. — P. 1024–1027.
18. **Orbe J., Rodriguez J.A., Arias R.** et al. Antioxidant vitamins increase the collagen content and reduce MMP-1 in a porcine model of atherosclerosis: implications for plaque stabilization // *Atherosclerosis*. — 2003. — Vol. 167. — P. 45–53.
19. **Pasterkamp G., Schoneveld A.H., Hijnen D.J.** et al. Atherosclerotic arterial remodeling and the localization of macrophages and matrix metalloproteinases 1, 2 and 9 in the human coronary artery // *Atherosclerosis*. — 2000. — Vol. 150. — P. 245–253.
20. **Roberts C.K., Won D., Pruthi S.** et al. Effect of a short-term diet and exercise intervention on oxidative stress, inflammation, MMP-9, and monocyte chemotactic activity in men with metabolic syndrome factors // *J. Appl. Physiol.* — 2006. — Vol. 100, №5. — P. 1657–1665.
21. **Sawicki G., Salas E., Murat J.** et al. Release of gelatinase A during platelet activation mediates aggregation // *Nature*. — 1997. — Vol. 386. — P. 616–619.
22. **Yasmin J., McEniery C.M., Wallace S.** Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2005. — Vol. 25. — P. 372.

Поступила 12.03.11

#### Сведения об авторах:

*Долгих Владимир Терентьевич*, д-р мед. наук, проф., зав. каф. патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии ГБОУ ВПО ОмГМА Минздрава России

*Наумов Дмитрий Валерьевич*, канд. мед. наук, врач кардиологического отделения Негосударственного учреждения здравоохранения НУЗ «ОКБ на ст. Омск» ОАО РЖД

*Нечипоренко Наталья Александровна*, зав. отд. функциональной диагностики здравоохранения НУЗ «ОКБ на ст. Омск» ОАО РЖД

И.Н. Тюренков, А.В. Воронков, А.А. Слиецанс

## **Роль эндотелиальной дисфункции в развитии сосудистых осложнений сахарного диабета**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Волгоградский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 400131, Волгоград, пл. Павших Борцов, 1

*Обзор литературы рассматривает основные патогенетические факторы (гиперинсулинемия; гипергликемия; инсулинорезистентность; оксидативный стресс; нейрогормональная активация; нарушения в системе синтеза, выделения и доступности оксида азота и др.), лежащие в основе развития дисфункции эндотелия при сахарном диабете и определяет их роль в возникновении и прогрессировании сосудистых осложнений данного заболевания.*

**Ключевые слова:** эндотелиальная дисфункция, сахарный диабет, оксид азота

I.N. Turenkov, A.V. Voronkov, A.A. Slietsans

## **Role of endothelial dysfunction in the development of vascular complications of diabetes**

Volgograd State Medical University, 3, Pugachev str., Volgograd, 400001, Russia

*The literature review discusses the main pathological factors (hyperinsulinemia, hyperglycemia, insulin resistance, oxidative stress, neurohormonal activation, disturbances in the synthesis system, allocation and availability of nitric oxide, etc.) that underlie the development of endothelial dysfunction in diabetes mellitus and determine their role in the development and progression of vascular complications of this disease.*

**Key words:** endothelial dysfunction, diabetes, nitric oxide

В настоящее время отмечен бурный рост числа больных с сахарным диабетом (СД). По данным экспертов ВОЗ к 2015 г. в мире прогнозируется прирост числа больных, страдающих сахарным диабетом типа 2, до 300 млн чел. [13]. И хотя последнее десятилетие отмечено значительными успехами в понимании патофизиологии и молекулярной биологии сахарного диабета и его осложнений, до сегодняшнего дня заболевание остается серьезной медицинской и социальной проблемой [7, 16].

Особую социальную значимость СД определяют его поздние осложнения. Лидирующее место среди осложнений и смертности у пациентов с СД занимает сердечно-сосудистая патология [5, 15, 29, 42]. Согласно результатам Framingham Heart Study, риск развития ИБС при сахарном диабете возрастает в 2—5 раз, а риск развития мозговых инсультов — в 3—4 раза, смертность от ИБС, по данным разных источников, — в 3—6 раз, а от цереброваскулярных заболеваний — в 2—3 раза превышает аналогичные показатели в общей популяции [39]. Современные эксперименталь-

ные и клинические исследования позволяют говорить о том, что в основе сосудистых осложнений при сахарном диабете лежит нарушение функции эндотелия [2]. Считается, что эндотелиальная дисфункция (ЭД) при сахарном диабете развивается достаточно рано. При сахарном диабете в развитии эндотелиальной дисфункции особое значение придается следующим факторам — гипергликемии, оксидативному стрессу, полиоловому пути метаболизма глюкозы, протеинкиназе С, конечным продуктам гликирования белков, нарушению липидного состава крови (повышению фракции атерогенных липидов, снижению антиатерогенных), изменению реологических свойств крови и барьерной функции эндотелия [11, 12]. Развитие эндотелиальной дисфункции при сахарном диабете также может быть сопряжено с такими патогенетическими звеньями, как инсулинорезистентность и гиперинсулинемия [11, 24].

В настоящее время, бесспорно, признается тесная взаимосвязь инсулинорезистентности и эндотелиальной дисфункции [27]. При инсулинорезистентности отмечается снижение инсулин-опосредованной и эндотелиозависимой вазодилатации. Поэтому эндотелиальная дисфункция является интегрированным синдромом инсулинорезистентности, способствует ее усугублению, увеличению реактивности сосудов, кардиоваскулярным

**Для корреспонденции:** Тюренков Иван Николаевич, д-р мед. наук, проф., зав. каф. фармакологии и биофармации ФУВ ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава РФ. E-mail: prohor.77@mail.ru



осложнениям [6]. При гипергликемии в эндотелиальных клетках активируется фермент протеинкиназа-С, что способствует увеличению проницаемости сосудистых клеток для белков и нарушает эндотелиозависимую релаксацию сосудов. Кроме того, гипергликемия активирует процессы перекисного окисления, продукты которого угнетают сосудорасширяющую функцию эндотелия [30]. Дислипидемия повышает экспрессию адгезивных молекул на поверхности эндотелиальных клеток, что дает начало формированию атеромы [26]. Таким образом, все перечисленные состояния, повышая проницаемость эндотелия, экспрессию адгезивных молекул, секрецию вазоконстрикторов (эндотелина, тромбосана), снижая эндотелиозависимую релаксацию сосудов и секрецию вазодилататоров (оксида азота, простаглицлина), способствуют прогрессированию атерогенеза и, соответственно, дисфункции эндотелия [6, 24].

Следующим фактором, приводящим к развитию ЭД при СД, является гиперинсулинемия [19], которая способствует дальнейшему прогрессированию нарушения секреции инсулина β-клетками (феномен глюкозотоксичности) и усугублению периферической инсулинорезистентности и нарушению функции эндотелия [19]. Известно также, что гиперинсулинемия способствует активации симпатической нервной системы, в результате чего возрастает сердечный выброс и стимулируется вазоконстрикция периферических кровеносных сосудов. Установлено, что симпатическая нервная система и путь

L-аргинин — NO играют главную роль в посредничестве действия инсулина на сердечно-сосудистую систему. Симпатическая стимуляция почек усиливает выработку ренина и повышает активность ренин-ангиотензиновой системы (РАС). Ангиотензин II — главный действующий компонент РАС, блокирует PI 3-K (медиатор биологического действия инсулина) — сигнальный путь инсулина в клетках, что приводит к нарушению транспорта глюкозы в клетки, гипергликемии, нарушению липидного баланса и усилению атерогенного действия инсулина [20], и нарушению функции эндотелия.

Ангиотензин II увеличивает гидравлическое давление в клубочковом аппарате почек, что на фоне ЭД приводит сначала к микроальбуминурии, а затем прогрессированию СД и макроальбуминурии. Другим следствием действия повышенной концентрации АТ-II является стимуляция синтеза эндотелина-1, снижение выработки NO, пролиферация гладкомышечных клеток артерий, гипертрофия кардиомиоцитов [18, 20]. Характерное для лиц с инсулинорезистентностью и гиперинсулинемией уменьшение ответа на вазодилаторное и усиление — на вазоконстрикторное воздействие может быть обусловлено не только изменениями метаболизма и архитектоники сосудистой стенки, но также влияниями на эндотелий сосудов и тромбоциты, сопровождающимися усилением продукции эндотелина, тромбосана A<sub>2</sub>, простаглицлина F<sub>2</sub> и уменьшением выработки простаглицлина [18, 33].



Основные патогенетические факторы эндотелиальной дисфункции при сахарном диабете

Таким образом, можно отметить, что инсулинорезистентность и гиперинсулинемия являются основными патогенетическими звеньями АГ и соответственно других сердечно-сосудистых осложнений, развивающихся при сахарном диабете [20, 43].

Важную роль в развитии ЭД при СД отводят развитию оксидативного стресса [22, 40]. Было показано, что при гипергликемии различные процессы (аутоокисление глюкозы, перекисное окисление липидов, активация индуцибельной NO-синтазы) приводят к избыточному образованию свободных радикалов. При сахарном диабете активность собственных антиоксидантных систем снижается, что совместно с избыточным образованием свободных радикалов приводит к развитию оксидативного стресса [35]. Важен тот факт, что при оксидантном стрессе была выявлена тесная взаимосвязь между уровнем инсулина крови и содержанием в ней атерогенных фракций липидов (ХС<sub>ЛПНП</sub> и ХС<sub>ЛПОНП</sub>), которые оказываются повышенными. В тоже время отмечается значительное снижение содержания антиатерогенных ХС<sub>ЛПВП</sub> [28, 36].

Немаловажное значение в изменении функционирования эндотелия имеет характерное для таких больных усиление процессов перекисного окисления липидов [5]. Перекисно-модифицированные ХС<sub>ЛПНП</sub> наиболее атерогенны, они обладают прямым цитотоксическим действием, вызывая повреждение эндотелия, стимулируя адгезию моноцитов на его поверхности, взаимодействуют с факторами свертывания крови, активируя экспрессию тромбопластина и ингибитора активации плазминогена [44].

В первую очередь в патогенезе ЭД от таких патологических воздействий нарушается синтез оксида азота, который считается «модератором» всех функций эндотелия, что ведет к сниженной релаксации сосудов, повышенной проницаемости, ускоренной пролиферации гладкомышечных клеток и повышенному риску тромбоэмболических осложнений [14, 17]. Кроме того, снижение выработки оксида азота — базового фактора антиатерогенеза, может ускорить формирование атеросклеротической бляшки на всех этапах. Доказано, что оксидативный стресс приводит к нарушению функции эндотелия, уменьшению выработки NO, увеличению образования адгезивных молекул, вазоконстрикторов и других факторов, которые затем приводят к снижению вазодилатирующей функции эндотелия, воспалению, тромбозу, поражению сосудистой стенки [40]. Супероксид-ион реагирует с NO, при этом образуется пероксинитрит (ONOO), который не является вазодилататором, а его повышенные концентрации цитотоксичны и усиливают повреждающее эндотелий действие продуктов свободнорадикального окисления [21, 32].

Некоторые авторы предполагают, что именно с гиперинсулинемии начинаются практически все звенья атеросклероза. Она способствует повышению чувствительности, а возможно, и увеличению количества ре-

цепторов для ХС<sub>ЛПНП</sub> на клеточных мембранах стенки артерии, приводя тем самым к ускоренному транспорту избытка ХС в сосудистую стенку [3].

Хроническая гипергликемия — ключевая причина начала биохимических нарушений, лежащих в основе изменений сосудистой стенки и опосредованных свободными радикалами. Гипергликемия служит причиной гликирования — неферментативного присоединения (за счет химических связей) глюкозы к аминной NH<sub>2</sub>-группе аминокислоты лизина любого белка, возможно и к ДНК, и накопления конечных продуктов гликозилирования (КПГ) [31]. Под влиянием КПГ белки более легко подвергаются аутоокислению с образованием свободных радикалов, оказывающих деструктивное действие на мембраны различных клеток, в том числе на эндотелиоциты. Белки, содержащие КПГ, взаимодействуют со специфическими рецепторами макрофага, который в ответ на это синтезирует и секретирует серию цитокинов, способствующих, в свою очередь, воспалению, пролиферации клеток сосудистой стенки, что влияет на ее свойства, способствуя иммобилизации ХС<sub>ЛПНП</sub> в сосудистой стенке, приводящее к образованию бляшек в интиме [25]. Эти же продукты при взаимодействии с рецепторами эндотелиальных клеток способствуют повышенному синтезу в них эндотелина-1, который является не только мощным вазоконстрикторным фактором, но и способствует нарушениям в физиологическом действии инсулина. КПГ блокируют и инактивируют вазодилатирующее действие оксида азота на сосудистую стенку [34, 38].

Кроме этого, уже на ранних стадиях СД отмечаются гемореологические нарушения, выражающиеся в повышении вязкости плазмы и агрегационной способности эритроцитов и тромбоцитов (уменьшение синтеза простациклина и увеличение синтеза тромбосана А<sub>2</sub>), а также фибринолитической активности плазмы [23, 37].

Отмечаются нарушения гемореологических показателей при СД в виде: повышения вязкости крови, агрегации тромбоцитов и эритроцитов, синтеза и выделения веществ, индуцирующих адгезию и агрегацию тромбоцитов (фактор Виллебранда, фактор активации тромбоцитов, АДФ, тромбосан А<sub>2</sub>);

При этом снижается фибринолитическая активности плазмы, антикоагулянтная активность плазмы (снижение содержания тромбомодулина, ингибитора тканевого пути свертывания), снижается синтез тромборегуляторов, меняющих проницаемость и опосредующих вазомоторные реакции (простациклин, тромбосан А<sub>2</sub>, оксид азота), а также веществ, регулирующих клеточную пролиферацию (тканевой активатор плазминогена).

Хотя вопрос первичности или вторичности ЭД при СД на сегодняшний день остается открытым, морфологические изменения в сосудистом эндотелии, объясняющие развитие и прогрессирование микро- и макроангиопатии, достаточно хорошо изучены. Они характе-

ризуются усилением адгезии лейкоцитов, тромбоцитов и отложением фибрина на поверхности эндотелия, повышенной пролиферацией эндотелиоцитов, увеличением количества многоядерных клеток эндотелия, утолщением базальной мембраны, увеличением площади поверхности эндотелиоцитов, повышенной текучестью их мембран и увеличением проницаемости капиллярной стенки [14].

Немаловажную роль в развитии ЭД при СД отводят нарушению барьерной функции эндотелия. Следствием этого является инфильтрация субэндотелиального слоя клетками крови (лимфоцитами и макрофагами), белками плазмы крови (С-реактивный белок, сывороточный амилоид др.), что неизбежно ведет к изменению функциональных свойств сосудистой стенки. Так, было показано, что С-реактивный белок стимулирует секрецию эндотелиоцитами молекул межклеточной и сосудистой адгезии, а также Е-селектина — веществ, инициирующих дальнейшее повышение проницаемости интимы и клеточную пролиферацию сосудистой стенки [9].

Таким образом, повреждение эндотелия в сочетании с повышенной агрегацией тромбоцитов вплоть до тромбозов и высвобождением тромбоцитарных и моноцитарных факторов роста приводит к гладкомышечной пролиферации с последующим формированием фиброзных бляшек, позднее замещающихся холестерином и кальцифицирующихся [1].

Еще одним фактором, приводящим к изменениям функции эндотелия, является гипергомоцистеинемия, которая представляет собой независимый фактор развития сердечно-сосудистых осложнений при различных патологических состояниях, в том числе и при сахарном диабете, но механизмы, ведущие к клеточной дисфункции, остаются не до конца изученными [8]. Считается, что одной из причин гипергомоцистеинемии является гипергликемия, поэтому наблюдаются повышенные уровни этой аминокислоты при сахарном диабете [41]. Высокий уровень гомоцистеинемии является фактором риска развития как атеросклеротического, так и тромбогенного поражения сосудов. В настоящее время известно, что гомоцистеин может способствовать развитию оксидантного стресса, нарушению эндотелиозависимой вазодилатации, пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, активации тромбоцитов и коагуляционного каскада. Процесс окисления гомоцистеина способствует и окислению липопротеидов низкой плотности, что стимулирует процессы атерогенеза [9].

Аналогично гомоцистеину, повышенные уровни гликированного гемоглобина могут являться одним из главных показателей для оценки компенсации сахарного диабета и верификации риска развития микро- и макрососудистых осложнений [10].

Таким образом, существует тесная патогенетическая взаимосвязь между эндотелиальной дисфункцией и сахарным диабетом, а нарушение функции эндотелиальной

системы при сахарном диабете является причиной развития многих сердечно-сосудистых заболеваний. Следовательно, поиск терапевтических возможностей восстановления нарушенной функции эндотелия остается актуальной проблемой в решении задач предупреждения и лечения сосудистых осложнений сахарного диабета.

### Список литературы

1. *Алеева Г.Н., Журавлева М.В., Сапельникова Э.Р.* Гиполипидемическая терапия у больных сахарным диабетом 2-типа // Рос. мед. журн. — 2005. — Т. 13, №6. — С. 377.
2. *Башкирова Ю.В.* Эндотелиальная дисфункция и микроциркуляторные нарушения у больных сахарным диабетом 2 типа // Бюл. Сиб. отд. Рос. акад. мед. наук. — 2008. — №6. — С. 182.
3. *Благосклонная Я.В., Красильникова Е.И., Шляхто Е.В.* Метаболический сердечно-сосудистый синдром // Рос. мед. журн. — 2001. — Т. 9, №2. — С. 67—71.
4. *Демидова Т.Ю.* Ожирение как ключевая и модифицируемая причина развития сахарного диабета 2 типа // Рос. мед. журн. — 2009. — Т. 17, №7. — С. 450—454.
5. *Джанашия П.Х., Мирина Е.Ю.* Нарушение липидного обмена при сахарном диабете 2 типа и варианты его коррекции // Рос. мед. журн. — 2008. — Т. 16, №11. — С. 1561—1567.
6. *Ивашкин В.Т.* Инсулинорезистентность и болезни сердца: есть ли связь? // Фарматека. — 2009. — №15. — С. 61—65.
7. *Калашикова М.Ф., Новикова М.С.* Как и когда начинать комбинированную терапию сахарного диабета 2-го типа // Леч. врач. — 2009. — №3. — С. 5—11.
8. *Калмыков Ю.М.* Гомоцистеин — предиктор патологических изменений в организме человека // Рос. мед. журн. — 2009. — Т. 17, №4. — С. 224—228.
9. *Карпов Ю.А.* Дисфункция артериального эндотелия и ее значение для оценки прогноза у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2010. — №2. — С. 69—73.
10. *Мисникова И.В., Древаль А.В., Ковалева Ю.А.* Гликированный гемоглобин — основной параметр в контроле сахарного диабета // Сахарный диабет. — 2008. — №4. — С. 38—42.
11. *Мкртумян А.М.* Молекулярно-генетические особенности, характер метаболизма глюкозы и функция эндотелия у больных метаболическим синдромом русской популяции // Сахарный диабет. — 2008. — №4. — С. 26—32.
12. *Недогода С.В., Чаляби Т.А., Барыкина И.Н.* Возможность повышения метаболической безопасности при терапии диуретиками у пациентов с дисгликемией и ожирением // Справочник поликлинического врача. — 2010. — №5. — С. 29—32.
13. *Недосугова Л.В.* Новые стратегии в лечении СД 2 типа // Рос. мед. журн. — 2004. — Т. 12, №12. — С. 732—737.
14. *Петрищев Н.Н.* Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. — СПб., 2003. — 184 с.
15. *Петров В.И., Рогова Н.В., Михайлова Д.О.* Фармакоэкономический анализ эффективности комплексной терапии больных с сахарным диабетом 2-го типа // Вестник ВолгГМУ. — 2010. — №1 (33). — С. 28—33.

16. **Спасов А.А., Чепурнова М.В.** Научные подходы к комбинированной терапии сахарного диабета типа 2 // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2011. — №37. — С. 9—13.
17. **Тюрников И.Н., Воронков А.В., Слищанс А.А.** и др. Влияние флавицина на вазодилатирующую и антитромботическую функции эндотелия у животных с экспериментальным сахарным диабетом // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2010. — Т. 73, №12. — С. 17—21.
18. **Титов В.Н.** Анатомические и функциональные основы эндотелий-зависимой вазодилатации, оксид азота и эндотелин // Рос. кардиол. журн. — 2008. — №1. — С. 71—86.
19. **Шестакова М.В., Бутрова С.А., Сухарева О.Ю.** Метаболический синдром как предвестник развития сахарного диабета 2-го типа и сердечно-сосудистых заболеваний // Терапевт. арх. — 2007. — №10. — С. 5—8.
20. **Шишкова В.** Метаболические нарушения в патогенезе цереброваскулярных заболеваний у пациентов с сахарным диабетом // Врач. — 2010. — №5. — С. 41—43.
21. **Юсупова Ш.К.** О нарушении функционального состояния симпатико-адреналовой системы и процессов перекисного окисления липидов при сахарном диабете 2 типа с артериальной гипертензией у мужчин // Рос. кардиол. журн. — 2009. — №2. — С. 27—31.
22. **Azza B.** Peroxynitrite mediates diabetes-induced endothelial dysfunction: possible role of rho kinase activation experimental diabetes research // Exp. Diabetes. Res. — 2010. — ID 247861.
23. **Ayilavarapu S.** Diabetes-Induced Oxidative Stress Is Mediated by  $Ca^{2+}$ -Independent Phospholipase A2 in Neutrophils // J. of Immunology. — 2010. — Vol. 184. — P. 1507—1515.
24. **Baskurt O.K., Meiselman H.J.** RBC aggregation: more important than rBC adhesion to endothelial cells as a determinant of *in vivo* blood flow in health and disease // Microcirculation. — 2008. — Vol. 15. — P. 585—590.
25. **Bagry H.S.** Metabolic syndrome and insulin resistance // Anesthesiology. — 2008. — Vol. 108, №3. — P. 506—523.
26. **Bastaa G.** Advanced glycation end products and vascular inflammation: implications for accelerated atherosclerosis in diabetes // Cardiovascular Research. — 2004. — Vol. 63, №4. — P. 582—592.
27. **Ceriello A.** Postprandial Hyperglycemia and Cardiovascular Disease: Is the heart2d study the answer? // Diabetes Care. — 2009. — Vol. 32. — P. 521—522.
28. **Cersosimo E., DeFronzo R.A.** Insulin resistance and endothelial dysfunction: the road map to cardiovascular diseases // Diabetes Metab. Res. Rev. — 2006. — Vol. 22, №6. — P. 423—436.
29. **Chait A., Bornfeldt K.E.** Diabetes and atherosclerosis: is there a role for hyperglycemia? // J. Lipid Res. — 2009. — Vol. 50. — P. 335—339.
30. **Cheng A.** Cardiovascular risk and glycemic control // Canadian Medical Association J. — 2009. — Vol. 180. — P. 907—908.
31. **Cosentino F.** High glucose causes upregulation of cyclooxygenase-2 and alters prostanoid profile in human endothelial cells: role of protein kinase C and reactive oxygen species // Circulation. — 2003. — Vol. 107, №7. — P. 1017—1023.
32. **De Rubertis F.R.** Oxidative and glycooxidative stress in diabetic nephropathy // Contemporary Diabetes: The Diabetic Kidney. — 2006. — P. 151—172.
33. **El-Remessy A.B.** Peroxynitrite mediates diabetes-induced endothelial dysfunction: possible role of rho kinase activation // Exp. Diabetes. Res. — 2010. — №247861.
34. **Hsueh W.A.** Insulin resistance and the endothelium // Am. J. Med. — 2004. — Vol. 117. — P. 109—117.
35. **Katrien H.J.** Receptor for advanced glycation end product polymorphisms and type 2 diabetes // Annals of the New York Academy of Sciences. — 2008. — Vol. 1126. — P. 162—165.
36. **Lunawati L.** The role of antioxidants on oxidative stress in diabetes mellitus // Pharm. Technol. — 2010. — Vol. 26. — P. 293—299.
37. **Madhu S.V.** Postprandial lipaemia in patients with impaired fasting glucose, impaired glucose tolerance and diabetes mellitus // Diabetes Res. Clin. Practice. — 2008. — Vol. 80. — P. 380—385.
38. **Maurin N.** The role of platelets in atherosclerosis, diabetes mellitus, and chronic kidney disease. An attempt at explaining the TREAT study results // Med. Klin. — 2010. — Vol. 105, №5. — P. 339—344.
39. **Mendez J.D.** Trends in advanced glycation end products research in diabetes mellitus and its complications // Mol. Cell. Biochem. — 2010. — Vol. 341, №1—2. — P. 33—41.
40. **Moghissi E.S., Ismail-Beigi.** Glycemia management and cardiovascular risk in type 2 diabetes: an evolving perspective // Endoc. Pract. — 2008. — Vol. 14, №5. — P. 639—643.
41. **Pitocco D.** Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes // Rev. Diabet. Stud. — 2010. — Vol. 7, №1. — P. 15—25.
42. **Potter K.** Homocysteine and cardiovascular disease: should we treat? // Clin. Biochem. Rev. — 2008. — Vol. 29. — P. 27—30.
43. **Ryden L.** Guidelines on diabetes, pre-diabetes and cardiovascular diseases: executive summary // Eur. Heart J. — 2007. — Vol. 28. — P. 88—136.
44. **Tak W.W.** Endothelial dysfunction: the common consequence in diabetes and hypertension // J. Cardiovasc. Pharmacol. — 2010. — Vol. 55. — P. 300—307.
45. **Tomkin G.H.** Atherosclerosis, diabetes and lipoproteins // Cardiovasc. Ther. — 2010. — Vol. 8, №7. — P. 1015—1029.

Поступила 26.12.11

### Сведения об авторах:

**Тюрников Иван Николаевич**, д-р мед. наук, проф., зав. каф. фармакологии и биофармации ФУВ ГБОУ ВПО ВолГМУ Минздрава РФ

**Воронков Андрей Владиславович**, канд. мед. наук, ассистент кафедры фармакологии и биофармации ФУВ ГБОУ ВПО ВолГМУ Минздрава РФ

**Слищанс Анна Альбертовна**, канд. фарм. наук, ассистент кафедры фармакологии и биофармации ФУВ ГБОУ ВПО ВолГМУ Минздрава РФ