



Учредители:
Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И. П. Павлова
ООО «СП Минимакс»

Основан в ноябре 2001 года

научно- практический журнал

том 17

2018

№ 2 (66)

Содержание

Contents

Обзоры

Reviews

Фильченко И. А., Свиряев Ю. В., Власов Т. Д.
Нейропротективное действие орексиновой системы
при ишемическом инсульте

4

Filchenko I. A., Sviryaev Yu. V., Vlasov T. D.
Neuroprotective activity of orexin system
in ischemic stroke

Оригинальные статьи (клинические исследования)

Original articles (clinical investigations)

Памова А. П., Суворов А. В., Федорович А. А.
Микроциркуляция в коже верхних конечностей
и параметры центральной гемодинамики
при часовом дыхании чистым кислородом

12

Pamova A. P., Suvorov A. V., Fedorovich A. A.
Microcirculation in the skin of the upper extremities and
the parameters of central hemodynamics with hourly
breathing of pure oxygen

Лындина М. Л., Шишкин А. Н.
Клинические особенности эндотелиальной дисфункции
при ожирении и роль фактора курения

18

Lyndina M. L., Shishkin A. N.
Clinical features of endothelial dysfunctions in patients
with obesity and role of smoking

Дмитриенко Н. Ю., Сарап Л. Р., Кириенкова Е. А.
Оценка микроциркуляции в пульпе постоянных зубов
с несформированными корнями с помощью ультра-
звуковой доплерографии после лечения методом
прямого покрытия пульпы биоактивными материалами

26

Dmitrienko N. U., Sarap L. R., Kirienkova E. A.
Evaluation of microcirculation in the pulp of immature
permanent teeth by ultrasound doppler after direct pulp
capping with bioactive materials

**Василевская Л. А., Нечипуренко Н. И.,
Пашковская И. Д.**
Функциональное состояние эндотелия
и оценка тканевой гипоксии на момент развития
у пациентов транзиторной ишемической атаки

30

**Vasilevskaya L. A., Nechipurenko N. I.,
Pashkouskaya I. D.**
Endothelium functional state and evaluation of tissue
hypoxia in patients at the moment of the transitorial
ischemic attacks development

Милуков В. Е., Жарикова Т. С.
Тип кровоснабжения сердца и суммарная длина
венечных артерий у мужчин и женщин
во втором периоде зрелого и в пожилом возрасте

37

Milyukov V. Y., Zharikova T. S.
The type of blood supply to the heart and the total length
of coronary arteries in men and women in the second
period of mature and elderly age

- Стрельцова Н. Н., Васильев А. П., Бессонов И. С., Колунин Г. В.** **42** **Streltsova N. N., Vasilyev A. P., Bessonov I. S., Kolunin G. V.**
Изменение микроциркуляторной картины у больных перемежающейся хромотой после эндоваскулярного восстановления магистрального кровотока конечности
The microcirculatory changes in patients with intermittent claudication after endovascular restoration of main blood flow to the extremity
- Скедина М. А., Соловьёва З. О., Ковалёва А. А., Ильин В. К.** **49** **Skedina M. A., Solov'eva Z. O., Kovaleva A. A., Ilyin V. K.**
Исследование тканей пародонта при моделировании условий микрогравитации
Examination of periodontal tissue in modeling microgravity conditions
- Симаненкова А. В., Макарова М. Н., Васина Л. В., Бутомо М. И., Дора С. В., Шляхто Е. В.** **57** **Simanenkova A. V., Makarova M. N., Vasina L. V., Butomo M. I., Dora S. V., Shlyakhto E. V.**
Агонист рецептора глюкагоноподобного пептида-1 уменьшает дисфункцию эндотелия у больных сахарным диабетом 2-го типа
Glucagon-like peptide-1 receptor agonist diminishes endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients
- Оригинальные статьи
(экспериментальные исследования)**
- Рыжков И. А., Заржецкий Ю. В.** **64** **Ryzhkov I. A., Zarzhetsky Yu. V.**
Влияние циркуляторной и гемической гипоксии на микроциркуляцию в коже
Influence of circulatory and hemic hypoxia on cutaneous microcirculation
- Куркин Д. В., Бакулин Д. А., Волотова Е. В., Логвинова Е. О., Авдиенко К. А., Тюренков И. Н.** **71** **Kurkin D. V., Bakulin D. A., Volotova E. V., Logvinova E. O., Avdienko K. A., Tyurenkov I. N.**
Влияние комбинации агониста рецептора GPR119 с метформином и ситаглиптином на мозговой кровоток, функциональное состояние эндотелия и уровень липидов у животных, содержащихся в условиях высокожировой и калорийной диеты
Influence of novel GPR119 agonist in combination with metformin and sitagliptin on lipid profile and endothelial function in rats fed a high-fat diet
- Чумасов Е. И., Петрова Е. С., Коржевский Д. Э.** **78** **Chumasov E. I., Petrova E. S., Korzhevskii D. E.**
Структурно-функциональная характеристика эндотелиальных клеток сосудов сердца новорожденной крысы (иммуногистохимическое исследование)
Structural and functional characteristics of endothelial cells of vessels of the heart of newborn rats (immunohistochemical study)
- Папаян Г. В., Акопов А. Л., Антонян П. А., Ильин А. А., Петрищев Н. Н.** **84** **Papayan G. V., Akopov A. L., Antonyan P. A., Ilin A. A., Petrishchev N. N.**
Инфракрасная флуоресцентная лимфография в экспериментальных и клинических условиях
Infrared fluorescence lymphography in experimental and clinical practice
- Колпакова М. Э., Фильченко И. А., Трайковский А., Цыба Д. Л., Кирик О. В., Хан А., Ляйперт А., Коржевский Д. Э., Власов Т. Д.** **92** **Kolpakova M. E., Filchenko I. A., Trajkovski A., Tsyba D. L., Kirik O. V., Ariebe A. Khan, Leipert A., Korzhevskii D. E., Vlasov T. D.**
Особенности поведения в восьмирукавном лабиринте на фоне изменений активности микроглии полосатого тела после моделирования фокальной транзиторной ишемии головного мозга у крыс
Rat's behaviour in eight-arms maze after modeling of focal transient cerebral ischemia with subsequent activation of striatal microglia
- Информация** **97** **Information**

Regional hemodynamics and microcirculation

Editor-in-chief

N. N. Petrishchev (Saint-Petersburg, Russia).
Vice Editor

T. D. Vlasov (Saint-Petersburg, Russia).
Senior Associate Editor

S. N. Tultseva (Saint-Petersburg, Russia).
Associate Editors

V. I. Amosov (Saint-Petersburg, Russia),
N. A. Bubnova (Saint-Petersburg, Russia),
M. M. Galagudza (Saint-Petersburg, Russia),
D. P. Dvoretzky (Saint-Petersburg, Russia),
A. V. Muravyov (Yaroslavl, Russia),
G. G. Hubulava (Saint-Petersburg, Russia),
V. A. Tsyrlin (Saint-Petersburg, Russia),
E. V. Shlyakhto (Saint-Petersburg, Russia).

Editorial Board

V. V. Banin (Moscow, Russia),
E. R. Barantsevich (Saint-Petersburg, Russia),
N. A. Belyakov (Saint-Petersburg, Russia),
Jarle Vaage (Oslo, Norway),
A. Yu. Vasilyev (Moscow, Russia),
I. A. Vozniuk (Saint-Petersburg, Russia),
A. V. Gavrilenko (Moscow, Russia),
I. P. Dudanov (Petrozavodsk, Russia),
O. G. Zverev (Saint-Petersburg, Russia),
V. I. Kozlov (Moscow, Russia),
V. B. Koshelev (Moscow, Russia),
A. I. Krupatkin (Moscow, Russia),
V. E. Milyukov (Moscow, Russia),
K. M. Morozov (Moscow, Russia),
V. S. Nikiforov (Saint-Petersburg, Russia),
Axel Pries (Berlin, Germany),
Carlota Saldanha (Lisbon, Portugal),
D. A. Starchik (Saint-Petersburg, Russia),
S. K. Ternovoy (Moscow, Russia),
S. B. Tkachenko (Moscow, Russia),
A. N. Shishkin (Saint-Petersburg, Russia)

Регионарное кровообращение и микроциркуляция

Редакционная коллегия

д. м. н., профессор Петрищев Н. Н. — главный редактор
(Санкт-Петербург),

д. м. н., профессор Власов Т. Д. — заместитель главного редактора
(Санкт-Петербург),

д. м. н., профессор Тульцева С. Н. — ответственный секретарь
(Санкт-Петербург),

д. м. н., профессор Амосов В. И. (Санкт-Петербург),

д. м. н., профессор Бубнова Н. А. (Санкт-Петербург),

чл.-корр. РАН, профессор Галагудза М. М. (Санкт-Петербург),

чл.-корр. РАН, профессор Дворецкий Д. П. (Санкт-Петербург),

д. б. н., профессор Муравьев А. В. (Ярославль),

акад. РАН, профессор Хубулава Г. Г. (Санкт-Петербург)

д. м. н., профессор Цырлин В. А. (Санкт-Петербург),

акад. РАН, профессор Шляхто Е. В. (Санкт-Петербург).

Редакционный совет

чл.-корр. РАН, профессор Банин В. В. (Москва),

д. м. н., профессор Баранцевич Е. Р. (Санкт-Петербург),

акад. РАН, профессор Беляков Н. А. (Санкт-Петербург),

профессор Вааге Г. (Осло, Норвегия),

чл.-корр. РАН, профессор Васильев А. Ю. (Москва),

д. м. н., профессор Вознюк И. А. (Санкт-Петербург),

акад. РАН, профессор Гавриленко А. В. (Москва),

чл.-корр. РАН, профессор Дуданов И. П. (Петрозаводск),

д. м. н., профессор Зверев О. Г. (Санкт-Петербург),

д. м. н., профессор Козлов В. И. (Москва),

д. б. н., профессор Кошелев В. Б. (Москва),

д. м. н., профессор Крупаткин А. И. (Москва),

д. м. н., профессор Милюков В. Е. (Москва),

д. м. н., профессор Морозов К. М. (Москва),

д. м. н., профессор Никифоров В. С. (Санкт-Петербург),

профессор Прис А. (Берлин, Германия),

профессор Сандаля Карлота (Лиссабон, Португалия),

д. м. н. Старчик Д. А. (Санкт-Петербург),

акад. РАН, профессор Терновой С. К. (Москва),

чл.-корр. РАН, профессор Ткаченко С. Б. (Москва),

д. м. н., профессор Шишкин А. Н. (Санкт-Петербург).

Издательство ООО «СП Минимакс»

197376, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 7

тел.: (812) 234-9546, 234-3895; факс: 234-3877

e-mail: minimax7@lek.ru

Лицензия: ЛП № 000141 от 08 апреля 1999 г.

Регистрационное удостоверение: ПИ № 77-9025

Подписано в печать: 14.05.2018 г.

Формат: А4

Печать офсетная

Тираж 1000

Заказ № 173

УДК 616.8-092

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-4-11

ФИЛЬЧЕНКО И. А.^{1, 2, 3}, СВИРЯЕВ Ю. В.^{2, 3}, ВЛАСОВ Т. Д.^{1, 3}

Нейропротективное действие орексиновой системы при ишемическом инсульте

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова» Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия
194223, Россия, Санкт-Петербург, пр. Тореца, д. 44

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2
e-mail: tvlasov@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 28.02.18; принята к печати 23.03.18

Резюме

Изучение защитного потенциала орексинергической системы является важным направлением поиска стратегий снижения повреждения головного мозга при ишемическом инсульте. Установлен цитопротективный эффект орексинов при гипоксическом повреждении, обусловленный антиоксидантными, противовоспалительными, антиапоптотическими свойствами пептидов, а также их способностью усиливать пролиферацию и нормализовывать метаболизм. Влияние орексинов на память и болевой синдром при ишемическом инсульте изучено недостаточно, но общность патогенеза данных нарушений и механизмов действия орексинов указывает на возможность применения орексинов для коррекции указанных осложнений. Дальнейшие исследования защитного эффекта орексинов могут стать шагом на пути создания новых подходов к лечению ишемического инсульта.

Ключевые слова: орексины, инсульт, нейропротекция, ишемия головного мозга

Для цитирования: Фильченко И. А., Свириев Ю. В., Власов Т. Д. Нейропротективное действие орексиновой системы при ишемическом инсульте. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(2):4–11. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-4-11

UDC 616.8-092

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-4-11

FILCHENKO I. A.^{1, 2}, SVIRYAEV Yu. V.^{2, 3}, VLASOV T. D.^{1, 3}

Neuroprotective activity of orexin system in ischemic stroke

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Pavlov First Saint Petersburg State Medical University», St. Petersburg, Russia

197022, Russia, Saint-Petersburg, L'va Tolstogo street, 6–8

² Sechenov institute of evolutionary physiology and biochemistry Russian academy of sciences, St. Petersburg, Russia

194223, Russia, Saint-Petersburg, Toreza street, 44

³ Federal State Budgetary Institution «Almazov National Medical Research Centre» of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

197341, Russia, Saint-Petersburg, Akkuratova street, 2

e-mail: tvlasov@yandex.ru

Received 28.02.18; accepted 23.03.18

Summary

The protective potential of orexin system is a field of interest in the search of the new methods to diminish brain damage in ischemic stroke. The cytoprotective potential of orexins in hypoxic damage is associated with their antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic properties and with their ability to activate proliferation and normalize metabolism. Even though today little is known about the role of orexins in memory and pain in ischemic stroke, the common features of the pathogenesis of these disruptions and the mechanisms of orexin-associated protection could suggest the opportunity to use of orexins for correction of these complications following ischemic stroke. Further studies of the orexin-associated neuroprotection could become the further step on the way to the new therapeutic approaches in ischemic stroke.

Keywords: orexin, stroke, neuroprotection, brain ischemia

For citation: Filchenko I. A., Sviryaev Yu. V., Vlasov T. D. Neuroprotective activity of orexin system in ischemic stroke. Regional hemodynamics and microcirculation. 2018;17(2):4–11. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-4-11

Введение

Ишемический инсульт является одной из наиболее значимых проблем здравоохранения, характеризующаяся высоким уровнем инвалидизации пациентов и значительной летальностью [50]. Известно, что ежегодно в России смертность от данного заболевания составляет 374 случая на 100 000 населения в год [1], что соответствует актуальным данным Всемирной организации здравоохранения, согласно которым, инсульт является 2-й по частоте причиной смерти [37]. Следует отметить, что на данный момент не обнаружено эффективной клинической стратегии для снижения размера некроза при ишемическом повреждении головного мозга. Помимо неврологических последствий, ишемический инсульт может осложняться нарушением памяти и развитием выраженного болевого синдрома [24, 30]. Коррекция осложнений у пациентов с ишемическим инсультом должна составлять весомую часть комплексного терапевтического подхода, однако значимость данных нарушений в процессе реабилитации зачастую недооценивается врачами. В связи с этим поиск механизмов цитопротекции при ишемическом повреждении головного мозга, которые могут быть основой разработки методов лечения, является актуальным.

Орексины – нейропептиды, вырабатывающиеся в латеральных ядрах гипоталамуса и взаимодействующие со специфическими орексиновыми рецепторами [6, 52]. Орексин А является неселективным агонистом рецепторов орексина 1 и 2 типов, тогда как орексин В воздействует преимущественно на рецепторы орексина 2-го типа [48]. Нейроны, содержащие орексин А и орексин В, расположены в латеральных и задних отделах гипоталамуса, тогда как нервные волокна, содержащие орексин А и орексин В, распространяются до обонятельной луковицы, коры головного мозга, таламуса, гипоталамуса и ствола мозга [7]. Рецептор орексина 1-го типа обнаружен во многих участках головного мозга, включая инфраламбическую кору, гиппокамп, паравентрикулярные ядра таламуса, вентромедиальные ядра гипоталамуса, дорсальное ядро шва, голубое пятно [31], в то время как рецептор орексина 2-го типа экспрессируется в коре головного мозга, перегородочных ядрах, гиппокампе, медиальных ядрах таламуса, ядрах шва и множестве ядер гипоталамуса, включая бугорно-сосцевидное ядро, дорсомедиальное ядро, паравентрикулярное ядро и пресосцевидное ядро [31].

Орексинергическая система участвует в регуляции нейроэндокринного гомеостаза, нейрогенезе, цикле сна и бодрствования, активации симпатической нервной системы, регуляции пищевого поведения, настроения, терморегуляции, энергетического обмена, стрессорных реакций [6, 52]. На экспериментальных моделях нейродегенеративных заболеваний [14, 38] были доказаны цитопротективные свойства активаторов орексинергической системы. Также подтверждена взаимосвязь между полиморфизмом гена орексинового рецептора 2-го типа и динамикой отдельных показателей при сердечной недостаточности у человека [39], что подчеркивает значение орексинергической системы как перспективной терапевтической мишени при различных заболеваниях.

В представленном обзоре рассмотрена роль и возможности модуляции орексинергической системы при ишемическом инсульте.

Роль орексинергической системы в патофизиологии ишемического инсульта

Многочисленные экспериментальные и клинические работы указывают на вовлеченность орексинергической системы в патогенез гипоксического и ишемического повреждения.

Так, К. Dohi et al. (2006) [9] на модели глобальной ишемии-реперфузии у крыс, обусловленной 5-минутной остановкой сердца, отмечают возрастание концентрации орексина А в спинно-мозговой жидкости через 24 ч после повреждения, с постепенным снижением на 2-й и 4-й день после ишемии и возвращением к исходным значениям на 7-й день после повреждения. При этом изменения в концентрации орексина А в спинно-мозговой жидкости напрямую коррелировали с экспрессией рецепторов орексина 1-го типа в СА1-поле гипоталамуса [9]. Экспрессия рецепторов орексина 1-го типа увеличивалась в нейронах, олигодендроцитатах и астроглиоцитах в области коры и гиппокампа на 2-й день после транзиторной окклюзии общих сонных артерий у мышей [35]. При фокальной транзиторной ишемии головного мозга у крыс было описано увеличение нейронов, экспрессирующих орексин А, на стороне ишемии по сравнению с контрлатеральным полушарием [27]. Вероятно, орексин можно рассматривать как эндогенный нейропротектор, поскольку степень снижения концентрации орексина А у пациентов в остром периоде ишемического инсульта коррелировала с размером повреждения головного мозга по данным компьютерной томографии [28].

Следует отметить, что геморрагические нарушения вызывают снижение образования орексина. Так, в работе К. Dohi et al. (2008) [10] описали снижение уровня орексина А у пациентов с геморрагическим инсультом и у пациентов с субарахноидальным кровоизлиянием на 13-й день после инсульта, при этом взаимосвязи тяжести состояния пациентов с уровнем орексина А обнаружено не было. У пациентов с кровоизлиянием в область таламуса также отмечались более низкие уровни орексина А [10].

Возможности защитного действия агонистов рецепторов орексина

В большинстве экспериментальных исследований был показан нейропротективный эффект орексина при ишемическом/гипоксическом повреждении клеток *in vitro* [5, 11, 45, 47, 48] и уменьшение размера ишемического инсульта и степени неврологического дефицита *in vivo* [16, 17, 18, 20, 27, 53, 54, 58] (таблица). Только в одном исследовании (L. Yuan et al., 2011) [58] при фокальной транзиторной ишемии головного мозга у крыс было описано незначимое увеличение повреждения головного мозга и неврологического дефицита при введении высокой дозы орексина, что, однако, объясняется тем, что применяемая в данной работе доза была сверхмаксимальной (100 мкг/кг), в то время как в этой же и других работах применение меньших доз сопровождалось достоверным нейропротективным действием.

Экспериментальные исследования нейропротективного потенциала орексина A при фокальной транзиторной ишемии головного мозга

Experimental studies of neuroprotective effect of orexin A in transient focal brain ischemia									
Авторы	Год	Экспериментальная модель	Завершение эксперимента (день после моделирования окклюзии SMA)	Доза	Способ введения	Сроки	Результат	Возможный механизм	Ссылка
E. Kitamura et al.	2010	Окклюзия SMA в течение 2 ч у крыс	24 ч	0,03 нмоль/животное, 0,3 нмоль/животное, 3 нмоль/животное	В желудочек головного мозга	Перед моделированием фокальной ишемии головного мозга	Снижение размеров инсульта только у животных, получавших препарат в дозе 0,3 нмоль	Усиление перфузии головного мозга за счет повышения артериального давления	[27]
S. Harada et al.	2011	Окклюзия SMA в течение 2 ч у мышей массой 25–30 г	3 дня	2,5 пкмоль/животное, 25 пкмоль/животное, 250 пкмоль/животное	В область гипоталамуса	В начале реперфузии	Дозозависимое снижение размеров инсульта и неврологического дефицита	Предотвращение развития постинсультного нарушения толерантности к глюкозе	[16]
L. Yuan et al.	2011	Окклюзия в течение 2 ч SMA у крыс	3 дня	3 мкг/кг, 10 мкг/кг, 30 мкг/кг	Внутривенно	В начале реперфузии	Дозозависимое снижение размеров инсульта и неврологического дефицита	Предотвращение апоптоза; активация экспрессии фактора HIF-1	[58]
			7 дней	100 мкг/кг			Незначительное увеличение размеров инсульта		
				30 мкг/кг		Через 10 мин после начала реперфузии	Снижение размеров инсульта и выраженной неврологической недостаточности		
				30 мкг/кг		За 10 мин до начала ишемии	Снижение размеров инсульта и выраженной неврологической недостаточности		
S. Harada et al.	2013	Окклюзия SMA в течение 2 ч у мышей массой 25–30 г	3-й день	1 пкмоль/животное, 5 пкмоль/животное	В область гипоталамуса	В начале реперфузии	Дозозависимое снижение размеров инсульта и неврологического дефицита	Предотвращение развития постинсультного нарушения толерантности к глюкозе и воздействие на нервную ткань посредством BDNF	[20]
X. Xiong et al.	2013	Окклюзия SMA в течение 1 ч у мышей массой 25–35 г	48 ч	2 нмоль/животное	В желудочек головного мозга	За 30 мин до начала реперфузии	Снижение размеров инсульта	Противовоспалительное действие (снижение уровня провоспалительных цитокинов)	[54]
S. Harada et al.	2014	Окклюзия SMA в течение 2 ч у мышей массой 25–30 г	3-й день	2 нмоль/животное	В область гипоталамуса	В начале реперфузии	Снижение размеров инсульта, неврологического дефицита и нарушений памяти	Предотвращение развития постинсультного нарушения толерантности к глюкозе	[18]
S. Harada et al.	2017	Окклюзия SMA в течение 2 ч у мышей массой 25–30 г	3-й день	0,2 мкл/животное	В область гипоталамуса	В начале реперфузии	Снижение размеров инсульта, неврологического дефицита и нарушений памяти	Предотвращение развития постинсультного нарушения толерантности к глюкозе	[17]
C.-M. Wang et al.	2017	Окклюзия SMA у крыс в течение 2 ч	24 ч	50 нг/кг	Нет данных	В начале реперфузии	Снижение размеров инсульта до $12,497 \pm 1,912$ % по сравнению с $30,620 \pm 2,665$ % у контрольной группы	Активация сигнальных путей MARK и кальций-зависимых сигнальных путей	[53]

В настоящее время раскрыты отдельные механизмы нейропротективного действия орексина. Установлено, что у крыс, получавших орексин А в начале реперфузии, по сравнению с контрольной группой, экспрессия 149 генов была более чем в 2 раза повышена и экспрессия 500 генов была более чем в 2 раза снижена [53]. Таким образом, орексин влиял на экспрессию генов, связанных с синтезом факторов, регулирующих клеточную адгезию, метаболизм, иммунный ответ, программируемую клеточную гибель и др. [53].

Среди основных механизмов нейропротективного действия орексина можно в качестве наиболее значимых выделить следующие.

Антиоксидантные свойства орексинов

Одним из универсальных механизмов повреждения при ишемии/гипоксии является оксидативное повреждение [2]. Антиоксидантные свойства орексина А доказаны в исследованиях *in vitro*. Так, Т. А. Butterick et al. (2012) [5] на культуре нейронов гипоталамуса эмбриона крысы показали, что орексин А увеличивает жизнеспособность клеток под влиянием оксидативного стресса и снижает перекисное окисление липидов. На аналогичной экспериментальной модели данное наблюдение было подтверждено, и установлено, что орексин А снижает образование активных форм кислорода при воздействии пальмитиновой кислоты на клетки [11]. Снижение образования активных форм кислорода под влиянием орексина А отмечалось и на модели воздействия 6-гидроксидофамина на линию клеток человеческой нейробластомы SH-SY5Y, которая представляет собой *in vitro* модель болезни Паркинсона [12].

Противовоспалительные свойства орексинов

Воспаление считается важнейшим компонентом ишемического/реперфузионного повреждения [4]. В литературе имеется большое количество работ, в которых оценивались противовоспалительные свойства орексина А *in vitro* и *in vivo*. Так, введение орексина за 30 мин до реперфузии на экспериментальной модели ишемического инсульта у мышей приводило к снижению продукции TNF- α клетками микроглии в зоне ишемической пенумбры [54]. У трансгенных мышей линии orexin/ataxin-3, характеризующейся дегенерацией нейронов, продуцирующих орексин, наблюдалась более выраженная инфильтрация ткани головного мозга макрофагами и нейтрофилами по сравнению с животными «дикого» типа, что сопровождалось более тяжелым течением инсульта, однако введение животным орексина А уменьшало ишемическое повреждение [54]. На культуре нейронов и микроглии гипоталамуса мыши, подвергнутых воздействию пальмитиновой кислоты, было показано, что орексин А снижает образование провоспалительных цитокинов IL-6, TNF- α и индуцибельной синтетазы оксида азота и повышает образование противовоспалительного маркера аргиназы-1 [11].

Антиапоптотические свойства орексинов

Известно, что гибель нейронов в зоне пенумбры при ишемическом и реперфузионном повреждении

происходит с участием запуска механизмов апоптоза [40]. На культуре нейронов гипоталамуса эмбриона крысы было показано, что орексин А увеличивает жизнеспособность клеток под влиянием оксидативного стресса и угнетает апоптоз, индуцированный каспазами 3/7 [5]. Кроме того, орексин А вызывает активацию экспрессии антиапоптотического гена Bcl-2 и уменьшает отношение Bax/Bcl-2 [11], а также снижает апоптоз, связанный с эксайтотоксичностью глутамат-кальциевого каскада [3, 51]. Влияние орексина на угнетение активности каспаз и активации Bcl-2 была показана и в других исследованиях [42, 48], причем авторы полагают, что этот механизм запускается через активацию рецепторов орексина 2-го типа и опосредован сигнальными путями Akt и ERK1/2 [29, 42, 47].

Активация клеточной пролиферации и дифференцировки

Известно, что орексинергическая система принимает роль регуляции развития органов центральной нервной системы [36], и предполагается, что она может быть вовлечена в механизмы клеточной пролиферации после ишемического инсульта [59].

N. Yamada et al. (2009) [55] в исследовании на культуре корковых нейронов крыс установили, что орексин А и орексин В увеличивали экспрессию нейротрофина-3, а орексин В также повышал экспрессию и мозгового нейротрофического фактора (BDNF). В дальнейшем S. Narada et al. (2013) [20] предположили, что орексин оказывает нейропротективный эффект при экспериментальном ишемическом инсульте у мышей именно за счет активации BDNF-опосредованных сигнальных путей.

На экспериментальных моделях ишемического инсульта и нейродегенеративных заболеваний были также описаны способности орексина А активировать ангиогенез и влиять на миграцию эндотелиоцитов за счет механизмов, включающих индукцию MEK/ERK-зависимых сигнальных путей [25], увеличение экспрессии фактора, индуцируемого гипоксией-1 (HIF-1 α) и сопряженных с ним эндотелиального сосудистого фактора роста (VEGF) и эритропоэтина [58], и индукцию гемоксигеназы-1 через фактор Nrf2 [13].

Нормализация постишемического нарушения толерантности к глюкозе

Орексинергические нейроны осуществляют интеграцию информации и контроль за уровнем метаболизма, принимая непосредственное участие в регуляции гомеостаза глюкозы, в том числе с участием сигнальных пептидов из органов желудочно-кишечного тракта и жировой ткани [41]. W. N. Kervan et al. (2005) [23] установили, что у пациентов с ишемическим инсультом или транзиторными ишемическими атаками, ранее не имеющими в анамнезе нарушений углеводного обмена, через 24–180 дней после эпизода ТИА отмечается нарушение толерантности к глюкозе. Предполагается, что постинсультная гипергликемия вносит значительный вклад в развитие повреждений нейронов ввиду активации нейронального натриево-

глюкозного котранспортера [56]. Следует отметить, что нормализация уровня глюкозы в остром периоде экспериментального ишемического инсульта у мышей с помощью инсулина или ингибиторов натриево-глюкозного котранспортера приводит к значимому снижению размера инсульта и улучшению показателей неврологического дефицита [19]. Было показано, что введение орексина в область гипоталамуса у мышей с экспериментальным ишемическим инсультом приводит к подавлению нарушения толерантности к глюкозе [16], которое возникает после моделирования ишемического инсульта, благодаря ингибированию снижения экспрессии инсулиновых рецепторов печени и повышению активности печеночных ферментов [17], регулирующих глюконеогенез посредством активации блуждающего нерва [7, 18]. Предполагается, что орексины влияют на метаболизм глюкозы посредством стимуляции образования BDNF, поскольку отмечено, что положительное действие орексина А на нарушение толерантности глюкозы не отмечается у мышей, нокаутных по гену BDNF, после моделирования экспериментального ишемического инсульта [20]. Значение BDNF как фактора, влияющего на нормализацию уровня глюкозы после транзиторной фокальной ишемии головного мозга, было показано и в других работах [46].

Компенсаторное повышение артериального давления

В многочисленных работах установлено, что под влиянием орексина за счет активации симпатической нервной системы происходит увеличение артериального давления и частоты сердечных сокращений [43, 44]. При введении орексина А в область гипоталамуса крысы перед моделированием фокальной транзиторной ишемии головного мозга у животных наблюдалось повышение центрального давления и учащение частоты сердечных сокращений, что сопровождалось увеличением мозгового кровотока на $17,8 \pm 7,8\%$ за 5 мин, которое продолжалось в течение 1 ч с последующим постепенным снижением [27]. Авторы предполагают, что именно усиление мозгового кровотока могло снизить повреждение при экспериментальном ишемическом инсульте [27]. Возможно, усиление мозгового кровотока снижает последствия синдрома обкрадывания, которое возникает при массивном ишемическом повреждении и может являться причиной повреждения участков головного мозга, непосредственно не связанных с зоной ишемии [26].

Влияние орексинов на память

Нарушения запоминания и воспроизведения информации могут возникать при ишемическом инсульте за счет повреждения участков, регулирующих специфические когнитивные процессы [30]. Орексины играют важную роль в обучении и памяти, что может быть связано с активацией процессов возбуждения [8, 22]. Так, у мышей, у которых денегерация орексинергических нейронов происходит во взрослом возрасте, введение орексина сопровождалось нормализацией долгосрочной и краткосрочной памяти [33, 57].

На экспериментальных моделях, в том числе и нейродегенеративных заболеваний и эпилепсии, было показано, что орексин А улучшает запоминание и обучение [22, 60, 49]. S. A. Deadwyler et al. (2007) [8] в исследовании на приматах описали уменьшение когнитивного дефицита, который возникает при депривации сна на фоне введения орексина А, при этом лучшие результаты наблюдались при интраназальном введении препарата по сравнению с внутривенным. Улучшение памяти при введении орексина А также наблюдалось на фоне моделирования транзиторной фокальной ишемии головного мозга у крыс [17, 18].

Влияние орексинов на болевые ощущения

Болевой синдром центрального генеза возникает у 1–8 % пациентов с ишемическим инсультом и считается одним из самых тяжелых его осложнений [24]. Патогенез этого синдрома остается неизвестным, однако в настоящее время среди возможных механизмов высказываются предположения о гипервозбуждении нейронов поврежденных чувствительных путей и повреждении нейронов центральных тормозных путей [24]. Лечение болевого синдрома центрального генеза осуществляется с помощью антидепрессантов и противосудорожных препаратов, однако болевой синдром часто остается резистентным к лечению [24].

Многочисленные экспериментальные работы на различных моделях *in vivo* подтверждают антиноцицептивный эффект орексинов; при этом блокада рецепторов орексина приводит к ингибированию антиноцицептивного действия орексинов и некоторых других препаратов [32]. Среди механизмов антиноцицептивного действия орексинов отмечают активацию синтеза эйкозаноидов 2-арахидоноилглицерина в вентролатеральной части околопроводного серого вещества (центр нисходящей регуляции болевой чувствительности) [21] и активацию аденозиновых рецепторов [34]. Орексин А снижает болевые ощущения при воздействии на вентральную область покрышки посредством активации специфических рецепторов, что приводит поступлению дофамина в прилежащее ядро [15].

Таким образом, несмотря на то, что в настоящее время отсутствуют сведения о влиянии орексинов на болевой синдром при ишемическом инсульте, механизмы антиноцицептивного действия орексинов позволяют предполагать, что они могут быть перспективны для коррекции болевого синдрома при ишемическом инсульте.

Таким образом, орексинергическая система принимает участие в саногенетических процессах в нервной ткани при ишемическом повреждении. Цитопротективный эффект орексинов обусловлен их антиоксидантными, противовоспалительными, антиапоптотическими свойствами, способностью активировать пролиферацию клеточных элементов и нормализовывать метаболизм глюкозы. Орексины могут также оказывать положительное влияние на восстановление при ишемическом инсульте, улучшая память и снижая болевые ощущения. Дальнейшие исследования механизмов нейропротективного эффекта орексинов могут стать очередным шагом на

пути создания подходов к лечению ишемического инсульта и его осложнений.

Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interests.

Литература / References

1. Литвинова М. А. Инсульт: современные тенденции развития и профилактическая работа врача // Здорье и образование в XXI в.: электрон. науч.-образоват. вест. – 2017. – № 5 (19). – С. 20–23. [Litvinova MA. Insult: sovremennye tendentsii razvitiya i profilakticheskaya rabota vracha. Elektronnyi nauchno-obrazovatel'nyi vestnik «Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke.» 2017;19(5):20-23 (In Russ.)].
2. Allen CL, Bayraktutan U. Oxidative stress and its role in the pathogenesis of ischaemic stroke. *Int J Stroke*. 2009;4(6):461-470. doi:10.1111/j.1747-4949.2009.00387.x.
3. Ankarcrona M, Dypbukt JM, Bonfoco E et al. Glutamate-induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptosis depending on mitochondrial function. *Neuron*. 1995;15(4):961-973. doi: 10.1016/0896-6273(95)90186-8.
4. Anrather J, Iadecola C. Inflammation and Stroke: An Overview. *Neurotherapeutics*. 2016;13(4):661-670. doi: 10.1007/s13311-016-0483-x.
5. Butterick TA, Nixon JP, Billington CJ, Kotz CM. Orexin A decreases lipid peroxidation and apoptosis in a novel hypothalamic cell model. *Neurosci Lett*. 2012;524(1):30-34. doi: 10.1016/j.neulet.2012.07.002.
6. Chieffi S, Carotenuto M, Monda V et al. Orexin system: the key for a healthy life. *Front Physiol*. 2017;8:1-9. doi: 10.3389/fphys.2017.00357.
7. Date Y, Ueta Y, Yamashita H et al. Orexins, orexigenic hypothalamic peptides, interact with autonomic, neuroendocrine and neuroregulatory systems. *Proc Natl Acad Sci*. 1999;96(2):748-753. doi: 10.1073/pnas.96.2.748.
8. Deadwyler SA, Porrino L, Siegel JM, Hampson RE. Systemic and nasal delivery of orexin-A (hypocretin-1) reduces the effects of sleep deprivation on cognitive performance in nonhuman primates. *J Neurosci*. 2007;27(52):14239-14247. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3878-07.2007.
9. Dohi K, Nishino S, Nakamachi T et al. CSF orexin A concentrations and expressions of the orexin-1 receptor in rat hippocampus after cardiac arrest. *Neuropeptides*. 2006;40(4):245-250. doi: 10.1016/j.npep.2006.06.003.
10. Dohi K, Ripley B, Fujiki N et al. CSF orexin-A/hypocretin-1 concentrations in patients with intracerebral hemorrhage (ICH). *Regul Pept*. 2008;145(1-3):60-64. doi: 10.1016/j.regpep.2007.08.005.
11. Duffy CM, Nixon JP, Butterick TA. Orexin A attenuates palmitic acid-induced hypothalamic cell death. *Mol Cell Neurosci*. 2016;75(1):93-100. doi: 10.1016/j.mcn.2016.07.003.
12. Esmaeili-Mahani S, Vazifekha S, Pasban-Aliabadi H, Abbasnejad M, Sheibani V. Protective effect of orexin-A on 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity in SH-SY5Y human dopaminergic neuroblastoma cells. *Neurochem Int*. 2013;63(8):719-725. doi: 10.1016/j.neuint.2013.09.022.
13. Feng Y, Liu T, Li X et al. Neuroprotection by Orexin-A via HIF-1 α induction in a cellular model of Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2014;579:35-40. doi: 10.1016/j.neulet.2014.07.014.
14. Hadadianpour Z, Fatehi F, Ayoobi F, Kaedi A, Shamsizadeh A, Fatemi I. The effect of orexin-A on motor and cognitive functions in a rat model of Parkinson's disease. *Neurol Res*. 2017;39(9):845-851. doi: 10.1080/01616412.2017.1352185.
15. Haghighparast A, Yazdi-Ravandi S, Razavi Y, Haghighparast A, Goudarzvand M. Orexin A induced antinociception in the ventral tegmental area involves D1 and D2 receptors in the nucleus accumbens. *Pharmacol Biochem Behav*. 2014;126:1-6. doi: 10.1016/j.pbb.2014.08.009.
16. Harada S, Fujita-Hamabe W, Tokuyama S. Effect of orexin-A on post-ischemic glucose intolerance and neuronal damage. *J Pharmacol Sci*. 2011;115(2):155-163. doi: 10.1254/jphs.10264FP.
17. Harada S, Nozaki Y, Matsuura W, Yamazaki Y, Tokuyama S. Cerebral ischemia-induced elevation of hepatic inflammatory factors accompanied by glucose intolerance suppresses hypothalamic orexin-A-mediated vagus nerve activation. *Brain Res*. 2017;1661:100-110. doi: 10.1016/j.brainres.2017.02.018.
18. Harada S, Yamazaki Y, Koda S, Tokuyama S. Hepatic branch vagus nerve plays a critical role in the recovery of post-ischemic glucose intolerance and mediates a neuroprotective effect by hypothalamic orexin-A. *PLoS One*. 2014;9(4):1-11. doi: 10.1371/journal.pone.0095433.
19. Harada S, Yamazaki Y, Nishioka H, Tokuyama S. Neuroprotective effect through the cerebral sodium – glucose transporter on the development of ischemic damage in global ischemia. *Brain Res*. 2013;1-8. doi: 10.1016/j.brainres.2013.09.041.
20. Harada S, Yamazaki Y, Tokuyama S. Orexin-A suppresses postischemic glucose intolerance and neuronal damage through hypothalamic brain-derived neurotrophic factor. *J Pharmacol Exp Ther*. 2013;344(1):276-285. doi: 10.1124/jpet.112.199604.
21. Ho Y-C, Lee H-J, Tung L-W et al. Activation of orexin 1 receptors in the periaqueductal gray of male rats leads to antinociception via retrograde endocannabinoid (2-arachidonoylglycerol)-induced disinhibition. *J Neurosci*. 2011;31(41):14600-14610. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2671-11.2011.
22. Jaeger LB, Farr SA, Banks WA, Morley JE. Effects of orexin-A on memory processing. *Peptides*. 2002;23(9):1683-1688. doi: 10.1016/S0196-9781(02)00110-9.
23. Kernan WN, Viscoli CM, Inzucchi SE et al. Prevalence of abnormal glucose tolerance following a transient ischemic attack or ischemic stroke. *Arch Intern Med*. 2005;165:227-233. doi: 10.1001/archinte.165.2.227.
24. Kim JS. Pharmacological management of central post-stroke pain: a practical guide. *CNS Drugs*. 2014;28(9):787-797. doi: 10.1007/s40263-014-0194-y.
25. Kim M, Park H, Kim S et al. Angiogenic role of orexin-A via the activation of extracellular signal-regulated kinase in endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;403(1):59-65. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.10.115.
26. Kim TJ, Lee JS, Hong JM, Lim YC. Intracerebral steal phenomenon: A potential mechanism for contralateral stroke after carotid artery stenting. *Neurologist*. 2012;18(3):128-129. doi: 10.1097/NRL.0b013e318253f8b5.
27. Kitamura E, Hamada J, Kanazawa N et al. The effect of orexin-A on the pathological mechanism in the rat focal cerebral ischemia. *Neurosci Res*. 2010;68(2):154-157. doi: 10.1016/j.neures.2010.06.010.
28. Kotan D, Deniz O, Aygul R, Yildirim A. Acute cerebral ischaemia: relationship between serum and cerebrospinal fluid orexin-A concentration and infarct volume. *J Int Med Res*. 2013;41(2):404-409. doi: 10.1177/0300060513477002.
29. Li F, Yao C, Yao L, Huo Z, Liu J. Study on the effects of parecoxib on hypothalamus orexin neuron of cerebral infarction rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;(22):1499-1505.
30. Lim C, Alexander MP. Stroke and episodic memory disorders. *Neuropsychologia*. 2009;47(14):3045-3058. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2009.08.002.

31. Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE et al. Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *J Comp Neurol*. 2001;435(1):6-25. doi: 10.1002/cne.1190.
32. Marjan B, Hosseinzadeh H. A review of the role of orexin system in pain modulation. *Biomed Pharmacother*. 2017;90:187-193. doi: 10.1016/j.biopha.2017.03.053.
33. Mavanji V, Butterick TA, Duffy CM, Nixon JP, Billington CJ, Kotz CM. Orexin/hypocretin treatment restores hippocampal-dependent memory in orexin-deficient mice. *Neurobiol Learn Mem*. 2017;(146):21-30. doi: 10.1016/j.nlm.2017.10.014. Orexin/hypocretin.
34. Mobarakeh JI, Takahashi K, Sakurada S et al. Enhanced antinociception by intracerebroventricularly and intrathecally-administered orexin A and B (hypocretin-1 and -2) in mice. *Peptides*. 2005;26(5):767-777. doi: 10.1016/j.peptides.2005.01.001.
35. Nakamachi T, Endo S, Ohtaki H et al. Orexin-1 receptor expression after global ischemia in mice. *Regul Pept*. 2005;126:49-54. doi: 10.1016/j.regpep.2004.08.037.
36. Ogawa Y, Kanda T, Vogt K, Yanagisawa M. Anatomical and electrophysiological development of the hypothalamic orexin neurons from embryos to neonates. *J Comp Neurol Res Syst Neurosci*. 2017;525(18):3809-3820. doi: 10.1002/cne.24261.
37. Organisation WH. The top 10 causes of death. Top 10 causes of death worldwide. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>. Published 2017.
38. Pasban-Aliabadi H, Esmaili-Mahani S, Abbasnejad M. Orexin-A protects human neuroblastoma SH-SY5Y cells against 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity: involvement of PKC and PI3K signaling pathways. *Rejuvenation Res*. 2017;20(2):125-133. doi: 10.1089/rej.2016.1836.
39. Perez MV, Pavlovic A, Shang C et al. Systems genomics identifies a key role for hypocretin/orexin receptor-2 in human heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2015;66(22):2522-2533. doi: 10.1016/j.jacc.2015.09.061.
40. Radak D, Katsiki N, Resanovic I et al. Apoptosis and Acute Brain Ischemia in Ischemic Stroke. *Curr Vasc Pharmacol*. 2017;15(2):115-122. doi: 10.2174/1570161115666161104095522.
41. Rani M, Kumar R, Krishan P. Role of orexins in the central and peripheral regulation of glucose homeostasis: evidences & mechanisms. *Neuropeptides*. 2018;68:1-6. doi: 10.1016/j.npep.2018.02.002.
42. Saria A, Prast J, Schardl A, Kummer K, Carlsson J. European society for neurochemistry biannual conference: molecular mechanisms of regulation in the nervous system. In: SpringerPlus. Vol.4.; 2015:1-32.
43. Shirasaka T, Nakazato M, Matsukura S, Takasaki M, Kannan H. Sympathetic and cardiovascular actions of orexins in conscious rats. *Am J Physiol*. 1999;277:1780-1785. doi: 10.1002/jcc.21606.
44. Shirasaka T, Kunitake T, Takasaki M, Kannan H. Neuronal effects of orexins: relevant to sympathetic and cardiovascular functions. *Regul Pept*. 2002;104:91-95. doi: 10.1016/S0167-0115(01)00352-4.
45. Shu Q, Zhang J, Ma W, Lei Y, Zhou D. Orexin-A promotes Glu uptake by OX1R/PKCα/ERK1/2/GLT-1 pathway in astrocytes and protects co-cultured astrocytes and neurons against apoptosis in anoxia/hypoglycemic injury in vitro. *Mol Cell Biochem*. 2017;425(1-2):103-112. doi: 10.1007/s11010-016-2866-z.
46. Shu X, Zhang Y, Xu H, Kang K, Cai D. Brain-derived neurotrophic factor inhibits glucose intolerance after cerebral ischemia. *Neural Regen Res*. 2013;8(25):2370-2378. doi: 10.3969/j.issn.1673-5374.2013.25.008.
47. Soko P, Urba A, Biega K et al. Orexins protect neuronal cell cultures against hypoxic stress: an involvement of Akt signaling. *J Mol Neurosci*. 2014;(52):48-55. doi: 10.1007/s12031-013-0165-7.
48. Sokołowska P, Urba A, Namieci M, Zawilska JB, Biega K. Orexins promote survival of rat cortical neurons. *Neurosci Lett*. 2012;(506):303-306. doi: 10.1016/j.neulet.2011.11.028.
49. Soya S, Shoji H, Hasegawa E et al. Orexin receptor-1 in the locus coeruleus plays an important role in cue-dependent fear memory consolidation. *J Neurosci*. 2013;33(36):14549-14557. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1130-13.2013.
50. Thrift AG, Thayabaranathan T, Howard G et al. Global stroke statistics. *Int J Stroke*. 2017;12(1):13-32. doi: 10.1177/1747493016676285.
51. Tseng EE, Brock M V, Lange MS et al. Glutamate excitotoxicity mediates neuronal apoptosis after hypothermic circulatory arrest. *Ann Thorac Surg*. 2010;89(2):440-445. doi: 10.1016/j.athoracsur.2009.10.059.
52. Voisin T, Rouet-Benzineb P, Reuter N, Laburthe M. Orexins and their receptors: Structural aspects and role in peripheral tissues. *Cell Mol Life Sci*. 2003;60(1):72-87. doi: 10.1007/s000180300005.
53. Wang C-M, Pan Y-Y, Liu M-H, Cheng B-H, Bai B, Chen J. RNA-seq expression profiling of rat MCAO model following reperfusion Orexin-A. *Oncotarget*. 2017;8(68):113066-113081. doi: 10.18632/oncotarget.22995.
54. Xiong X, White RE, Xu L et al. Mitigation of murine focal cerebral ischemia by the hypocretin/orexin system is associated with reduced inflammation. *Stroke*. 2013;44(3):764-770. doi: 10.1161/STROKEAHA.112.681700.
55. Yamada N, Katsuura G, Tatsuno I et al. Orexins increase mRNA expressions of neurotrophin-3 in rat primary cortical neuron cultures. *Neurosci Lett*. 2009;450(2):132-135. doi: 10.1016/j.neulet.2008.11.028.
56. Yamazaki Y, Harada S, Tokuyama S. Post-ischemic hyperglycemia exacerbates the development of cerebral ischemic neuronal damage through the cerebral sodium-glucose transporter. *Brain Res*. 2012;1489:113-120. doi: 10.1016/j.brainres.2012.10.020.
57. Yang L, Zou B, Xiong X et al. Hypocretin/orexin neurons contribute to hippocampus-dependent social memory and synaptic plasticity in mice. *J Neurosci*. 2013;33(12):5275-5284. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3200-12.2013. Hypocretin/orexin.
58. Yuan L, Dong H, Ph D et al. Neuroprotective Effect of Orexin-A Is Mediated by an Increase of Hypoxia-inducible Factor-1 Activity in Rat. *Anesthesiology*. 2017;114(2):340-354.
59. Zhang Z, Chopp M. Neural stem cells and ischemic brain. *J Stroke*. 2016;18(3):267-272. doi: 10.5853/jos.2016.00206.
60. Zhao X, Zhang RX, Tang S et al. Orexin-A-induced ERK1/2 activation reverses impaired spatial learning and memory in pentylenetetrazol-kindled rats via OX1R-mediated hippocampal neurogenesis. *Peptides*. 2014;54:140-147. doi: 10.1016/j.peptides.2013.11.019.

Информация об авторах

Власов Тимур Дмитриевич – доктор медицинских наук, директор Научно-образовательного института биомедицины ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: tvlasov@yandex.ru.

Свириев Юрий Владимирович – доктор медицинских наук, заведующий Лабораторией сравнительной сомнологии и нейроэндокринологии ФГБУ науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова» Российской академии наук, руководитель группы сомнологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» МЗ РФ, e-mail: yusvyr@yandex.ru.

Фильченко Ирина Александровна – лаборант-исследователь Лаборатории сравнительной сомнологии и нейроэндокринологии ФГБУ науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова» Российской академии наук, лаборант-исследователь Центра доклинических трансляционных исследований Института экспериментальной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» МЗ РФ, студент ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: Iriina6994@gmail.com.

Author information

Timur D. Vlasov – Doctor of Medical Sciences, director of the Scientific and Educational Institute of Biomedicine of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «First Pavlov Saint Petersburg State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: tvlasov@yandex.ru.

Yuri V. Sviryaev – Doctor of Medical Sciences, head of the Laboratory of comparative somnology and neuroendocrinology at the Federal State Budgetary Institution of Science «Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry» of the Russian Academy of Sciences, leader of somnology group at the Federal State Budgetary Institution «Almazov National Medical Research Centre» of the Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: yusvyr@yandex.ru.

Irina A. Filchenko – research laboratory assistant of the Laboratory of comparative somnology and neuroendocrinology at the Federal State Budgetary Institution of Science «Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry» of the Russian Academy of Sciences, research laboratory assistant of the Preclinical Translational Research Centre of the Institute of Experimental Medicine of the Federal State Budgetary Institution «Almazov National Medical Research Centre» of the Ministry of Health of the Russian Federation, student of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «First Pavlov Saint Petersburg State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: iriina6994@gmail.com.

УДК 612.1

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-12-17

ПАМОВА А. П.¹, СУВОРОВ А. В.¹, ФЕДОРОВИЧ А. А.^{1, 2}

Микроциркуляция в коже верхних конечностей и параметры центральной гемодинамики при часовом дыхании чистым кислородом

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр Российской Федерации "Институт медико-биологических проблем"» Российской академии наук, Москва, Россия
123007, Россия, Москва, Хорошевское шоссе, д. 76А

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия
101990, Россия, Москва, Петроверигский переулок, д. 10, стр. 3
e-mail: anppamova@gmail.com

Статья поступила в редакцию 28.01.18; принята к печати 19.03.18

Реферат

Цель – изучить влияние часовой нормобарической оксигенации (НБО) 100 %-м кислородом на состояние центральной и периферической гемодинамики человека.

Материал и методы. Применяли метод лазерной доплеровской флоуметрии и капилляроскопии у 10 здоровых мужчин ((27,3±4) года) исходно, на 5–15-й, 45–55-й мин НБО и в период восстановления.

Результаты. Выявлены индивидуальные различия между испытуемыми, зависящие от состояния вегетативной нервной системы, оцениваемой с помощью индекса Кердо (ИК). Испытуемые с ИК <0 имели стабильное состояние микроциркуляции. У испытуемые с ИК >0 отмечалась двухфазная реакция.

Выводы. Физиологический ответ на часовое дыхание чистым кислородом может быть различным и зависит от состояния тонуса вегетативной нервной системы.

Ключевые слова: лазерная доплеровская флоуметрия, капилляроскопия, индекс Кердо, нормобарическая гипероксия, внекорабельная деятельность

Для цитирования: Памова А. П., Суворов А. В., Федорович А. А. Микроциркуляция в коже верхних конечностей и параметры центральной гемодинамики при часовом дыхании чистым кислородом. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(2):12–17. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-12-17

UDC 612.1

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-12-17

PAMOVA A. P.¹, SUVOROV A. V.¹, FEDOROVICH A. A.^{1, 2}

Microcirculation in the skin of the upper extremities and the parameters of central hemodynamics with hourly breathing of pure oxygen

¹ State Scientific Center of Russia Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
123007, Russia, Moscow, Horoshevskoe shosse, 76A

² National Medical Research Center for Preventive Medicine of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia
101990, Russia, Moscow, Petroverigskiy street, 10, 3
e-mail: anppamova@gmail.com

Received 28.02.18; accepted 23.03.18.

Summary

The aim of the study was to assessment the effects of normobaric oxygenation (NBO) with 100 % oxygen for 60 minutes on the state of central and peripheral hemodynamics of a humans.

Material and methods. The method of laser Doppler flowmetry and capillaroscopy was used in 10 healthy men (27.3±4) initially, at 5–15, 45–55 minutes of the NBU and during the recovery period.

Results. Individual differences between the testers, depending on the state of the autonomic nervous system, assessed using the Kerdo index (IR), are revealed. The testers with IR <0 had a stable state of microcirculation. A test with an IR >0 showed a two-phase reaction.

Conclusions. The physiological response to hourly breathing with pure oxygen can be different and depends on the state of the tone of the autonomic nervous system.

Key words: laser Doppler flowmetry, capillaroscopy, Kerdo index, normobaric hyperoxia, extravehicular activity

For citation: Pamova A. P., Suvorov A. V., Fedorovich A. A. Microcirculation in the skin of the upper extremities and the parameters of central hemodynamics with hourly breathing of pure oxygen. Regional hemodynamics and microcirculation. 2018;17(2):12–17. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-12-17

Введение

В клинической практике нормобарическая оксигенация (НБО) применяется при лечении дыхательной недостаточности [4], для повышения когнитивных способностей, для лечения подводников, баротравм и многих других патологических состояний. Вместе с тем дыхание смесями с высокими концентрациями O_2 сопряжено с локальными и системными физиологическими эффектами [5, 17]. Помимо клинической практики, НБО применяется и в космонавтике. Деятельность космонавтов в условиях полета сопряжена с рядом экстремальных ситуаций, одними из них являются выход в открытый космос и внекорабельная деятельность (ВКД). Перед выходом в открытый космос космонавты в обязательном порядке проходят НБО для обеспечения десатурации организма и предотвращения развития декомпрессионной болезни [6, 10, 19].

При освещении в литературе данной проблемы основное внимание уделяется состоянию церебральной микроциркуляции, а влияние состояние микроциркуляторного русла (МЦР) конечностей отражено в единичных работах [15]. При этом транспорт крови кислорода к работающим мышцам обеспечивает система кровообращения и, прежде всего, на уровне МЦР [8]. Также в доступной литературе нам не удалось найти источники, описывающие взаимосвязи ВКД с микроциркуляцией верхних конечностей и их влияние на работоспособность космонавтов. Вместе с тем перед работой в скафандре «Орлан» предусмотрена 30-минутная десатурация организма чистым кислородом при давлении 73 кПа [10]. В реальности данная процедура может увеличиваться до 40–60 мин, что и было положено в основу наших исследований. Одновременно с этим нарушения микрокровотока являются ключевыми факторами повышения артериального давления за счет повышения периферического сосудистого сопротивления, что может отразиться на физических возможностях человека при проведении подобной процедуры и на работоспособности космонавтов при ВКД, особенно его верхних конечностей.

Цель исследования – изучить особенности микроциркуляции у человека во время часового дыхания чистым кислородом при нормальном атмосферном давлении для выявления возможных отклонений, влияющих на функциональные возможности верхних конечностей.

Материал и методы исследования

В эксперименте приняли участие 10 практически здоровых мужчин в возрасте 20–34 лет ($27,3 \pm 4$ года), имеющих среднее физическое развитие и средний уровень физической тренированности. Программа исследований была одобрена Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ ИМБП РАН, а все испытуемые, после ознакомления с целью исследования и методами его проведения, подписали информированное согласие.

Исследование проводили в лаборатории с постоянной температурой $+23 \pm 1$ °C в положении сидя после 15-минутного периода адаптации на обеих верхних конечностях, которые располагались на специальном ложе на уровне сердца. На левой руке регистрировали параметры центральной гемодинамики, на правой –

параметры микроциркуляторного кровотока. После периода адаптации на протяжении 10 мин регистрировали исходные данные, затем в течение 60 мин испытуемые дышали медицинским кислородом, который подавался из 40-литрового баллона через ресивер, клапанную коробку и лицевую маску, из которой выдыхаемый воздух после клапана выдоха поступал в усредняющую емкость и далее в атмосферу. После окончания НБО на протяжении 10 мин регистрировали процесс восстановления. Регистрацию параметров осуществляли в четыре этапа: 1-й этап – фоновый период (10 мин); 2-й этап – 5–15 мин НБО (10 мин); 3-й этап – 45–55 мин НБО (10 мин); 4-й этап – период восстановления после окончания НБО (10 мин).

Параметры центральной гемодинамики регистрировали с помощью прикроватного монитора реаниматолога МПР6-03 («Тритон», Россия). Оценивали уровень артериального давления – систолического и диастолического (САД и ДАД), по ЭКГ рассчитывали частоту сердечных сокращений (ЧСС). Дополнительно монитор позволяет рассчитывать общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПСС), ударный объем (УО), систолический индекс (СИ), сердечный выброс (СВ), частоту дыхательных движений (ЧДД) и минутный объем дыхания (МОД). Все параметры измеряли три раза – на 2-й, 5-й и 9-й минутах каждого из этапов. Полученные результаты усредняли.

Исследование функционального состояния резистивных микрососудов проводили лазерным доплеровским флоуметром «ЛИАКК-02» (НПП «ЛАЗМА», Москва) в области срединной линии наружной поверхности правого предплечья на 4 см выше шиловидных отростков лучевой и локтевой костей. Выбор указанной области обусловлен минимальным количеством артериоло-венулярных анастомозов и меньшей степенью подверженности внешним влияниям, что позволяет получать информацию о нутритивном (обменном) характере микроциркуляторного кровотока в коже. Оценивали средний уровень тканевой перфузии на протяжении 10 мин и функциональное состояние регуляторных механизмов с помощью амплитудно-частотного анализа колебаний кровотока методом непрерывного вейвлет-преобразования [12]. Уровень перфузии (М) и амплитуды регуляторных механизмов – эндотелиальных (Аэ), нейрогенных (Ан), миогенных (Ам), респираторно связанных (Ад) и пульсовых (Ас) – оценивали в условных перфузионных единицах (пф). Это обусловлено тем, что средняя перфузия в микроциркуляторном русле не может быть выражена в абсолютных единицах, например, в $мл/с/мм^3$ [14].

Параметры капиллярного кровотока оценивали на фоне регистрации ЛДФ компьютерным капилляроскопом «Капилляроскан-01» (ООО «Новые энергетические технологии», Россия) в области ногтевого ложа 4-го (безымянного) пальца правой руки [1, 2]. Оценивали плотность капиллярного русла в 1 мм^2 (ПКС) и размер перикапиллярной зоны (ПЗ) – расстояние от переходного отдела капилляра до максимально удаленной точки кожного сосочка – в мкм (рис. 1).

Обработка полученных результатов была выполнена с помощью пакета программ «Statistica 10», с использованием различных методов статистическо-

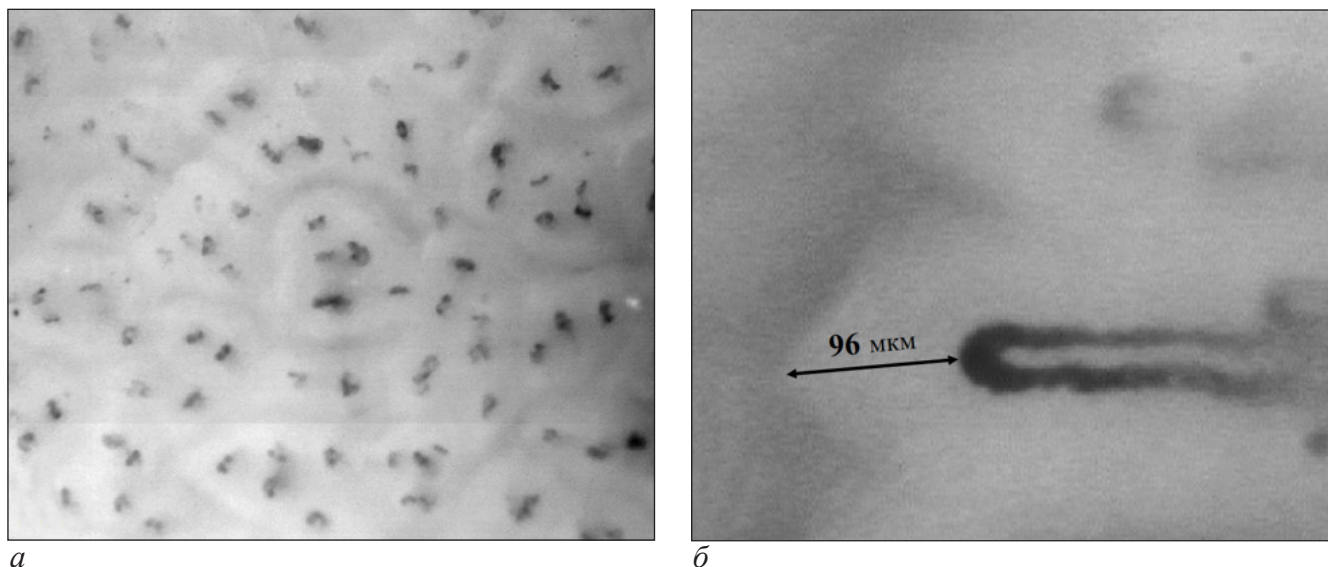


Рис. 1. Капилляроскопия: а – количество капилляров в 1 мм² (ПКС); б – размер перикапиллярной зоны (ПЗ)
Fig. 1. Capillaroscopy: а – capillary network density in 1 mm² (CD); б – the size of the pericapillary space (PS)

го анализа для оценки непараметрических данных и более подробно изложена в следующем разделе.

Результаты исследования и их обсуждение

На первом этапе анализа данных мы использовали однофакторный дисперсионный анализ (Краскела–Уоллиса). В результате статистически значимых изменений у 10 испытуемых ни по одному из анализируемых параметров мы не выявили ($p > 0,05$), что, вероятнее всего, обусловлено очень малой выборкой. Тем не менее, как видно из данных таблицы, можно говорить об определенных тенденциях. Например, на 45–55-й мин НБО отмечается снижение перфузии и увеличение ПЗ.

Далее мы использовали метод главных компонент [3], который, в конечном итоге, позволяет провести визуальную оценку данных. Значения дисперсии па-

раметров центральной и периферической гемодинамики, полученные с помощью этого метода, были положены в основу набора диаграмм, на которых обозначили интервал в виде $\pm 2\sigma$. Испытуемых, чьи показатели не выходили за интервал $\pm 2\sigma$, включили в группу «А», а испытуемые, чьи показатели частично выходили за границы интервала, вошли в группу «Б». У одного из 10 испытуемых значения, полученные с помощью метода главных компонент, значительно выходили за границы интервала $\pm 2\sigma$, поэтому в дальнейшем мы анализировали его отдельно – «В». В результате использования данного метода было установлено, что выборка изначально являлась не однородной и если анализировать параметры всего у 10 человек как у единой группы, то можно упустить индивидуальные физиологические реакции на НБО.

Параметры дыхания, центральной гемодинамики и микроциркуляции (Me [Q25; Q75])

Parameters of respiration, central hemodynamics and microcirculation (Me [Q25; Q75])

Показатель	Этап исследования (n=10)			
	1-й (фон)	2-й (5–15-я мин НБО)	3-й (45–55-я мин НБО)	4-й (восстановление)
САД, мм рт. ст.	122 [116; 135]	128 [119; 141]	124 [121; 130]	128 [126; 144]
ДАД, мм рт. ст.	75 [73; 78]	75 [65; 79]	78 [75; 80]	80 [72; 84]
ЧСС, уд./мин	75 [68; 84]	74 [70; 85]	75 [71; 82]	77 [72; 86]
СИ, мл/м ²	3 [2,9; 3,3]	2,8 [2,7; 3,4]	3 [2,7; 3,7]	3,1 [2,8; 3,6]
УО, мл	80 [76; 83]	81 [78; 88]	82 [75; 91]	80 [73; 86]
ОПСС, дин/с·см ²	1190 [1163; 1265]	1348 [1115; 1447]	1312 [1143; 1471]	1234 [1141; 1420]
СВ, л/мин	5,9 [5,5; 6,5]	5,5 [5,3; 6,3]	5,6 [5,2; 6,8]	5,7 [5,4; 6,8]
ЧДД, дых./мин	12 [10; 14]	13 [9; 15]	13 [9; 13]	14 [11; 15]
МОД, л/мин	10,5 [9,2; 11,4]	13,2 [12,5; 13,6]	14,6 [13,1; 16,5]	11 [10,2; 18,1]
М, пф	3,9 [2,1; 6,2]	4,2 [2,5; 7,7]	2,7 [1,6; 4,3]	2,8 [1,4; 4]
Аэ, пф	0,3 [0,3; 0,4]	0,3 [0,2; 0,4]	0,3 [0,2; 0,4]	0,3 [0,2; 0,4]
Ан, пф	0,4 [0,2; 0,5]	0,3 [0,2; 0,4]	0,4 [0,2; 0,4]	0,4 [0,2; 0,5]
Ам, пф	0,3 [0,2; 0,7]	0,3 [0,1; 0,9]	0,3 [0,2; 0,8]	0,4 [0,2; 0,5]
Ад, пф	0,2 [0,1; 0,2]	0,2 [0,1; 0,3]	0,2 [0,1; 0,4]	0,2 [0,1; 0,3]
Ас, пф	0,09 [0,045; 0,13]	0,09 [0,06; 0,15]	0,08 [0,07; 0,11]	0,08 [0,05; 0,1]
ПЗ, мкм	119 [96,5; 134,5]	118,5 [96,5; 125,5]	125,5 [90,5; 137]	116 [95,5; 125,5]
ПКС, кап./мм ²	66,4 [56,8; 76]	64,8 [58; 70,8]	68 [63,2; 77,6]	59,2 [57,6; 65,6]

Далее параметры дыхания, центральной гемодинамики и микроциркуляторного кровотока у испытуемых «А» и «Б» проанализировали с помощью метода Фридмана по отдельности (на каждом из 4 этапах исследования), в результате чего стало ясно, что изменения есть (Фридман, $p < 0,05$). После этого использовали критерий Вилкоксона с применением поправки Бонферрони ($p < 0,03$) для определения этапа, на котором эти изменения произошли. В целом испытуемые «А» и «Б» имели стабильное состояние параметров центральной гемодинамики и микроциркуляции, за исключением ДАД в группе «А», которое к периоду восстановления возрастало на 7,7 % по сравнению с фоном (Вилкоксон, $p = 0,04$), а в группе «Б» отмечалось увеличение ОПСС на 27 % и прирост на 3 % ЧДД относительно исходных значений (Вилкоксон, $p < 0,03$). Поскольку ДАД отражает сопротивление периферических сосудов, его рост может свидетельствовать об уменьшении просвета резистивных артериол, на что косвенно указывает тенденция к снижению уровня кожной перфузии (М) в группе «А». У испытуемых группы «Б» отмечается постепенное увеличение ОПСС к восстановительному этапу исследования (на 26,8 % от исходных значений) и тенденция к снижению М, что также можно расценивать как склонность к уменьшению величины просвета резистивных микрососудов на фоне НБО. ЧДД на этапе восстановления у испытуемых групп «А» и «Б» была несколько выше исходных значений, что, вероятнее всего, связано с адаптацией организма при возврате дыхания обычным воздухом после часовой нагрузки 100 %-м кислородом.

Подобные изменения центральной гемодинамики вполне закономерны и обусловлены сужением микрососудов при НБО, так как органы и ткани не нуждаются в таком количестве кислорода, и это со-

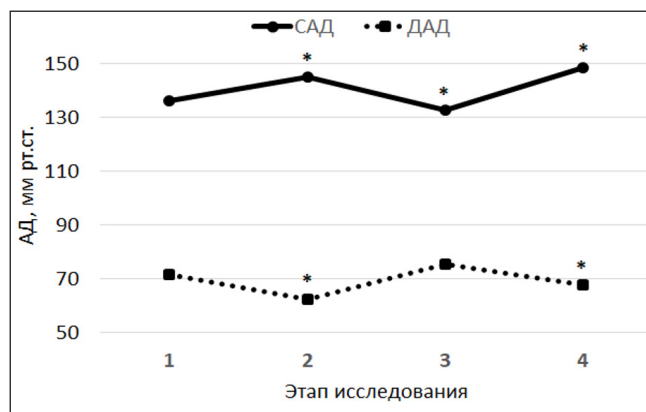


Рис. 2. Параметры артериального давления испытуемого «В», усредненные по трем измерениям:

* – $p < 0,05$ относительно исходных значений

(критерий наименьшей значимой разности – LSD)

Fig. 2. Parameters of arterial blood pressure of the volunteer «B», averaged over three dimension: * – $p < 0.05$ relative to the reference values (LSD)

гласуется с результатами других работ [13, 18]. По данным А. Stirban et al., при НБО в течение 15 мин в коже верхних конечностей на глубине 2 мм отмечается тенденция к снижению перфузии ткани, что, по мнению исследователей, свидетельствует о вазоконстрикции [15]. При этом авторы отмечают менее выраженные изменения МЦР в ногах по сравнению с руками, что подтверждает правильность выбранного нами подхода в оценке влияния НБО на микроциркуляторные процессы в верхних конечностях, учитывая тот факт, что при ВКД космонавтов задействованы именно руки. В ряде других экспериментов [13, 20] также обнаружено снижение перфузии крови в различных регионах кожи человеческого тела (руки, ноги, спина) и слизистой ротовой полости, где время воздействия НБО составляло от 10 до 30 мин.

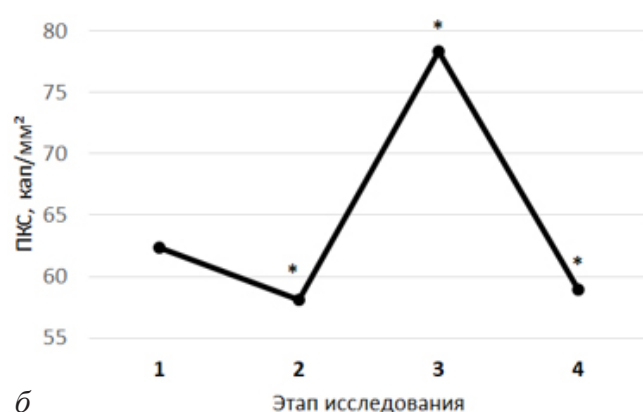
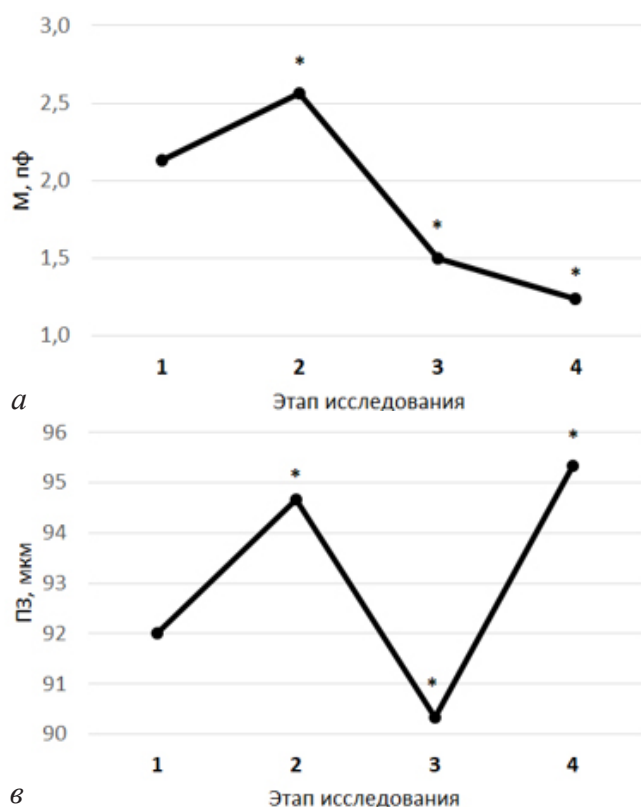


Рис. 3. Параметры микроциркуляции испытуемого «В»:

а – ЛДФ, уровень перфузии (М); б, в – капилляроскопия: б – плотность капиллярной сети (ПКС); в – размер перикапиллярной зоны (ПЗ); * – $p < 0,05$ относительно исходных значений (критерий наименьшей значимой разности – LSD)

Fig. 3. Parameters of microcirculation, «B»-volunteer: а – LDF, level of perfusion (М); б, в – capillaroscopy: б – capillary network density in 1 mm² (CD); в – the size of the pericapillary space (PS); * – $p < 0.05$ relative to the reference values (LSD)

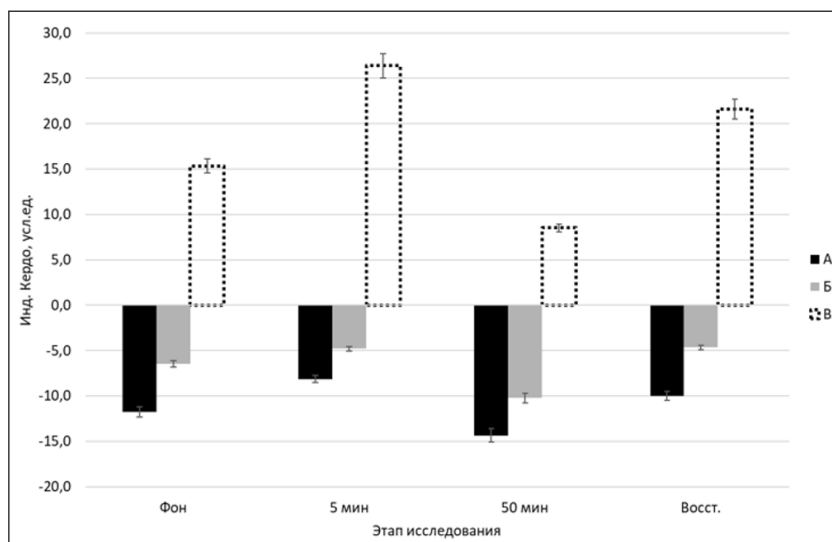


Рис. 4. Среднее значение индекса Кердо с 5 %-й погрешностью на каждом из этапов исследования

Fig. 4. Average value of the Kerdo index with a 5 % error at each stage of the study

Испытуемый «В» продемонстрировал наиболее выраженную реакцию на НБО. В начале его параметры гемодинамики были проанализированы с помощью критерия Фридмана на 4 этапах исследования, и были выявлены статически значимые изменения (Фридман, $p < 0,05$). Для определения этапа, на котором наблюдались изменения, параметры были проанализированы с помощью критерия наименьшей значимой разницы – LSD. Менялись показатели центральной гемодинамики: САД и ДАД динамически и разнонаправленно колебались в процессе НБО (рис. 2), в то время как СИ, УО и СВ возрастали (на 6, 4, 8 % соответственно), а ОПСС снижалось на 4 % (критерий наименьшей значимой разницы – LSD, $p < 0,05$) к периоду восстановления по сравнению с фоном. У данного испытуемого изменялись и параметры микроциркуляторного кровотока. Сначала НБО тканевая перфузия (М) увеличилась, но в дальнейшем она демонстрировала снижение (рис. 3). Количество функционирующих капилляров и степень гидратации интерстициального пространства также достоверно (критерий наименьшей значимой разницы – LSD, $p < 0,05$) и противофазно изменялись относительно друг друга (рис. 3).

При амплитудно-частотном вейвлет-анализе достоверной динамики в группах «А» и «Б» нами не получено, а вот у испытуемого «В» к окончанию эксперимента отмечалось статистически значимое снижение относительно исходных значений амплитуды всех тонус-формирующих механизмов, что свидетельствует о повышении их тонуса: Аэ – с 0,26 до 0,1 пф; Ан – с 0,21 до 0,1 пф; Ам – с 0,18 до 0,12 пф соответственно (критерий наименьшей значимой разницы – LSD, $p < 0,05$). Полученные у испытуемого «В» данные позволяют говорить о том, что функциональная адаптация МЦР начала развиваться только к окончанию НБО, но центральная гемодинамика перестроиться не успела.

До настоящего времени не существует однозначной теории о том, почему под действием НБО происходит вазоконстрикция. Рассматриваются как

участие эндотелия микрососудов [7], так и функциональное состояние симпатической нервной системы. Так, F. Yamazaki описал, что гипероксия уменьшает вазодилатацию сосудов кожи в ответ на аппликацию к ней ацетилхолина, а в ответ на нитропруссид натрия вазодилатации кожных сосудов вообще не происходит [20]. Другие авторы при симпатэктомии выявили отсутствие вазоконстрикции во время НБО, что также может свидетельствовать о преобладающем влиянии тонуса симпатической нервной системы на состояние МЦР [17].

По литературным данным хорошо известно, что гипербарическая оксигенация приводит к вазоконстрикции, гипертензии, брадикардии и снижению сердечного выброса [9]. Нормобарическая оксигенация имеет схожие, но менее выраженные эффекты

на организм [15]. Полученные нами результаты у испытуемых групп «А» и «Б» согласуются с более ранними исследованиями, чего нельзя сказать об испытуемом «В». Для объяснения подобного явления в каждой из групп мы рассчитали индекс Кердо [11] на всех этапах эксперимента. Установлено, что у испытуемого «В» на протяжении всего эксперимента преобладал симпатический тонус регуляции нервной системы (индекс Кердо > 0), а у испытуемых групп «А» и «Б» – парасимпатический (индекс Кердо на всех этапах исследования < 0). При этом у испытуемых группы «А» индекс Кердо по модулю был больше, чем у испытуемых группы «Б» (рис. 4).

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что реакция сердечно-сосудистой системы на НБО зависит от исходного тонуса вегетативной нервной системы. При преобладании влияния симпатической нервной системы (испытуемый «В») часовое дыхание чистым кислородом вызывает более выраженные изменения в состоянии как центральной гемодинамики, так и микроциркуляции, что согласуется с результатами работ других исследователей. На наш взгляд, этот факт необходимо принимать во внимание при прогнозировании реакции на НБО перед медицинскими процедурами, а также перед НБО, которая предшествует работе космонавтов в условиях открытого космоса.

Заключение

В результате проведенного исследования можно сделать вывод, что влияние нормобарической гипероксии на состояние центральной и периферической гемодинамики в определенной степени зависит от преобладания тонуса симпатической или парасимпатической нервной системы. Мы считаем, что при оценке физиологических реакций на влияние НБО в малых выборках (менее 30 человек) в начале исследования необходимо разделять испытуемых на группы в соответствии с их тонусом, который определяется с помощью индекса Кердо. Для дальней-

шего подтверждения данного вывода необходимо провести подобные исследования с большей выборкой испытуемых, чем было в нашем исследовании (10 человек) с применением поправки Бонферрони.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interests.

Литература / References

1. Аракчеев А. Г., Гурфинкель Ю. И., Пегов В. Г. Компьютерный капилляроскоп для неинвазивных исследований параметров циркулирующей крови // *Москов. хирург. журн.* – 2010. – № 5. – С. 27–30. [Arakcheev AG, Gurfinkel JI, Pevgov VG. Computer capillaroscope for non-invasive studies of circulating blood parameters. *Moscow surgical journal*. 2010;(5):27-30. (In Russ).].
2. Возможности использования компьютерной капилляроскопии в космической медицине и в клинической практике / Ю. И. Гурфинкель, Н. В. Кац, О. В. Макеева, В. М. Михайлов // *Методы нелинейного анализа в кардиол. и онкол.* – 2010. – № 2. – С. 111–122. [Gurfinkel YI, Kace NV, Makeeva OV, Mikhailov VM. Possibilities of using computer capillaroscopy in space medicine and in clinical practice. *Methods of non-linear analysis in cardiology and oncology*. 2010;(2):111-122. (In Russ).].
3. Новоский А. М. Развитие метода многомерного шкалирования применительно к практике медико-биологических исследований // *Авиакосм. и эколог. мед.* – 2002. – Т. 36. – № 3. – С. 62–66. [Nosovsky AM. Development of multidimensional scaling methods for biomedical research. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2002; 36(3):62-66. (In Russ).].
4. Cakmak T, Battal B, Kara K et al. A case of tension pneumothorax during hyperbaric oxygen therapy in an earthquake survivor with crush injury complicated by ARDS (adult respiratory distress syndrome). *Undersea Hyperb Med*. 2015;42(1):9-13.
5. Camporesi EM, Bosco G. Hyperbaric oxygen pretreatment and preconditioning. *Undersea Hyperb Med*. 2014; 41(3):259-263.
6. Castagna O, Gempp E, Blatteau JE. Pre-dive normobaric oxygen reduces bubble formation in scuba divers. *Eur J Appl Physiol*. 2009;106(2):167-172. doi: 10.1007/s00421-00901003-z.
7. Garland CJ, Dora KA. EDH: endothelium-dependent hyperpolarization and microvascular signalling. *Acta Physiol*. 2017;219(1):152-161. doi: 10.1111/apha.12649.
8. González-Alonso J, Crandall CG, Johnson JM. The cardiovascular challenge of exercising in the heat. *J Physiol*. 2008;586(1):45-53. doi: 10.1113/jphysiol.2007.142158.
9. Jain KK. *Textbook of Hyperbaric Medicine*. Springer International Publishing, 2017. doi: 10.1007/978-3-319-47140-2.
10. Katuntsev VP. Approaches to decompression safety support of EVA for orbital and interplanetary missions. *Acta Astronaut*. 2010;66(12):96-101. doi: 10.1016/j.actaastro. 2009.05.018.
11. Kérdő I. Ein aus Daten der Blutzirkulation kalkulierter Index zur Beurteilung der vegetativen Tonuslage. *Acta Neuroveg*. (Wien). 1966;29(2):250-268.
12. Kvandal P, Landsverk SA, Bernjak A et al. Low-frequency oscillations of the laser Doppler perfusion signal in human skin. *Microvasc Res*. 2006;72(3):120-127. doi: 10.1016/j.mvr.2006.05.006.
13. Orbegozo CD, Puflea F, Donadello K et al. Normobaric hyperoxia alters the microcirculation in healthy volunteers. *Microvasc Res*. 2015;98:23-28. doi: 10.1016/j.mvr.2014.11.006.

14. Stefanovska A, Bracic M. Physics of the human cardiovascular system. *Contemp Phys*. 1999;40(1):31-35. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/001075199181693>.

15. Stirban A, Lentrodt S, Nandrea S et al. Functional changes in microcirculation during hyperbaric and normobaric oxygen therapy. *Undersea Hyperb Med*. 2009;36(5):381-390.

16. Thomas PS, Hakim TS, Trang LQ et al. The synergistic effect of sympathectomy and hyperbaric oxygen exposure on transcutaneous Po₂ in healthy volunteers. *Anesth Analg*. 1999;88(1):67-71. doi: 0.1097/0000539-199901000-00013.

17. Thomson AJ, Drummond GB, Waring WS et al. Effects of short-term isocapnic hyperoxia and hypoxia on cardiovascular function. *J Appl Physiol*. 2006;101(3):809-816. doi: 10.1152/jappphysiol.01185.2005.

18. Ulker P. The effect of acute and short term normobaric hyperoxia on hemorheologic parameters. *Biorheology*. 2016; 53(3):171-177. doi: 10.3233/BIR-16096.

19. Webb JT, Pilmanis AA, Kannan N, Olson RM. The effect of staged decompression while breathing 100% oxygen on attitude decompression sickness. *Aviat Space Environ Med*. 2000;71(7):692-698.

20. Yamazaki F. Hyperoxia attenuates endothelial-mediated vasodilation in the human skin. *J Physiol Sci*. 2007;57(1): 81-84. doi: 10.2170/physiolsci.SC011006.

Информация об авторах

Памова Анастасия Петровна – аспирант, младший научный сотрудник Лаборатории физиологии кардиореспираторной системы и баромедицины ФГБУН «Государственный научный центр Российской Федерации "Институт медико-биологических проблем"» Российской академии наук, e-mail: anppamova@gmail.com.

Суворов Александр Владимирович – доктор медицинских наук, заведующий Лабораторией физиологии кардиореспираторной системы и баромедицины ФГБУН «Государственный научный центр Российской Федерации "Институт медико-биологических проблем"» Российской академии наук, e-mail: suvallex@inbox.ru.

Федорович Андрей Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Лаборатории физиологии кардиореспираторной системы и баромедицины, ФГБУН «Государственный научный центр Российской Федерации "Институт медико-биологических проблем"» Российской академии наук, старший научный сотрудник Отдела фундаментальных и прикладных аспектов ожирения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр профилактической медицины» Минздрава России, e-mail: faa-micro@yandex.ru.

Authors information

Pamova Anastasia P. – postgraduate student, junior researcher Laboratory of Physiology of Cardiorespiratory System and Baromedicine State Scientific Center of Russia Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, e-mail: anppamova@gmail.com.

Suvorov Alexander V. – Doctor of Medical Sciences, Head Laboratory of Physiology of Cardiorespiratory System and Baromedicine State Scientific Center of Russia Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, e-mail: suvallex@inbox.ru.

Fedorovich Andrey A. – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher Laboratory of Physiology of Cardiorespiratory System and Baromedicine State Scientific Center of Russia Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Senior Researcher of Fundamental and Applied Aspects of Obesity Department Federal State Institution «National Medical Research Center for Preventive Medicine» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, e-mail: faa-micro@yandex.ru.

УДК 616-056.52

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-18-25

ЛЫНДИНА М. Л., ШИШКИН А. Н.

Клинические особенности эндотелиальной дисфункции при ожирении и роль фактора курения

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия
199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9
e-mail: A777KA@gmail.com

Статья поступила в редакцию 08.12.17; принята к печати 27.02.18

Резюме

Введение и цель. Приведены современные данные об ожирении и дисфункции эндотелия, о влиянии курения на развитие эндотелиальной дисфункции.

Материал и методы. Обследованы 108 пациентов (90 женщин и 18 мужчин) в возрасте от 45 до 65 лет (средний возраст – 54,62±0,43 года) с ожирением и развитием метаболического синдрома. Сосудодвигательная функция эндотелия оценивалась по методике Celermajer et al. Проанализированы ранние маркеры эндотелиальной дисфункции. Выполнена обработка полученных данных с помощью стандартных статистических методов.

Выводы. На основании выполненного исследования можно сделать выводы о важности выявления ранних маркеров эндотелиальной дисфункции.

Ключевые слова: дисфункция эндотелия, ожирение, фактор курения, проба с реактивной гиперемией, микроальбуминурия, гомоцистеин

Для цитирования: Лындина М. Л., Шишкин А. Н. Клинические особенности эндотелиальной дисфункции при ожирении и роль фактора курения. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(2):20–27. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-18-25

UDC 616-056.52

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-18-25

LYNDINA M. L., SHISHKIN A. N.

Clinical features of endothelial dysfunctions in patients with obesity and role of smoking

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Saint-Petersburg State University», Saint-Petersburg, Russia
199034, Russia, St. Petersburg, Universitetskaya street, 7/9
e-mail: A777KA@gmail.com

Received 08.12.17; accepted 27.02.18.

Summary

Introduction and purpose. The article presents data on the obesity and endothelial dysfunction, on influence of smoking on the developing of endothelial dysfunction.

Material and methods. Examined 108 patients (90 women and 18 men) with obesity aged 45 to 65 years old (middle age 54,62±0,43) with different degrees of obesity. Vasomotor endothelial function was evaluated by the method of Celermajer et al. Analyzed early markers of endothelial dysfunction in patients with metabolic syndrome. Statistical processing of the data using a nonparametric Wilcoxon–Konovalov and Mann–Whitney.

Conclusions. Based on the study preliminary conclusions can be made of the importance of identifying early markers of endothelial dysfunction in these patients and how smoking influences on developing of vascular pathology in patients with obesity.

Key words: endothelial dysfunction, obesity, smoking, flow-mediated dilatation, microalbuminuria, hyperhomocysteinemia

For citation: Lyndina M. L., Shishkin A. N. Clinical features of endothelial dysfunctions in patients with obesity and role of smoking. Regional hemodynamics and microcirculation. 2018;17(2):20–27. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-18-25

Введение

Ожирение – это хроническое мультифакторное гетерогенное заболевание, проявляющееся избыточным образованием жировой ткани, прогрессирующее при естественном течении, как правило, имеющее высокий кардиометаболический риск, специфические осложнения и ассоциированные с ним

сопутствующие заболевания [26]. К заболеваниям, ассоциированным с ожирением, относятся нарушение толерантности к глюкозе (НТГ), нарушенная гликемия натощак (НГН), сахарный диабет 2-го типа, артериальная гипертензия, гипертриглицеридемия/дислипидемия, синдром обструктивного апноэ сна (СОАС) [23].

В настоящее время ожирение стало одной из важнейших медико-социальных проблем в Российской Федерации (РФ). Так, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2013 г. 24,1 % населения нашей страны имели ожирение, и по этому показателю РФ находилась на 8-м месте в мире. С учетом того, что в мире количество лиц с ожирением увеличивается приблизительно на 1 % в год, ближайшие перспективы не выглядят оптимистичными [10]. В многочисленных исследованиях показано, что ожирение является самостоятельным, независимым фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний, характеризующихся высокой смертностью. Степень кардиоваскулярного риска при ожирении зависит от распределения жировой ткани в организме и значительно выше при так называемом центральном, или андроидном, типе, т. е. при преимущественном отложении жира в области туловища по сравнению с бедрами и ягодицами.

Ожирение часто сопровождается инсулинорезистентностью, что повышает риск ССЗ [16, 22]. Ожирение сопровождается повышением уровня ренина в плазме, тем самым активируя ренин-ангиотензиновую систему, что способствует дисфункции эндотелия [15].

Ожирение также может способствовать развитию хронической болезни почек (ХБП) путем увеличения гломерулярного объема за счет гиперпродукции мезангиального матрикса и гипертрофии подоцитов [24]. Кроме того, триглицериды и свободные жирные кислоты могут быть сами по себе нефротоксичными, действуя продукции провоспалительных цитокинов [2].

Курение является одним из основных факторов риска ССЗ. В России с этой вредной привычкой связаны 40 % случаев смерти от ИБС среди мужчин и 10 % случаев смерти от инсульта среди женщин. В табачном дыме содержится более 4000 вредных веществ, многие из которых токсичны для сердечно-сосудистой системы: монооксид углерода, нитрозамины, полициклические ароматические углеводороды и др. Курение вызывает эндотелиальную дисфункцию вследствие повреждения эндотелия токсинами и свободными радикалами табачного дыма. Кроме того, компоненты дыма активируют тромбоциты и нейтрофилы, что, в свою очередь, усиливает продукцию свободных радикалов, усиливается адгезия моноцитов к эндотелиоцитам, что является ранним проявлением атеросклероза [21]. Курение сочетается с повышением маркеров воспаления: концентрация в сыворотке крови СРБ, уровней интерлейкина-8, фактора некроза опухолей- α и межклеточных молекул адгезии [22]. У курильщиков чаще выявляется гипергомоцистеинемия, выраженность которой прямо коррелирует с интенсивностью курения.

Нарушение функции эндотелия является одним из универсальных механизмов патогенеза многих заболеваний, в том числе и таких, как атеросклероз, гипертоническая болезнь, сахарный диабет, гломерулонефрит. Эндотелиальная дисфункция характеризуется сдвигом в работе эндотелия в сторону уменьшения вазодилатации, провоспалительного состояния и протромботических свойств [3].

В настоящее время известно, что эндотелий контролирует сосудистый тонус, местные процессы гемостаза, пролиферации, миграции клеток крови в сосудистую стенку, рост гладкомышечных клеток, тромбообразование, фибринолиз и многие другие процессы.

Поскольку дисфункция эндотелия связана с дисбалансом между продукцией вазодилаторов и вазоконстрикторов, тромбогенных и атромбогенных факторов, ангиогенных факторов и их ингибиторов, выделяют вазомоторную, тромбофилическую, адгезивную и ангиогенную формы эндотелиальной дисфункции [4].

Тромбофилическая форма ДЭ обусловлена нарушением нормального соотношения веществ, образующихся в эндотелии и участвующих в гемостазе или влияющих на этот процесс.

Нарушение соотношения между атромбогенными и тромбогенными веществами, образующимися в эндотелии, может привести к развитию сосудистой тромбофилии и тромбообразованию. Значительное снижение тромборезистентности сосудов имеет место при атеросклерозе, артериальной гипертензии, сахарном диабете и опухолевых заболеваниях [5, 6].

Адгезивная форма ДЭ обусловлена нарушением взаимодействия лейкоцитов и эндотелия – постоянно протекающего физиологического процесса, осуществляющегося при участии специальных адгезивных молекул. При участии Р- и Е-селектинов происходит задержка и неполная остановка лейкоцитов (роллинг), а ICAM-1 и VCAM-2, взаимодействуя с соответствующими лигандами лейкоцитов, обеспечивают их полную остановку (адгезию) [8].

Ангиогенная форма ДЭ связана с нарушением неогенеза – процесса, в котором выделяют следующие стадии: увеличение проницаемости эндотелия и разрушение базальной мембраны, миграция эндотелиальных клеток, пролиферация и созревание эндотелиальных клеток, ремоделирование сосудов [4].

Вазомоторная форма ДЭ обусловлена нарушением соотношения между эндотелиальными вазоконстрикторами и вазодилаторами и имеет значение в механизмах как системного повышения артериального давления (АД), так и локального ангиоспазма [1, 5].

Результирующий эффект (сосудосуживающий или сосудорасширяющий) вазоактивных веществ находится в зависимости от их концентрации, а также типа и локализации сосудов, что объясняется неравномерным распределением рецепторов в артериях, артериолах, венах и даже в однотипных сосудах разных регионов [20].

Эндотелиальная дисфункция (ЭД) и ее роль в повреждении сосудов представляется важным звеном в сердечно-сосудистом континууме. Современные данные убедительно демонстрируют, что микроальбуминурия является не только маркером вовлечения в патологический процесс почек, но и точно отражает, как степень генерализованного поражения микрососудов, так и степень суммарного риска развития осложнений и неблагоприятных исходов. В различных исследованиях было показано, что микроаль-

буминурия является независимым фактором риска ишемической болезни почек, ССЗ и других причин смертности при сахарном диабете, артериальной гипертензии [12, 25].

Материал и методы исследования

Нами были обследованы 108 пациентов (90 женщин и 18 мужчин) в возрасте от 43 до 65 лет (средний возраст – 54,62±0,43 года) с ожирением и развитием метаболического синдрома, который включал такие компоненты, как абдоминальное ожирение, дислипидемия, артериальная гипертензия, нарушения углеводного обмена. В исследование включали пациентов, соответствующих критериям IDF и АНА/NHLBI 2009 г. [22]. Критериями исключения были сахарный диабет 1-го типа, онкологическое заболевание, ХБП 3-й стадии, выраженная анемия (уровень гемоглобина менее 70 г/л), дыхательная недостаточность 2-й степени, острое нарушение мозгового кровообращения или острый инфаркт миокарда в анамнезе. Контрольную группу составили 28 больных без признаков ожирения, средний возраст которых – 54,82±0,27 года, ИМТ – 25,68±0,42. Среди них женщин было 67,86 %, мужчин – 32,14 %. В основной группе женщин было 83,3 %, мужчин – 16,7 %. По полу и возрасту группы не различались.

На этапе скрининга проводился сбор данных анамнеза, объективный осмотр, антропометрия. При проведении антропометрического исследования нами оценивались, в первую очередь, такие показатели, как окружность талии (ОТ, см), окружность бедер (ОБ, см), и рассчитывалось соотношение ОТ/ОБ, позволяющее дифференцировать фенотипический вариант ожирения. Ожирение расценивалось как абдоминальное при ОТ/ОБ у женщин более 0,80, у мужчин – более 0,94. Степень ожирения оценивали по ИМТ = масса тела (кг)/рост (м²).

Массу тела считали нормальной при ИМТ в пределах 20,0–24,9 кг/м², избыточной – при ИМТ 25,0–29,9 кг/м², ИМТ 30,0 кг/м² и более расценивали как ожирение. Методом анкетирования подробно изучали жалобы больных, анамнез заболевания, наследственный анамнез. Уделялось внимание образу жизни пациентов – особенностям питания, физической активности, наличию вредных привычек, в частности, курения. Получаемая до обследования терапия была отменена за 3 месяца до начала данного исследования. Всем пациентам проводили клинко-лабораторное обследование с помощью стандартных лабораторных методик, которое включало определение показателей липидограммы, концентрации инсулина крови, С-пептида, мочевой кислоты, гомоцистеина плазмы. Уровень МАУ напрямую, без перерасчета, определяли турбодиметрическим методом на иммунохемилюминисцентном анализаторе «IMMULITE» (США) у всех пациентов.

Кроме того, у всех пациентов исследовали сосудодвигательную функцию эндотелия с помощью ультразвукового аппарата ALOKA SSD-5500 линейным электронным мультимодальным датчиком 5–13 МГц по методике D. S. Celermajer et al. [13].

При исследовании эндотелийзависимой вазодилатации всем пациентам измеряли исходный диаметр

плечевой артерии и диаметр артерии через 4,5 мин с последующим измерением через 30, 60 и 90 с после декомпрессии. Кроме того, оценивалась исходная скорость кровотока и скорость кровотока сразу после декомпрессии. Расчет % прироста диаметра сосуда производили по формуле:

$$\text{ЭЗВД} = 100 \cdot (\text{ДПА}_{\text{после РГ}} - \text{ДПА}_{\text{исх}}) / \text{ДПА}_{\text{исх}}, \%$$

где ДПА_{после РГ} – максимальный диаметр плечевой артерии после 60 с после декомпрессии манжеты; ДПА_{исх} – исходный диаметр плечевой артерии.

Исходно измерение диаметра плечевой артерии осуществляли в покое с помощью линейного датчика 7 МГц. Нормальной реакцией плечевой артерии принято считать 10 % и более от исходного диаметра при пробе с реактивной гиперемией. Изменение диаметра сосудов выражали в процентах по отношению к исходной величине (%).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы «StatSoft Statistica v.6.0». Коэффициенты корреляции рассчитывали по стандартным формулам. Результаты представлены в виде средних арифметических значений и стандартных отклонений.

Результаты исследования и их обсуждение

Все обследованные пациенты были разделены на группы. Группа 1 – 1-я степень ожирения (ИМТ=30,0–34,9); группа 2 – 2-я степень ожирения (ИМТ=35,0–39,9); группа 3 – 3-я степень ожирения (ИМТ > 40,0) и контрольная группа – пациенты без ожирения (ИМТ 18,5–24,99).

Мы распределили пациентов по половому признаку в группах с различной степенью ожирения. Было выявлено, что среди мужчин отмечалась тенденция к наличию меньшей степени ожирения по сравнению с женщинами (табл. 1).

Возраст всех обследованных пациентов в среднем составлял 54,62±0,43 года, однако в группах с различной степенью ожирения этот показатель несколько различался (рис. 1).

Как видно из данных рис. 1, среди всех обследуемых, пациенты с 1-й степенью ожирения были достоверно моложе (средний возраст составлял 52,44±0,92 года), в остальных группах не было достоверных различий.

Другим качественным показателем в обследуемых группах для нас представил интерес такой показатель, как курение, что выявлялось при сборе анамнеза (рис. 2).

Как видно из данных рис. 2, среди некурящих пациентов преобладают пациенты с 1-й степенью

Таблица 1

Распределение пациентов с МС
с различной степенью ожирения по группам, %

Table 1

Distribution of patients with metabolic syndrome
with different degrees of obesity by groups, %

Показатель	Группа		
	1-я (n=41)	2-я (n=33)	3-я (n=34)
Мужчины	33,33	9,09	14, 81
Женщины	66,67	90,91	85,19

ожирения – 50 % обследованных, со 2-й степенью ожирения – 8,33 %, с 3-й степенью ожирения – 14,58 %. Некурящие пациенты контрольной группы составляют 27,08 %.

Среди курящих чаще всего выявлялось ожирение 3-й степени – в 30,77 % случаев и ожирение 2-й степени – 27,69 % пациентов. С 1-й степенью ожирения курящие пациенты составляют 18,46 % и без ожирения – 23,08 % обследованных. При анализе этих данных можно предположить, что среди курящих пациентов ожирение распространено чаще, чем среди некурящих.

У всех пациентов были выявлены нарушения липидного обмена. При исследовании показателей липидного спектра были получены следующие результаты: прежде всего, с нарастанием степени ожирения отмечалось увеличение такого показателя, как триглицериды (1-я степень ожирения – $1,83 \pm 0,11$ ммоль/л, 2-я степень ожирения – $2,06 \pm 0,16$ ммоль/л, 3-я степень ожирения – $2,10 \pm 0,14$ ммоль/л) ($p < 0,001$), однако при попарном сравнении групп не было выявлено достоверного различия между пациентами со 2-й и 3-й степенями ожирения по данному показателю.

Еще одним методом косвенной оценки состояния эндотелия является исследование содержания в крови факторов, повреждающих эндотелий, уровень которых коррелирует с эндотелиальной дисфункцией. К таким факторам относятся гипергомоцистеинемия и уровень микроальбуминурии. Полученные данные приведены в табл. 2.

Как видно из данных табл. 2, уровень микроальбуминурии закономерно повышается вместе с нарастанием степени ожирения, однако достоверное изменение этого показателя выше нормальных значений отмечается лишь во 2-й ($p < 0,05$) и 3-й группах ($p < 0,001$): 2-я группа – 2-я степень ожирения – МАУ – $20,44 \pm 0,46$ мкг/л; 3-я группа – 3-я степень ожирения – МАУ – $53,09 \pm 7,87$ мкг/л, причем в 3-й группе этот показатель превышает нормальные значения в 5 раз.

При исследовании эндотелийзависимой вазодилатации мы получили результаты, показанные на рис. 3.

При подсчете процента прироста диаметра сосуда, вызванного потоком крови, было выявлено достоверное снижение этого показателя вместе с нарастанием степени ожирения ($p < 0,001$): 1-я группа – 1-я степень ожирения – дилатация, вызванная потоком крови, – $11,37 \pm 0,86$ %; 2-я группа – 2-я степень ожирения – дилатация, вызванная потоком крови, – $7,13 \pm 0,88$ %; 3-я группа – 3-я степень ожирения – дилатация, вызванная потоком крови, – $5,66 \pm 0,69$ %; контрольная группа – без ожирения – дилатация, вызванная потоком крови – $15,79 \pm 1,70$ %. Из чего следует, что при 1-й степени ожирения

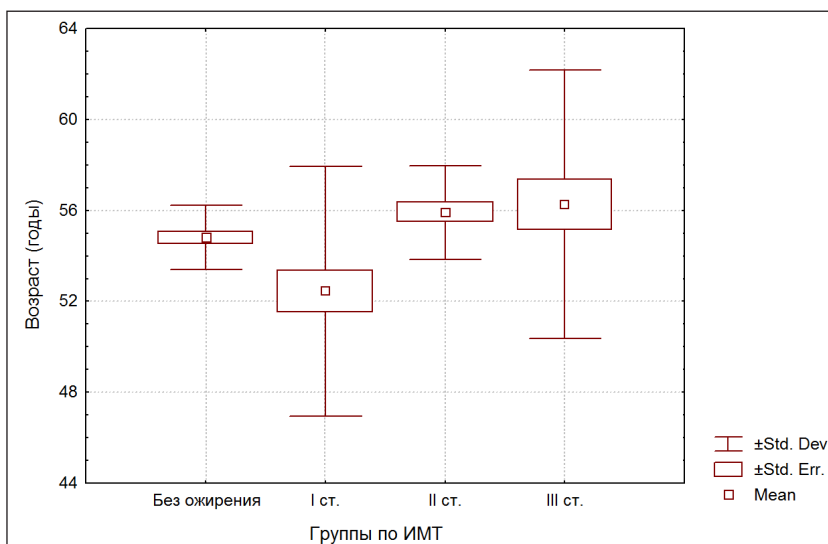


Рис. 1. Возрастной показатель у пациентов с метаболическим синдромом с различной степенью ожирения

Fig. 1. Age index of the patients with metabolic syndrome with different degrees of obesity

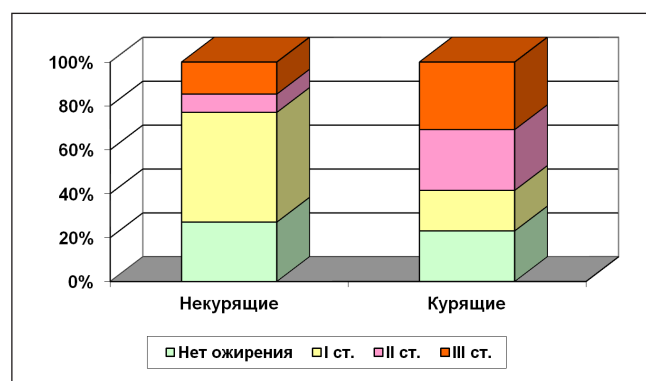


Рис. 2. Распределение различных степеней ожирения у курящих и некурящих пациентов среди всех обследованных групп

Fig. 2. Distribution of different degrees of obesity in smokers and non-smokers among all the groups examined

эндотелий зависимая вазодилатация остается в пределах нормальных значений, при 2-й и 3-й степенях ожирения этот показатель был достоверно ниже нормальных значений, что расценивалось как нарушение функции эндотелия в данных группах.

Таблица 2

Показатели уровней гомоцистеина и микроальбуминурии у пациентов с различной степенью ожирения

Table 2

Levels of Homocysteine and microalbuminuria in patients with different degrees of obesity

Показатель	Группа			
	1-я (n=41)	2-я (n=33)	3-я (n=34)	контрольная (n=28)
Гомоцистеин, мкмоль/л	14,31±1,38	14,60±0,22	18,43±0,57	6,95±0,29
Микроальбумин мочи, мкг/л	14,28±1,38	20,44±0,46	53,09±7,87	10,74±0,77

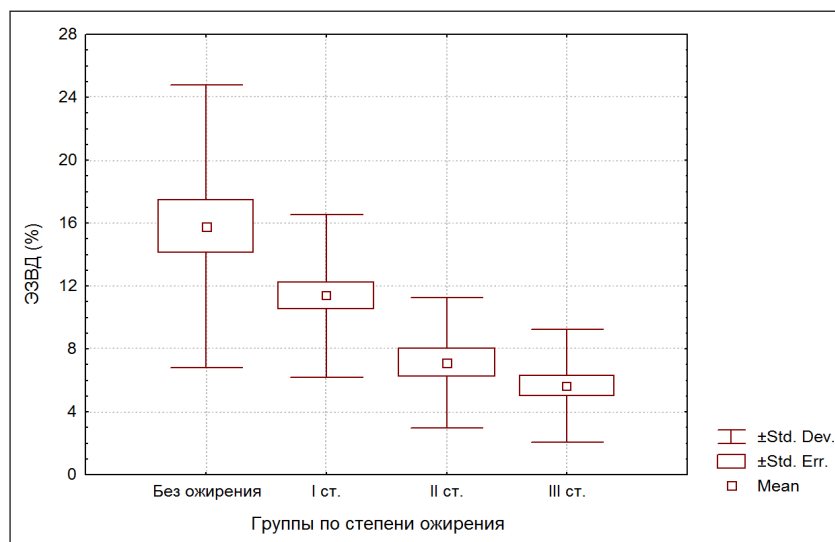


Рис. 3. Эндотелийзависимая вазодилатация у пациентов с разными степенями ожирения

Fig. 3. Endothelium-dependent vasodilation in patients with different degrees of obesity

Нами было изучено состояние эндотелиальной дисфункции у больных с МС, приверженных и не приверженных курению. Было выявлено, что у курящих пациентов уровень ЭЗВД значительно ниже нормальных значений – процент прироста составил $6,81 \pm 1,08$ %, а у некурящих – $12,82 \pm 1,08$ %.

Полученные данные показаны на рис. 4.

Кроме того, нами были изучены другие маркеры дисфункции эндотелия, такие как МАУ и гипергомоцистеинемия, у курящих и некурящих пациентов. Полученные данные приведены на рис. 5; 6.

Как видно из рис. 5, у пациентов, приверженных курению, уровень МАУ превышает нормальные значения и составляет $26,34 \pm 8,22$ мкг/л, а у некурящих пациентов – $17,64 \pm 1,25$ мкг/л.

Также нами было выявлено, что уровень гомоцистеина у курящих и некурящих пациентов оста-

ется в пределах нормальных значений, однако у пациентов, приверженных курению, этот показатель имеет тенденцию к повышению, что показано на рис. 6. Уровень гомоцистеина у некурящих пациентов составляет $11,47 \pm 0,74$ мкмоль/л, у курящих – $13,72 \pm 0,60$ мкмоль/л.

В настоящее время нет единого взгляда на причину развития эндотелиопатии при ожирении и метаболическом синдроме [7]. Целый ряд метаболических и гемодинамических нарушений, а также патологий многих органов и систем часто ассоциированы с ожирением. В настоящее время нет четкой позиции, являются ли эти состояния осложнением ожирения, либо они представляют собой сопутствующие заболевания, возникновение и прогрессирование которых усугубляется наличием ожирения [10].

Сторонники первой гипотезы утверждают, что дисфункция эндотелия вторична по отношению к имеющейся инсулинорезистентности (ИР), т. е. является следствием тех факторов, которые характеризуют состояние ИР – гипергликемии, артериальной гипертензии, дислипидемии [7]. При гипергликемии в эндотелиальных клетках активируется фермент протеинкиназа-С, который увеличивает проницаемость сосудистых клеток для белков и нарушает эндотелийзависимую релаксацию сосудов. Кроме того, гипергликемия активирует процессы перекисного окисления, продукты которого угнетают сосудорасширяющую функцию эндотелия. При артериальной гипертензии повышенное механическое давление на стенки сосудов приводит к нарушению архитектоники эндотелиальных клеток, повышению их проницаемости для альбумина, усилению секреции сосудосуживающего эндотелина-1, ремоделированию стенок сосудов. Дислипидемия повышает экспрессию адгезивных молекул на поверхности эндотелиальных клеток, что дает начало формированию атеромы. Сторонники другой гипотезы считают, что дисфункция эндотелия является не следствием, а причиной развития ИР и связанных с ней состояний [19]. Действительно, для того чтобы соединиться со своими рецепторами, инсулин должен пересечь эндотелий и попасть в межклеточное пространство. В случае первичного дефекта эндотелиальных клеток трансэндотелиальный транспорт инсулина нарушается, и, следовательно, может развиваться ИР. В таком случае ИР будет вторична по отношению к дисфункции эндотелия.

Вследствие того, что эндотелиальная дисфункция является ранним проявлением, она может иметь про-

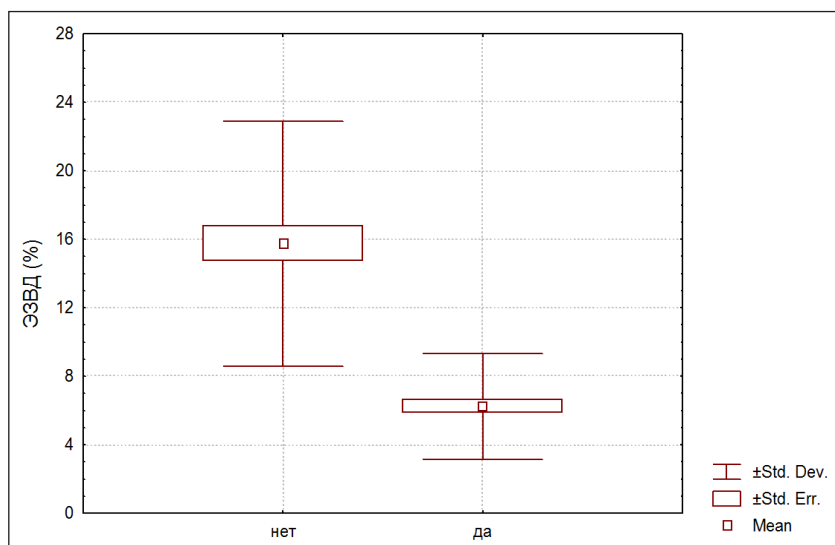


Рис. 4. Показатели эндотелийзависимой вазодилатации у пациентов, приверженных и не приверженных курению

Fig. 4. Indicators of endothelium-dependent vasodilation in patients prone to and not committed to smoking

гностическое значение. Нарушение работы эндотелия в настоящее время исследуется многими зарубежными авторами, в том числе и у больных с ожирением.

В одном из таких исследований, проводимых в США, было показано, что женщины с избыточной массой тела и ожирением, с наличием >1 фактора риска сердечно-сосудистой патологии, имеют эндотелиальную дисфункцию [19]. Диагностика дисфункции эндотелия в этом исследовании проводилась с помощью теста с реактивной гиперемией на плечевой артерии, определялся С-реактивный белок как маркер эндотелиальной дисфункции и проводился тредмил-тест, показатели которого, в частности, пик VO_2 , оказались наиболее коррелируемыми со степенью эндотелиальной дисфункции.

Другое ретроспективное исследование показало связь между индексом массы тела и физической активностью у пациентов с ожирением, изменение которых (повышение ИМТ и снижение физической активности соответственно) повышало риск смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [18].

В литературе активно обсуждается вопрос и о роли микроальбуминурии как о проявлении эндотелиальной дисфункции [14]. Микроальбуминурия (МАУ) при большинстве патологических условий связана с нарушением капиллярной стенки клубочка с транскапиллярной потерей альбумина. Под термином «микроальбуминурия» понимают экскрецию альбумина с мочой в количестве, превышающем физиологическую норму, но ниже пределов чувствительности обычно используемых методов: за 24 ч более 30 мг (более 20 мкг/мин) – до 300 мг альбумина (200 мкг/мин) [10]. В европейских странах для определения потерь белка с мочой также нередко используют величину отношения «альбумин/креатинин в моче» – на микроальбуминурию указывают цифры 2,5–30 мг/ммоль у мужчин и 3,5–30 мг/ммоль у женщин (нижний предел этого соотношения у женщин отличается в связи с более низким уровнем экскреции креатинина) [17].

Механизм развития атеросклеротического поражения сосудов при гипергомоцистеинемии остается не до конца ясным. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что продукты аутоокисления гомоцистеина, протекающего с образованием активных форм кислорода, индуцируют формирование атеросклеротической бляшки путем повреждения эндотелия, нарушения целостности сосудистой стенки и стимуляции пролиферации гладкомышечных клеток меди.

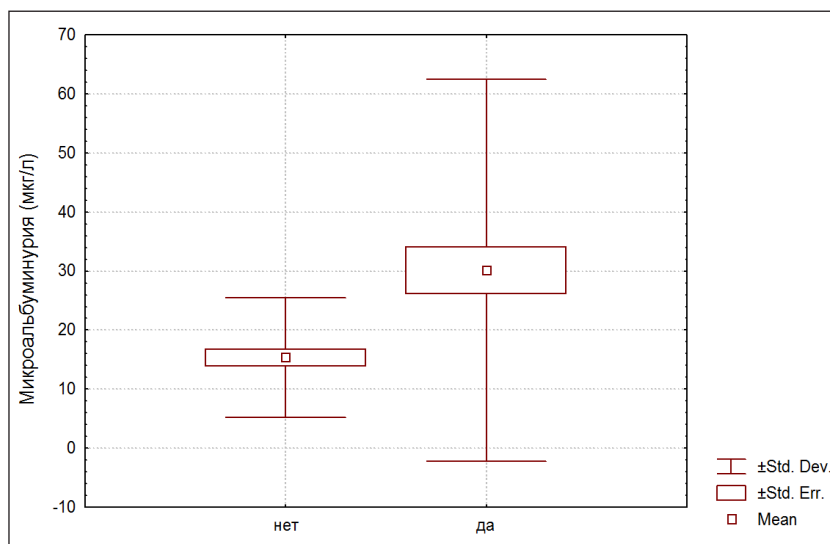


Рис. 5. Уровень микроальбуминурии у курящих и некурящих пациентов
Fig. 5. Level of microalbuminuria in smokers and non-smokers

в своем составе SH-группы, обладает проокислительной активностью: при высоком уровне гомоцистеина в крови он подвергается окислению, в процессе которого образуются свободные радикалы. Образовавшиеся в процессе окисления гомоцистеина анион O^- и гидроксильный ион OH^- инициируют перекисное окисление липидов, что приводит к повреждению эндотелиальных клеток и образованию окисленных липопротеидов плазмы крови. Гомоцистеин также нарушает нормальную продукцию NO эндотелиальными клетками, понижает биодоступность NO, так как уменьшается синтез последнего. Усиление перекисного окисления липидов с участием гомоцистеина приводит как к уменьшению продукции NO ферментом NO-синтазой, так и прямой деградации NO. Нарушение тонкого баланса системы оксида азота, в первую очередь, из-за развития оксидативного стресса, усиливает дисфункцию эндотелия.

Исходя из полученных данных, можно предположить, что уровень микроальбуминурии можно рас-

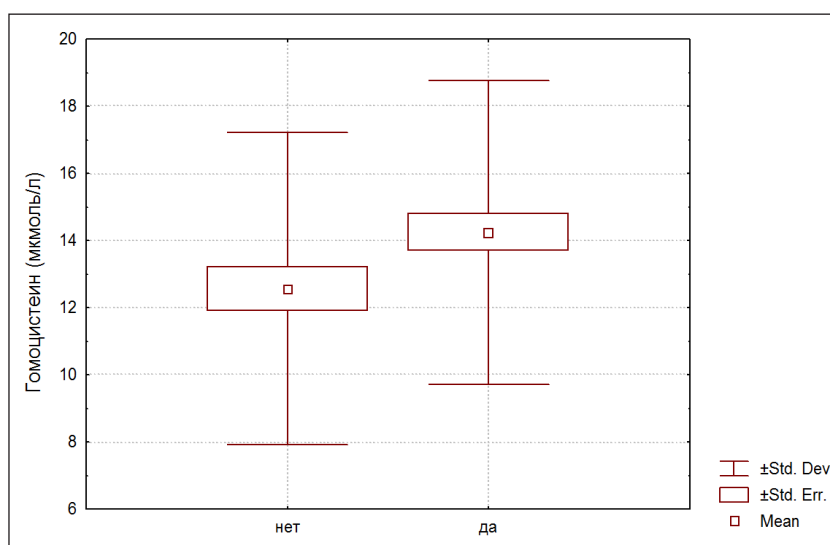


Рис. 6. Уровень гомоцистеина у курящих и некурящих пациентов
Fig. 6. Homocysteine level in smokers and non-smokers

смагивать как более ранний маркер эндотелиальной дисфункции в связи с тем, что изменение этого показателя отслеживается уже во 2-й группе, т. е. при 2-й степени ожирения, тогда как уровень гомоцистеина превышает нормальные значения лишь в 3-й группе, т. е. при 3-й степени ожирения.

Необходимо помнить и о значимости курения как фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний и эндотелиальной дисфункции. В контексте ожирения важно, что курение провоцирует эндотелиальную дисфункцию, которая является важнейшим звеном его патогенеза. В нашем исследовании было показано, что курение способствует прогрессированию дисфункции эндотелия, что также подтверждается многочисленными зарубежными исследованиями.

Выводы

На основании полученных результатов показано, что ожирение, а именно – степень ожирения, коррелирует с эндотелиальной дисфункцией и ее маркерами. В нашем исследовании было показано, что с повышением степени ожирения отмечается, в первую очередь, ухудшение течения липидного обмена, а именно – повышение такого показателя, как триглицериды. Триглицериды, как известно, оказывают влияние на сердечно-сосудистый риск, развитие артериальной гипертензии и острых сердечно-сосудистых состояний. Помимо этого, было показано, что с нарастанием степени ожирения ухудшается функция эндотелия за счет снижения уровня ЭЗВД. Относительно других проявлений можно сказать о том, что такой показатель, как МАУ, который отражает степень проницаемости эндотелиальной оболочки сосудов почек, также имеет тенденцию к повышению, и у пациентов с наибольшей степенью ожирения этот показатель превосходит норму. Гомоцистеин, являясь косвенным признаком дисфункции эндотелия, также имеет тенденцию к повышению, однако остается в пределах нормальных значений.

Интересным, на наш взгляд, является и влияние фактора курения на ухудшение течения дисфункции эндотелия. В первую очередь, можно сказать о том, что среди курящих пациентов ожирение распространено чаще, чем среди некурящих, что уже доказывает тот факт, что курение является фактором, ухудшающим течение любого заболевания. У пациентов, приверженных курению, отмечалось как снижение значительно ниже нормальных значений ЭЗВД, так и повышение МАУ. У пациентов с 1-й степенью ожирения не отмечалось достоверных изменений, что, вероятно, могло быть связано с тем, что пациенты данной группы были достоверно моложе.

Имея полученные результаты, представляется возможным сделать выводы как о влиянии степени ожирения на ухудшение течения состояния эндотелия сосудов, так и о том, что курение остается фактором, ухудшающим состояние сосудистой стенки, особенно у пациентов с ожирением, что, в свою очередь, говорит о необходимости поиска путей профилактики возникновения и лечения ожирения и устранения курения у данных пациентов.

Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interests.

Литература / References

1. Дедов И. И., Шестакова М. В., Кочемасова Т. В. и др. Дисфункция эндотелия в развитии сосудистых осложнений сахарного диабета // *Росс. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова*. – 2001. – Т. 87. – № 8. – С. 1073–1084. [Dedov II, Shestakova MV, Kochemasova TV. Disfunktsiya endoteliiya v razvitiy sosudistyykh oslozhneniy sakharnogo diabeta. Rossiyskii fiziologicheskii zhurnal imeni IM Sechenova. 2001;87(8):1073-1084. (In Russ)].
2. Лындина М. Л., Шишкин А. Н., Воловникова В. А. Особенности внутрисосудистой гемодинамики у пациентов с метаболическим синдромом // *Нефрология*. – 2015. – Т. 19. – № 4. – С. 82–88. [Lyndina ML, Shishkin AN, Volovnikova VA. Osobennosti vnutripochechnoy gemodinamiki u patsiyentov s metabolicheskim sindromom. Nephrologiya. 2015;19(4):82-88. (In Russ)].
3. Лындина М. Л., Шишкин А. Н., Тесля О. В. Особенности ранней диагностики эндотелиальной дисфункции у больных с метаболическим синдромом // *Вестн. СПбГУ. Сер.: 11. Медицина*. – 2014. – № 3. – С. 56–64. [Lyndina ML, Shishkin AN, Teslya OV. Osobennosti ranney diagnostiki endotelialnoy disfunktsii u bolnykh s metabolicheskim sindromom. Vestnik SPBGU 11 Meditsina. 2014;3:56-64. (In Russ)].
4. Панина И. Ю., Румянцев А. Ш., Менишутина М. А. и др. Особенности функции эндотелия при хронической болезни почек: обзор литературы и собственные данные // *Нефрология*. – 2007. – Т. 11. – № 4. – С. 28–42. [Panina IU, Rumyantsev ASH, Menshutina MA, Achkasova VV, Degtereva OA, Tugusheva FA, Zubina IM. Osobennosti funktsii endoteliiya pri khronicheskoy bolezni pochek. Obzor literatury I sobstvennyye dannyye. Nefrologiya. 2007;11(4):28-42. (In Russ)].
5. Петрищев Н. Н., Власов Т. Д. Физиология и патофизиология эндотелия. Дисфункция эндотелия: причины, механизмы, фармакологическая коррекция. – СПб.: СПбГМУ, 2003. – С. 4–38. [Petrishchev NN, Vlasov TD, Fiziologiya I patofiziologiya endoteliiya. Disfunktsiya endoteliiya. Prichiny, mekhanizmy, farmakologicheskaya korrektsiya. Izdatelstvo SPBGMU, SPb. 2003;4-38. (In Russ)].
6. Петрищев Н. Н. Современные аспекты эндотелиопротекции в клинической практике // *Ангиопротекция в практике терапевта: Материалы III конгр. терапевтов Санкт-Петербурга и Северо-Западного федерального округа России*. – СПб., 2004. – С. 3–6. [Petrishchev NN. Sovremennyye aspekty endoteliioprotektsii v klinicheskoy praktike. Angioprotektsiya v praktike terapevta: Materialy III Kongressa terapevtov Sankt-Peterburga I Severo-Zapadnogo Federalnogo okruga Rossii. SPb. 2004:3-6. (In Russ)].
7. Постникова Е. В., Смирнов И. Е., Маслова О. И. и др. Клинико-патогенетическое значение эндотелиальной дисфункции в формировании ожирения у детей // *Росс. педиатр. журн.* – 2013. – № 5. – С. 36–40. [Postnikova EV, Smirnov IE, Maslova OI i soavt. Kliniko-patogeneticheskoe znachenie endotelialnoy disfunktsii v formirovaniy ozhireniya u detey. Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal. 2013;5:36-40. (In Russ)].
8. Шишкин А. Н., Кирилук Д. В. Дисфункция эндотелия у пациентов с прогрессирующими заболеваниями почек // *Нефрология*. – 2005. – № 9 (2). – С. 16–22. [Shishkin AN, Kirilyuk DV. Disfunktsiya endoteliiya u pacientov s progressiruyushchimi zabolevaniyami pochek. Nefrologiya. 2005;9(2):16-22. (In Russ)].

9. Шишкин А. Н. Современная стратегия терапии эндотелиальной дисфункции с позиции доказательной медицины // Новые Санкт-Петербург. врачебные ведомости. – 2008. – № 3. – С. 16–19. [Shishkin AN. *Sovremennaya strategiya terapii endotelialnoy disfunkcii s pozicii dokazatelnoy mediciny. Noveye Sankt-Peterburgskie Vrachebnye Vedomosti.* 2008;3:16-19. (In Russ)].
10. Шляхто Е. В., Негода С. В., Конради А. О. и др. Концепция новых национальных клинических рекомендаций по ожирению // Росс. кардиолог. журн. – 2016. – № 4 (132). – С. 7–13. [Shlyaheto EV, Negoda SV, Konradi AO i dr. *Konceptsiya novykh nacionalnykh klinicheskikh rekomendatsiy po ozhireniyu*// Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal. 2016;4(132):7-13. (In Russ)].
11. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JJ, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC Jr. International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention, National Heart, Lung, and Blood Institute, American Heart Association, World Heart Federation, International Atherosclerosis Society, International Association for the study of Obesity. *Circulation.* 2009;120(16):1640-5.
12. Ali Ozyol, Oguzhan Yucel et al. Microalbuminuria is associated with the severity of coronary artery disease independently of other cardiovascular risk factors. *Angiology.* 2012;63(6):457-460.
13. Celermajer DS. Testing endothelial function using ultrasound // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998;32(Suppl.)–3:29-32.
14. Figueiredo EL., Figueiredo ASF. Another reason for measuring microalbuminuria: its possible association with heart failure. *E-Journal of Cardiology Practice.* 2012;10(28).
15. Fornoni A., Raij L. Metabolic syndrome and endothelial dysfunction. *Current Hypertension Reports.* 2005;7:88-95.
16. Guo F, Moellering DR, Garvey WT. The progression of cardiometabolic disease: validation of a new cardiometabolic disease staging system applicable to obesity. *Obesity.* 2014;22,1:110-18.
17. Karalliedde J., Viberti G. Microalbuminuria and cardiovascular risk. *Am J Hipertens.* 2004;17:986-93.
18. Li TY, Rana JS, Manson JE, Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Rexrode KM, Hu FB. Obesity as compared with physical activity in predicting risk of coronary heart disease in women. *Circulation.* 2006;113:499-506.
19. Lippincott MF, Carlow A, Desai A, Blum A, Rodrigo M, et al. Relation of Endothelial Function to Cardiovascular Risk in Women With Sedentary Occupations and Without Known Cardiovascular Disease. *The Am Coll of Cardiol.* 2008;102, is. 3.
20. Marie I, Beny JL. Endothelial dysfunction in murine model of systemic sclerosis. *J Invest Dermatol.* 2002;119(6):1379-1385.
21. Meyers DG, Neuberger JS, He J. Cardiovascular effects of bans on smoking in public places: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the American College of Cardiology.* 2009;54(14):1249–55.
22. Oliviera GH. Novel serologic markers of cardiovascular risk. *Current Atherosclerosis Reports.* 2005;7:148-154.
23. O'Neill S, O'Driscoll L. Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obesity reviews.* 2015;16(1):1-12.
24. Serra A, Romero R, Lopez D, Navarro M et al. Renal injury in the extremely obese patients with normal renal function. *Kidney Int.* 2008.73(8):947-55.
25. Slarma S., Chalaut Vs. et al. Microalbuminuria and C-reactive protein as a predictor of coronary artery disease in patient of acute chest pain // *J Cardiovascular Disease Research.* 2013.4(1):37-9. Doi: 10.1016.
26. Stegenda H. et al. Identification, assessment and management of overweight and obesity; summary of updated NICE guidance. *BMJ.* 2014;349:g6608.

Информация об авторах

Лыдина Мария Леонидовна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры факультетской терапии медицинского факультета СПбГУ, e-mail: A777KA@gmail.com.

Шишкин Александр Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской терапии медицинского факультета СПбГУ, e-mail: alexshishkin@bk.ru.

Author information

Lyndina Maria L. – Phd, assistant of faculty department of Medical faculty of Saint-Petersburg State University, e-mail: A777KA@gmail.com.

Shishkin Alexander N. – doctor of medicine, professor and head of faculty department of medical faculty of Saint-Petersburg State University, e-mail: alexshishkin@bk.ru.

УДК 616.314-74

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-26-29

ДМИТРИЕНКО Н. Ю., САРАП Л. Р., КИРИЕНКОВА Е. А.

Оценка микроциркуляции в пульпе постоянных зубов с несформированными корнями с помощью ультразвуковой доплерографии после лечения методом прямого покрытия пульпы биоактивными материалами

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул, Россия
656065, Россия, г. Барнаул, ул. Ленина, д. 40
e-mail: natadmitrienko@mail.ru

Статья поступила в редакцию 14.02.18; принята к печати 23.03.18

Резюме

Цель исследования – изучить процессы микроциркуляции в пульпе постоянных зубов с несформированными корнями после прямого покрытия пульпы биоактивными материалами в отдаленные сроки (через 6 и 12 месяцев).

Материал и методы. У 30 детей в возрасте от 6 до 13 лет 53 постоянных зуба с несформированными корнями были пролечены методом прямого покрытия пульпы. В группе 1 (n=29) использовался материал на основе дикальций- и трикальцийсиликатов и карбоната кальция («Biodentine»), в группе 2 (n=24) использовался материал на основе оксидов кальция, кремния и алюминия («Триоксидент»). Оценивали Vas, Vam, Qas, Qam, PI в сроки до лечения, через 6 и 12 месяцев после лечения, а также в интактных зубах соответствующей групповой принадлежности.

Результаты. Показатели микроциркуляции исследуемых зубов до лечения в обеих группах были статистически значимо выше, чем в интактных зубах. Через 6 и 12 месяцев после лечения в обеих группах наблюдалось статистически значимое снижение показателей скоростей кровотока по сравнению с показателями до лечения.

Заключение. Нормализация показателей кровотока (Vas, Vam, Qas, Qam) происходила в группе 1 через 6 месяцев. В группе 2 – Vas и Qas восстанавливались через 12 месяцев, а Vam и Qam оставались повышенными. PI в обеих группах не достигал нормальных значений.

Ключевые слова: пульпа, постоянные зубы с несформированными корнями, прямое покрытие пульпы, биоактивные материалы, ультразвуковая доплерография

Для цитирования: Дмитриенко Н. Ю., Сарап Л. Р., Кириенкова Е. А. Оценка микроциркуляции в пульпе постоянных зубов с несформированными корнями с помощью ультразвуковой доплерографии после лечения методом прямого покрытия пульпы биоактивными материалами. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(2):28–31. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-26-29

UDC 616.314-74

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-26-29

DMITRIENKO N. U., SARAP L. R., KIRIENKOVA E. A.

Evaluation of microcirculation in the pulp of immature permanent teeth by ultrasound doppler after direct pulp capping with bioactive materials

Altai State Medical University Ministry of health Russia, Barnaul, Russia
656065, Russia, Barnaul, Lenina street, 40
e-mail: natadmitrienko@mail.ru

Received 14.02.18; accepted 23.03.18.

Summary

Objectives. Our objectives were to study microcirculations in the pulp of immature permanent teeth after direct pulp capping with bioactive materials at long-term (6 and 12 months).

Material and methods. In 30 children aged 6 to 13 years, 53 immature permanent teeth were treated by direct pulp capping. In group 1 (n = 29) was used a material based on dicalcium- and tricalcium silicates and calcium carbonate («Biodentine»); in group 2 (n = 24) was used a material based on calcium, silicon and aluminum oxides («Trioxident»). Vas, Vam, Qas, Qam, PI were evaluated before the treatment, 6 and 12 months after treatment, and also in intact teeth, congruent group affiliation.

Results. The parameters of microcirculation of the studied teeth before treatment in both groups were statistically significantly higher than in intact teeth. At 6 and 12 months after treatment, both groups showed a statistically significant decrease in blood flow rates compared to pre-treatment rates.

Conclusion. Normalization of blood flow indicators (Vas, Vam, Qas, Qam) occurred in group 1 after 6 months. In group 2, Vas and Qas restored at 12 months, while Vam and Qam remained elevated. PI in both groups did not reach normal values.

Key words: pulp, immature permanent teeth, direct pulp capping, bioactive materials, ultrasound doppler

For citation: Dmitrienko N. U., Sarap L. R., Kirienkova E. A. Evaluation of microcirculation in the pulp of immature permanent teeth by ultrasound doppler after direct pulp capping with bioactive materials. *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2018; 17(2):28–31. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-26-29

Введение

В настоящее время в разных регионах России распространенность кариеса в возрастной группе 12–15 лет колеблется от 61 до 90 % [4]. Установлено, что наиболее активно кариозным процессом поражаются зубы на 1-м году после прорезывания, что можно объяснить морфологической незрелостью твердых тканей зуба после прорезывания и наличием кариесогенной ситуации в полости рта, обусловленной нерациональным питанием и низким уровнем гигиены [2, 5, 6].

Активное течение кариеса в слабоминерализованных тканях молодых постоянных зубов при отсутствии своевременного выявления может приводить к усугублению патологии и поражению пульпы. При выборе метода лечения пульпы в постоянных зубах с несформированными корнями необходимо прибегать к консервативным методам, которые направлены на сохранение витальности пульпы и, соответственно, продолжение апексогенеза [3]. Возможность эффективного применения консервативных методов обусловлена выраженной способностью пульпы зуба к защитно-приспособительным реакциям, за счет особенностей строения пульпы в период формирования корней, таких как наличие коллатерального кровотока и большое количество низкодифференцированных клеточных элементов, а также высокой функциональной активностью всех структур пульпы, связанных с физиологическим процессом роста корня. Современная стоматология направлена на поиск и изучение материалов, способных не только сохранять жизнеспособность пульпы, но и стимулировать ее защитные механизмы – индуцировать образование третичного дентина, отделяющего пульпу от дна кариозной полости [8–10].

Изменения в микроциркуляторном русле пульпы, выявляемые методом ультразвуковой доплерографии, являются весьма чувствительным индикатором ее состояния, что делает актуальным изучение гемодинамики в пульпе зубов после проведенного лечения для оценки отдаленных результатов лечения [1, 7].

Цель исследования – изучить процессы микроциркуляции в пульпе зубов постоянного прикуса с несформированными корнями после лечения методом прямого покрытия пульпы биоактивными материалами в отдаленные сроки (через 6 и 12 месяцев).

Материал и методы исследования

Дети в возрасте от 6 до 13 лет (n=30) были разделены на две группы.

Группа 1 – 16 детей в возрасте от 6 до 13 лет, у которых 29 постоянных зубов с несформированными корнями были пролечены методом прямого покрытия пульпы с использованием материала на основе ди-

кальций- и трикальцийфосфатов и карбоната кальция («Biodentine»).

Группа 2 – 14 детей в возрасте от 6 до 13 лет, у которых 24 постоянных зуба с несформированными корнями были пролечены методом прямого покрытия пульпы материалом на основе оксидов кальция, кремния и алюминия («Триоксидент»).

Во всех случаях наблюдения был поставлен диагноз «Начальный пульпит (гиперемия пульпы) K04.00». Обследование пациентов на контрольных осмотрах включало в себя выяснение жалоб пациента и объективный осмотр. Изучение микроциркуляции в пульпе исследуемых зубов выполнялось у пациентов обеих групп в сроки до лечения, затем через 6 и 12 месяцев после лечения, а также в интактных зубах соответствующей групповой принадлежности с использованием ультразвукового компьютеризированного прибора «Минимакс-Допплер-К (ММ-Д-К)», модель НБ («СП Минимакс», Санкт-Петербург, Россия), датчик – 20 МГц. Для получения максимального сигнала использовали акустический гель для ультразвукового исследования, устанавливали датчик под углом 60° в пришеечной области резцов и клыков, бугров у премоляров и жевательной поверхности моляров.

Анализ состояния микроциркуляции в пульпе зуба включал оценку линейных скоростей кровотока (см/с): Vas – максимальная систолическая скорость по кривой средней скорости; Vam – средняя линейная скорость по кривой средней скорости; объемных скоростей кровотока (мл/мин): Qas – систолическая объемная скорость по кривой средней скорости; Qam – средняя объемная скорость по кривой средней скорости; индекса пульсации Гослинга (PI) – отражает упруго-эластические свойства сосудов и является наиболее чувствительным к изменению периферического сопротивления сосудов.

Статистическую обработку полученных данных выполняли с помощью компьютерной программы «MS Excel», с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Уровень статистической значимости при проверке нулевой гипотезы принимали соответствующим $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Значения вышеуказанных показателей ультразвуковой доплерографии в исследуемых группах на этапах наблюдения приведены в таблице.

При сравнении показателей микроциркуляции в интактных и исследуемых зубах до лечения было выявлено их статистически значимое увеличение в обеих группах.

В сравнении с показателями в интактных зубах максимальная систолическая скорость кровотока (Vas) в 1-й группе была повышена на 8 %, средняя линейная скорость кровотока (Vam) – на 12 %, систо-

Средние значения показателей ультразвуковой доплерографии в пульпе в исследуемых группах (M±m)

Mean values of the ultrasound doppler in the pulp in the study groups (M±m)				
Показатель	Срок наблюдения			Интактные зубы
	до лечения	6 месяцев	12 месяцев	
1-я группа				
Vas, см/с	0,337±0,031	0,287±0,052*	0,237±0,020*	0,309±0,072*
Vam, см/с	0,133±0,007	0,119±0,010**	0,107±0,005*	0,116±0,008*
Qas, мл/мин	0,273±0,028	0,238±0,043*	0,154±0,011*	0,243±0,057*
Qam, мл/мин	0,110±0,007	0,096±0,007**	0,087±0,004*	0,091±0,006*
PI	6,042±0,907	5,722±0,007	4,058±0,290*	3,134±0,135*
2-я группа				
Vas, см/с	0,301±0,022	0,272±0,021	0,226±0,021*	0,233±0,018*
Vam, см/с	0,128±0,009	0,129±0,009	0,117±0,008	0,103±0,003*
Qas, мл/мин	0,243±0,023	0,207±0,018	0,179±0,017*	0,183±0,014*
Qam, мл/мин	0,099±0,004	0,097±0,004	0,093±0,004	0,080±0,003*
PI	5,082±0,443	4,209±0,246	3,872±0,248**	3,245±0,144*

Примечание: * – P<0,01; ** – P<0,05 в сравнении с данными до лечения.

лическая объемная скорость (Qas) – на 10 %, средняя объемная скорость кровотока (Qam) – на 17 %. Индекс пульсации (PI) был выше на 48 %.

В группе 2 Vas увеличилась на 22 %, Vam – на 19 %, Qas – на 24 %, Qam – на 19 %. Индекс пульсации (PI) был выше значений в интактных зубах на 36 %.

Увеличение показателей скоростей кровотока характеризует интенсификацию кровотока в пульпе на фоне повышения плотности сосудистой стенки. Такая картина гемодинамических изменений характеризует подключение защитно-приспособительных механизмов регуляции кровотока в ответ на повреждение.

В группе 1 через 6 месяцев после лечения наблюдалось статистически значимое снижение показателей скоростей кровотока по сравнению с показателями до лечения (Vas – на 14 %; Vam – на 10 %; Qas – на 12 %; Qam – на 12 %) до уровня, соответствующего показателям интактных зубов, что характеризует улучшение гемодинамики в пульпе зубов. При этом индекс пульсации хоть и имел тенденцию к снижению (на 5 % по сравнению с уровнем до лечения), изменялся незначимо и оставался выше показателя в интактных зубах, что соответствует сохранению явлений вазоконстрикции в микрососудистом русле.

В группе 2 через 6 месяцев после проведенного лечения снижение показателей шло медленнее. Vas снизилась на 9 % относительно исходных значений, Qas – на 14 %, Qam – на 2 %, PI – на 17 %. Значения Vam не изменились. Таким образом, через 6 месяцев явления гиперемии в пульпе зуба уменьшались при сохраняющейся затрудненной перфузии тканей и снижении эластических свойств сосудистой стенки.

Через 12 месяцев в обеих группах тенденция улучшения гемодинамики сохранялась, значения показателей статистически значимо отличались от показателей зубов до лечения. В группе 1 Vas уменьшилась еще на 14 %; Vam – на 9 %; Qas – на 30 %; Qam – на 8 %, при этом показатели Vas и Qas были меньше значений в интактных зубах, Vam и Qam со-

ответствовали показателям в интактных зубах. Пульсационный индекс продолжал снижаться (на 27 % по сравнению с 6 месяцами).

В группе 2 через 12 месяцев значения Vas и Qas снижались на 24 и 26 % соответственно и достигали уровня интактных зубов. Значения Vam и Qam снижались на 8 и 6 % соответственно, но оставались выше, чем в интактных зубах. PI также снижался на 23 %, но не достигал уровня интактных зубов.

Однонаправленное снижение показателей скоростей кровотока в обеих группах говорит о стабилизации процессов гемодинамики. Снижение индекса PI характеризует повышение эластичности сосудистой стенки. При этом более выраженные изменения наблюдаются в группе 1.

Выводы

1. В группе 1, где применялся материал на основе дикальций- и трикальцийсиликатов и карбоната кальция («Biodentine»), показатели скоростей кровотока (Vas, Vam, Qas, Qam) восстанавливались через 6 месяцев после лечения, достигая значений интактных зубов. В группе 2, где был использован материал на основе оксидов кальция, кремния и алюминия («Триоксидент»), восстановление происходило медленнее – Vas и Qas восстанавливались через 12 месяцев, а Vam и Qam, хоть и имели тенденцию к снижению, оставались выше значений в интактных зубах.

2. Индекс пульсации в обеих группах имел тенденцию к снижению, но не достигал нормальных значений, оставаясь повышенным, что указывает на сохраняющееся нарушение упруго-эластических свойств стенки сосудов и затруднение микроциркуляции, хотя клинически никаких изменений в зубах (боль, реакция на холод, чувствительность к перкуссии) не наблюдалось.

Литература / References

1. Гиззатуллина Л. Л. Исследование гемодинамики пульпы зуба при заболеваниях твердых тканей с помощью ульт-

тразвуковой доплерографии // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2006. – Т. 5. – № 2. – С. 101–102. [Gizzatulina LL. Investigation of dental pulp hemodynamics in diseases of hard tissues using ultrasound dopplerography. Regional hemodynamics and microcirculation. 2006;5(2):101-102. (In Russ).]

2. Кисельникова Л. П., Леонтьев В. К. Влияние исходного уровня минерализации прорезавшихся моляров на поражаемость их кариесом // Стоматология. – 1996. – Т. 75. – № 2. – С. 55–58. [Kiselnikova LP, Leontyev VK. Relationship between the initial level of mineralization during eruption of molars and their carious involvement. Stomatologia. 1996;75(2):55-58. (In Russ).]

3. Козловская Л. В., Мельникова Е. И., Белик Л. П. Витальная пульпотомия при лечении пульпита постоянных зубов у детей: показания, методика, исходы // Стоматолог. журн. – 2010. – № 1. – С. 42–45. [Kozlovskaya LV, Melnikova EI, Belik LP. Vitalnaya pulpotomiya pri lechenii pulpita postoyannyih zubov u detey: pokazaniya, metodika, ishodyi. Stomatologicheskii zhurnal. 2010;1:42-45. (In Russ).]

4. Кузьмина Э. М., Кузьмина И. Н., Васина С. А. и др. Стоматологическая заболеваемость населения России. Состояние твердых тканей зубов. Распространенность зубочелюстных аномалий. Потребность в протезировании. – М.: МГМСУ, 2009. [Kuzmina EM, Kuzmina IN, Vasina SA et al. Oral diseases prevalence among Russian population. Teeth condition. Dentofacial abnormalities. Prosthetic treatment need. Moscow: MGMSU, 2009. (In Russ).]

5. Сарап Л. Р., Мансимов А. В. О., Сарап Е. В. и др. Оценка клинической эффективности комплекса профилактических мероприятий у детей младшего школьного возраста // Стоматол. дет. возраста и профилактика. – 2012. – № 2. – С. 64–68. [Sarap LR, Mansimov AVO, Sarap EV et al. Assessment of clinical efficiency of complex of preventive measures in children of primary school age. Pediatric dentistry and dental prophylaxis. 2012;2:64-68. (In Russ).]

6. Психология отношений в практике врача-стоматолога / Ю. В. Шлегель, С. Е. Акимова, Л. Р. Сарап, Л. Н. Тупикова // Эндодонтия today. – 2013. – № 2. – С. 27–30. [Shlegel JuV, Akimova SE, Sarap LR, Tupikova LN. Psychology

of the relationships in the dentist's practice. Endodontics Today. 2013;(2):27-30. (In Russ).]

7. Cho YW, Park SH. Use of ultrasound Doppler to determine tooth vitality in a discolored tooth after traumatic injury: its prospects and limitations. Restorative dentistry & endodontics. 2014; 39(1):68-73. doi: 10.5395/rde.2014.39.1.68.

8. Corral Nuñez CM, Bosomworth HJ, Field C et al. Biodentine and mineral trioxide aggregate induce similar cellular responses in a fibroblast cell line. J Endod. 2014; 40(3):406-411. doi: 10.1016/j.joen.2013.11.006.

9. Nowicka A, Lipski M, Parafiniuk M et al. Response of human dental pulp capped with biodentine and mineral trioxide aggregate. J Endod. 2013;39(6):743-747. doi: 10.1016/j.joen.2013.01.005.

10. Ranly DM, Garcia-Godoy F. Current and potential pulp therapies for primary and young permanent teeth. J Dent. 2000;28:153-161.

Информация об авторах

Дмитриенко Наталья Юрьевна – ассистент кафедры стоматологии детского возраста ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, e-mail: natadmitrienko@mail.ru.

Сарап Лариса Рудольфовна – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой стоматологии детского возраста ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, e-mail: lrsarap@gmail.com.

Кириенкова Екатерина Анатольевна – аспирант кафедры терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, e-mail: katya-pav@mail.ru.

Author information

Dmitrienko Natalya Jurevna – assistant, Department of Children's Dentistry, Altay State Medical University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: natadmitrienko@mail.ru.

Sarap Larisa Rudolfovna – DM, Associate Professor, Head of the Department of Children's Dentistry, Altay State Medical University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: lrsarap@gmail.com.

Kirienkova Ekaterina Anatolevna – post-graduate student of the Department of Therapeutic Dentistry, Altay State Medical University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: katya-pav@mail.ru.

УДК 616.8-005

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-30-36

ВАСИЛЕВСКАЯ Л. А., НЕЧИПУРЕНКО Н. И.,
ПАШКОВСКАЯ И. Д.

Функциональное состояние эндотелия и оценка тканевой гипоксии на момент развития у пациентов транзиторной ишемической атаки

Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, г. Минск, Беларусь
220114, Беларусь, г. Минск, ул. Ф. Скорины, д. 24
e-mail: Luda_vass@mail.ru

Статья поступила в редакцию 14.02.18; принята к печати 26.02.18

Резюме

Цель работы – изучить микроциркуляторные, метаболические нарушения и возможность их коррекции у пациентов с транзиторными ишемическими атаками (ТИА) при применении в комплексном лечении лазерной гемотерапии (ЛГ).

Материал и методы. Изучали вазомоторную функцию эндотелия, показатели углеводно-энергетического обмена и перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови.

Результаты. Установлены дисфункция эндотелия, повышение соотношения «лактат/пируват», усиление ПОЛ, низкая активность супероксиддисмутазы. Проведение комплексного лечения улучшает микроциркуляторные и метаболические показатели.

Выводы. Рекомендовано включение ЛГ в комплексное лечение пациентов с ТИА.

Ключевые слова: микрогемодинамика, дисфункция эндотелия, метаболические нарушения, транзиторная ишемическая атака, лазерная гемотерапия

Для цитирования: Василевская Л. А., Нечипуренко Н. И., Пашковская И. Д. Функциональное состояние эндотелия и оценка тканевой гипоксии на момент развития у пациентов транзиторной ишемической атаки. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(2):32–38. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-30-36

UDC 616.8-005

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-30-36

VASILEVSKAYA L. A., NECHIPURENKO N. I.,
PASHKOUSKAYA I. D.

Endothelium functional state and evaluation of tissue hypoxia in patients at the moment of the transitorial ischemic attacks development

Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Belarus
220114, Belarus, Minsk, F. Skoriny street, 24
e-mail: Luda_vass@mail.ru

Received 14.02.17; accepted 26.02.18.

Summary

Purpose. To study microcirculatory, metabolic disturbances and the possibility of their correction in patients with transient ischemic attacks (TIA) when used in the complex treatment of laser hemotherapy (LH).

Material and methods. We studied the vasomotor function of the endothelium, the parameters of carbohydrate-energy metabolism and lipid peroxidation (LPO) in the blood.

Results. Endothelial dysfunction, increased lactate/ pyruvate ratio, increased LPO, low activity of superoxidedismutase were established. The complex treatment improves microcirculatory and metabolic parameters.

Conclusions. It is recommended to include LH in the complex treatment of patients with TIA.

Key words: microhemocirculation, endothelium dysfunction, metabolic disturbances, transient ischemic attack, laser hemotherapy

For citation: Vasilevskaya L. A., Nechipurenko N. I., Pashkouskaya I. D. Endothelium functional state and evaluation of tissue hypoxia in patients at the moment of the transitorial ischemic attacks development. Regional hemodynamics and microcirculation. 2018;17(2):32–38. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-30-36

Введение

Исследование патофизиологических механизмов острых нарушений мозгового кровообращения, в частности, транзиторных ишемических атак (ТИА), является актуальной проблемой современной неврологии, поскольку при этой патологии риск развития ишемического инсульта и инфаркта миокарда высок у людей не только пожилого, но и среднего возраста [2, 10]. При ТИА важной компенсаторной реакцией сосудистой системы мозга является вазодилатация, которая увеличивает объем мозгового кровотока и носит характер ауторегуляции сосудистого тонуса церебральных сосудов [14, 15]. Дальнейшее развитие патологического процесса ведет к снижению центрального перфузионного давления в мозгу и срыву компенсаторных процессов. Следствием нарушения гемодинамики являются метаболические расстройства, которые обусловлены развитием тканевой гипоксии. Важное значение для изучения механизмов ауторегуляции сосудов мозга имеет информация о состоянии сосудистой реактивности, при этом регуляторные механизмы направлены на установление интенсивности кровотока, близкого к исходному уровню, либо изменение его соответственно новым условиям функционирования. Сосудистую реактивность определяют отношением показателей, характеризующих деятельность системы кровообращения в состоянии покоя, к их значениям на фоне воздействия нагрузочного теста, что особенно важно для оценки микрогемодициркуляторного звена кровотока [11]. Проведение теста реактивной гиперемии в условиях окклюзии плечевой артерии приводит к переходу от колебательного режима изменения тонуса сосудов плеча и кисти к режиму вазоконстрикции, а после прекращения окклюзии – вазодилатации, что позволяет оценить сосудистую реактивность [12].

Сосудистые ишемические поражения головного возникают в результате снижения уровня кислорода в артериальной крови и формирования комплекса патобиохимических расстройств, что обуславливает развитие первичной, прогрессирующей вторичной церебральной ишемии и увеличение зон ишемических полутеней с сосудистыми поражениями мозга [13]. Как известно, дефицит кислорода ведет к ограничению аэробного образования энергии вследствие нарушения энергосинтезирующей функции дыхательной цепи митохондрий [7].

Нарушение энергетического метаболизма, сопряженного с образованием активных форм кислорода, приводит к изменению трансмембранных ионных потоков и накоплению внутриклеточного кальция. Усиление свободно-радикальных процессов и снижение антиоксидантной защиты у пациентов с сосудистой патологией головного мозга являются одними из важнейших патогенетических звеньев неврологических поражений центральной нервной системы [3].

Следовательно, ТИА характеризуется сложной патогенетической структурой, в которой доминирующее значение имеют кислородзависимые процессы. Нарушение последних приводит к активации перекисного окисления липидов (ПОЛ), сдвигам углеводно-энергетического обмена, кислотно-основного

баланса, дисрегуляции антиоксидантной функции крови, развивающимися на фоне одновременно подерживаемой дисфункции эндотелия.

Известно позитивное полифункциональное влияние и высокая терапевтическая эффективность внутривенного лазерного облучения крови (ВЛОК) при ишемических поражениях центральной и периферической нервной системы [8]. Системный характер вторичных биохимических и физиологических эффектов лазерного облучения крови объясняется многообразием фотоакцепторов и запускаемых первичных фотобиологических реакций на молекулярном, субклеточном и клеточном уровнях, что позволило включить ВЛОК в состав комплексной терапии пациентов с ТИА.

Цель работы – изучить микроциркуляторные, метаболические нарушения и возможность их коррекции у пациентов с транзиторными ишемическими атаками при применении в комплексном лечении лазерной гемотерапии.

Материал и методы исследования

Проведена оценка комплексного лечения с включением ВЛОК на фоне базисной терапии у 16 пациентов с ТИА, медиана возраста которых составила 53 (50–70) года, из них женщин – 10 (62,5 %), мужчин – 6 (37,5 %).

Всем пациентам при поступлении в стационар выполняли общеклинические анализы, ЭКГ, ЭЭГ, МРТ или КТ, ультразвуковую доплерографию (УЗДГ) брахиоцефальных артерий; пациенты консультированы кардиологом.

Базисная терапия ТИА включала индивидуальную медикаментозную коррекцию гипергликемии, артериальной гипертензии, нарушений сердечного ритма, проявлений сердечной недостаточности, а также симптоматические препараты. Пациенты с кардиоэмболическим вариантом ТИА получали антиагреганты, антикоагулянты и статины.

Пациенты с ТИА дополнительно к базисной терапии получали курс ВЛОК, который осуществляли полупроводниковым лазером «Люзар МП» с длиной волны 0,67 мкм и выходной мощностью 3 мВт. Курс лечения составлял 7–8 20-минутных процедур и начинался сразу после подтверждения диагноза.

Кровь для исследования у пациентов с ТИА брали из кубитальной вены натошак на 1–2-е и 13–15-е сутки лечения.

В контрольную группу вошли 30 лиц, не страдающих острыми сердечно-сосудистыми заболеваниями, медиана возраста которых составила 55 лет (44–63), из них женщин – 16 (53 %), мужчин – 14 (47%). Биохимические показатели изучены у 23 здоровых добровольцев. Вазомоторная функция эндотелия исследована методом высокочастотной УЗДГ, характеризующим состояние кожной микрогемодинамики, с использованием прибора «Минимакс-Допплер-К», имеющего непрерывный, высокочастотный ультразвуковой датчик с частотой излучения 20 МГц. Сосудистую реактивность исследовали на основании оценки динамики скоростных характеристик кровотока в условиях выполнения модифицированного нами теста реактивной гиперемии.

Обработку полученных результатов проводили с определением линейных скоростей кровотока (см/с): Vas – максимальная систолическая скорость кровотока; Vam – средняя линейная скорость кровотока. Анализ динамики объемных скоростей кровотока не выявил статистически значимых изменений.

Определение состояния тканевой гипоксии оценивали по коэффициенту «лактат/пируват» (Л/П). Содержание пирувата определяли модифицированным методом Умбрайт [4]. Концентрацию лактата исследовали на анализаторе Biosen C_line. Выраженность процессов ПОЛ оценивали по содержанию их вторичных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-П), модифицированным методом В. А. Костюка [5]. Из показателей ферментативного антиоксидантного звена оценивали активности супероксиддисмутазы (СОД) в цельной крови по реакции супероксидзависимого окисления кверцетина [6].

Полученные результаты обработаны с помощью программы «Statistica 10.0». Числовые данные были проверены на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка. Результаты представлены в виде медианы и 25–75-го процентилей. Сравнение полученных результатов между группами проводили с помощью t-критерия для независимых групп или критерия Манна–Уитни; W-критерий Вилкоксона применяли при сравнении результатов двух зависимых групп. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

По данным изменения систолической линейной скорости кровотока Vas, адекватные реакции у здоровых лиц наблюдали в 93,3 % случаев (28 человек), из которых увеличение показателей в 1-ю мин после снятия манжеты отмечено в 96,4 % случаев (27 человек), при этом максимальные изменения Vas в 50 % случаев зарегистрированы спустя 1 мин после прекращения окклюзии плечевой артерии. Парадоксальная реакция с уменьшением показателей кровотока в течение всего постокклюзионного периода зарегистрирована у 2 человек (6,7 %). У пациентов с ТИА адекватные по направленности реакции зарегистрированы у 14 человек (87,5 % случаев), из них у 10 пациентов (72 %)

вазодилаторные реакции впервые возникали спустя 1 мин после снятия манжеты, что статистически не отличалось от данных здоровых добровольцев. Различия в характере наблюдаемых реакций у здоровых лиц и пациентов с ТИА установлены по времени развития максимальных сдвигов скоростных характеристик кожного кровотока. Так, максимальные изменения Vas через 1 мин после восстановления кровотока в норме зарегистрированы у 96,4 % (27 человек) здоровых лиц и у 43 % (6 человек) пациентов с ТИА ($p=0,0001$); через 3 мин после снятия манжеты максимальное увеличение Vas выявлено у 3 (11 %) добровольцев и 6 (43 %) пациентов с ТИА ($p=0,017$).

Следовательно, вазодилаторная реакция кожных сосудов кисти при проведении окклюзионной пробы у пациентов с ТИА характеризуется замедлением появления максимальных сдвигов систолической линейной скорости кровотока, что связано с ослаблением регуляторных механизмов.

Динамика линейных скоростей кровотока, регистрируемая на тыльной поверхности кожных покровов кисти у пациентов с ТИА до лечения при выполнении функционального теста с реактивной гиперемией, показана в табл. 1. Количественный анализ сдвигов Vas и Vam в % относительно фоновых значений, принятыми за ноль, во время проведения окклюзионной пробы приведен в табл. 2; 3, из которых видно, что у здоровых лиц прирост скоростных характеристик кровотока наблюдался в течение всего послеокклюзионного периода, характеризовался статистически значимыми изменениями показателей ($p=0,000001$ – $p=0,038$) с приростом значений на 50 % в 1-ю мин и постепенным снижением его до 29, 16, 10 и 17 % соответственно на 2-й, 3-й, 4-й и 5-й мин постокклюзионного периода.

В отношении Vam статистически значимые различия зарегистрированы в 1-ю и 2-ю мин после снятия манжеты с постепенным уменьшением прироста значений этого показателя с 36 до 11 % в сравнении с фоном (табл. 3).

У пациентов с ТИА, в отличие от здоровых лиц, в 1-ю мин после прекращения окклюзии плечевой артерии установлены более низкие значения при-

Таблица 1

Динамика кожного кровотока кисти в условиях проведения окклюзионной пробы у пациентов с ТИА до лечения, Ме и квартили

Table 1

Skin blood flow dynamics of the hand in the conditions of occlusion test in patients with TIA before treatment, Me and quartile

Показатель УЗДГ, см/с	До компрессии	После компрессии, мин				
		1	2	3	4	5
Vas, n=16	1,034 (0,689–1,034)	1,034 (0,689–2,067), p=0,019	1,034 (0,86–1,723), p=0,028	1,206 (0,861–1,722), p=0,035	1,206 (0,861–1,722), p=0,04	1,034 (0,689–1,722)
Vam, n=16	0,542 (0,428–0,664)	0,7 (0,499–1,188), p=0,015	0,719 (0,5–1,072), p=0,015	0,762 (0,462–0,917), p=0,001	0,069 (0,476–0,997)	0,597 (0,438–1,06), p=0,07

Примечание: здесь и в табл. 4 p – различия статистически значимы по сравнению с данными до компрессии плечевой артерии; n – количество наблюдений.

Таблица 2

Динамика Vas в % по отношению к фоновым значениям у здоровых лиц и пациентов с ТИА до лечения при реактивной гиперемии, Me и квартили

Table 2

Vas dynamics in % relative to baseline values in healthy subjects and patients with TIA before treatment with reactive hyperemia, Me and quartile

Показатель. Пробы	Здоровые (n=28)		Пациенты с ТИА (n=16)		p ₁ между группами
	прирост/регресс, %	p по сравнению с фоном	прирост/регресс, %	p по сравнению с фоном	
Фон	0		0		
<i>Декомпрессия</i>					
1-я мин	50 (19–67)	0,000001	35 (0–99)	0,019	0,047
2-я мин	29 (6–50)	0,0004	50 (0–67)	0,028	0,05
3-я мин	16 (–5–55)	0,005	42 (15–99)	0,035	≥0,05
4-я мин	10 (–11–50)	0,008	42 (0–99)	0,04	≥0,05
5-я мин	17 (–13–54)	0,038	40 (17–99)	>0,05	≥0,05

роста Vas – 35 % против 50 % ($p_1=0,047$). При этом максимальный прирост Vas зарегистрирован в более позднем постокклюзионном периоде (2–4-я мин), $p_1=0,05$; он характеризовался монотонностью изменений и колебался от 40 до 50 % без существенного снижения в течение 5 мин после снятия манжеты.

Таким образом, вазодилататорная реакция у пациентов с ТИА была количественно менее выражена, скоростные показатели кровотока не отличались лабильностью в течение периода наблюдения, как это было зафиксировано у здоровых лиц, что свидетельствует о ригидности сосудистой стенки и связано с нарушением функции эндотелия.

В табл. 4 приведены данные о развитии вазодилататорных реакций микрогемодикуляторного русла кожных покровов кисти у пациентов с ТИА после проведения комплексного лечения с применением ВЛОК.

Как видно из данных табл. 4 и рисунка а, б, после комплексного лечения пациентов с ТИА, включающего ВЛОК, в условиях проведения теста реактивной гиперемии максимальный прирост Vas и Vam зарегистрирован спустя 1 мин после снятия манжеты как и у здоровых лиц. На первых этапах регистрации показателей наблюдали увеличение амплитуды прироста Vas, превышающее аналогичные данные до лечения,

Таблица 3

Динамика Vam в % по отношению к фоновым значениям у здоровых лиц и пациентов с ТИА до лечения при реактивной гиперемии, Me и квартили

Table 3

Vam dynamics in % relative to baseline values in healthy subjects and patients with TIA before treatment with reactive hyperemia, Me and quartile

Показатель. Пробы	Здоровые (n=28)		Пациенты с ТИА (n=16)		p ₁ между группами
	прирост/регресс, %	p по сравнению с фоном	прирост/регресс, %	p по сравнению с фоном	
Фон	0		0		
<i>Декомпрессия</i>					
1-я мин	36 (20–61)	0,000075	55 (–9–108)	0,015	>0,05
2-я мин	27 (17–50)	0,03	58 (–9–88)	0,015	>0,05
3-я мин	17 (16–42)	>0,05	45 (–6–84)	0,001	>0,05
4-я мин	9 (15–37)	>0,05	28 (–23–101)	>0,05	>0,05
5-я мин	11 (38–54)	>0,05	19 (17–116)	0,07	>0,05

Динамика кожного кровотока кисти в условиях проведения окклюзионной пробы по данным высокочастотной УЗДГ у пациентов с ТИА после комплексного лечения с применением ВЛОК

Table 4

Skin blood flow dynamics of the hand in conditions of occlusion test according to the data of high-frequency ultrasound in patients with TIA after complex treatment with the ILIB

Показатель УЗДГ, см/с	До компрессии	После компрессии, мин				
		1	2	3	4	5
Vas (n=17)	0,689 (0,345–1,034)	1,034 (1,03–1,034), p=0,012	1,034 (1,034–1,378), p=0,012	1,378 (1,034–1,378), p=0,012	1,378 (1,034–1,378), p=0,012	1,034 (1,034–1,378), p=0,012
Vam (n=17)	0,417 (0,344–0,691)	0,705 (0,638–0,725), p=0,013	0,656 (0,587–0,8), p=0,013	0,868 (0,542–0,894), p=0,037	0,672 (0,656–0,911), p=0,013	0,559 (0,542–0,938), p=0,037

при этом статистически значимые различия составили $p=0,05$; $0,026$; $0,019$; $0,013$ соответственно 1-й, 2-й, 3-й и 4-й мин после снятия манжеты (рисунок, а).

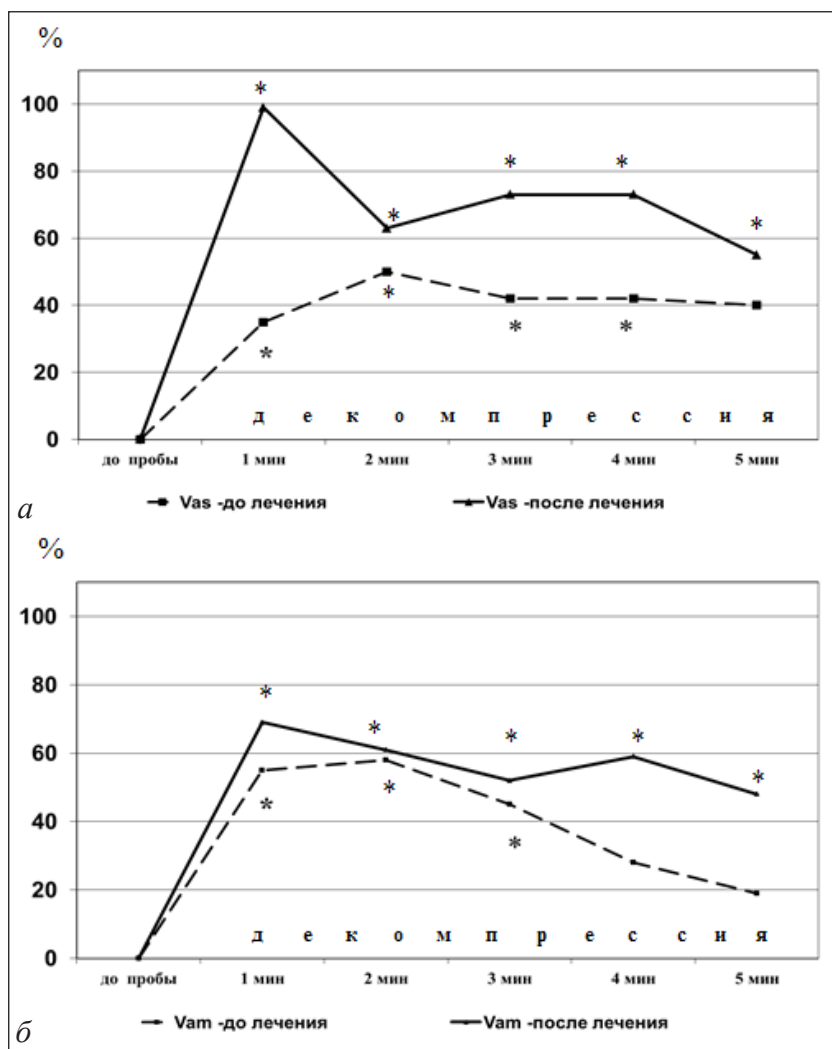
По данным динамики средней систолической скорости кровотока, возрастание Vam зарегистрировано в течение 5 мин наблюдения ($p=0,013–0,037$), что пре-

вышало изменения этого показателя у пациентов с ТИА до лечения, однако различий между группами до и после лечения не установлено (рисунок, б).

При изучении биохимических показателей у пациентов с ТИА до лечения установлено достоверное снижение концентрации пирувата ($p=0,002$), что сопровождалось увеличением соотношения «лактат/пируват» ($p=0,0006$) относительно здоровых лиц. Также показано возрастание концентрации ТБК-активных продуктов на 57 % ($p=0,0018$) на фоне уменьшения активности СОД на 25 % ($p=0,0046$), что свидетельствует о развитии тканевой гипоксии с активацией процессов ПОЛ в структурах головного мозга вследствие острого преходящего нарушения мозгового кровообращения ишемического генеза (табл. 5).

После использования ВЛОК на фоне базисной терапии у пациентов с ТИА установлено статистически значимое увеличение содержания пирувата ($p_1=0,011$) и, соответственно, нормализация соотношения «лактат/пируват» ($p_1=0,02$) относительно исходных данных. Также возросла активность СОД ($p_1=0,035$) и уменьшилось содержание вторичных продуктов ПОЛ, что свидетельствует об антигипоксическом и антиоксидантном действии предложенного комплексного лечения, позволяющего снизить энергетический дефицит в клетках и увеличить активность важнейшего антиоксидантного фермента крови.

По данным высокочастотной УЗДГ, у пациентов с ТИА выявлены функциональные нарушения эндотелия сосудов и тканевой гемодинамики в



Динамика максимальной систолической линейной (а) и средней линейной (б) скоростей кровотока при выполнении теста с реактивной гиперемией у пациентов с ТИА до и после комплексного лечения:

* – различия статистически значимы по сравнению с данными до пробы, принятыми за 0

Dynamics of maximum systolic linear (a) and mean linear (b) blood flow rates during the reactive hyperemia test at patients with TIA before and after complex treatment: * – the differences are statistically significant compared to the data before the sample taken as 0

микроциркуляторном русле, что является одной из причин формирования ишемического очага с развитием энергодифицита в нервной ткани. Вследствие преходящего ишемического поражения определенных структур головного мозга существенно снижается окисление пирувата, что приводит к возрастанию соотношения «лактат/пируват» и указывает на активацию анаэробного гликолиза в клетках головного мозга. У пациентов с ТИА также наблюдается усиление реакций ПОЛ на фоне недостаточности ферментативного звена антиоксидантной защиты, что способствует повреждению клеточных мембран, в том числе и эндотелиоцитов.

В ряде работ развивается концепция, согласно которой, механизм действия низкоинтенсивного лазерного облучения, в частности ВЛОК, основан на фотосенсибилизации эндогенных фотоакцепторов – порфиринов, входящих в состав гемопротеидов (гемоглобина, миоглобина, церулоплазмينا, цитохромов) и металлодержателю ферментов – СОД, пероксидазы, каталазы [1, 9]. В условиях гипоксии в органах и тканях резко возрастает количество эндогенных порфиринов, поглощающих излучение в видимой области спектра. Они являются высокоактивными веществами, влияющими на все метаболические процессы, внутриклеточные сигнальные механизмы, активность синтаз оксида азота (NOS) и гуанилатциклазы. Это, в свою очередь, может приводить к возрастанию продукции различных биологически активных соединений, в том числе оксида азота, улучшающего микроциркуляцию, что обусловило использование НИЛИ в клинической медицине при гипоксических повреждениях головного мозга.

Таким образом, дополнительное назначение ВЛОК к базисной терапии пациентам с ТИА способствует позитивным сдвигам выявленных изменений с улучшением соотношения «лактат/пируват» в крови, а также достоверному повышению активности СОД с нормализацией про-, антиоксидантного состояния крови, что ведет к улучшению функции сосудистого эндотелия с увеличением скоростных характеристик кровотока кожных покровов кисти, развитием своевременных вазодилататорных реакций с преобладанием более ранних максимальных изменений в условиях проведения теста реактивной гиперемии.

Литература / References

1. Витрещак Т. В., Михайлов В. В., Пирадов М. А. и др. Лазерная модификация крови *in vitro* и *in vivo* у пациентов с болезнью Паркинсона // Бюлл. эксперимент. биол. и мед. – 2003. – № 5. – С. 508–511. [Vitreshchak TV, Mikhailov VV, Piradov MA i dr. Lazernaya modifikatsiya krovi *in vitro* i *in vivo* u patsientov s boleznyu Parkinsona. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2003;(5):508-511. (In Russ)].

2. Галиновская Н. В., Стародубцева М. Н., Воронаев Е. В. и др. Прогноз инфаркта мозга у пациентов с преходящими нарушениями мозгового кровообращения в течение года по результатам измерения концентрации нитрит/нитратов ионов в плазме крови // Медицина. – 2016. – № 4 (95). – С. 16–21. [Galinskaya NV, Starodubtseva MN, Voropaev EV i dr. Prognost infarkta mozga u patsientov s prekhodyashchimi narusheniyami mozgovogo krovoobrashcheniya v techenie goda po rezul'tatam izmereniya kontsentratsii nitrit/nitratov ionov v plazme krovi. Medicine. 2016; (95):16-21. (In Russ)].

3. Зозуля Ю. А., Барабай В. А., Сутковой Д. А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. – М.: Медиа Сфера, 2000. [Zozulya, YuA, Barabai VA, Sutkovoi DA. Svobodnoradikal'noe okislenie i antioksidantnaya zashchita pri patologii golovno mozga. Moscow: Media Sfera; 2000. (In Russ)].

4. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. [Kamyshnikov VS. Spravochnik po kliniko-biokhimicheskim issledovaniyam i laboratornoi diagnostike. Moscow: MEDpress-inform; 2004. (In Russ)].

5. Костюк В. А., Потапович А. И. Определение продуктов перекисного окисления липидов с помощью тиобарбитуровой кислоты в анаэробных условиях // Вопр. мед. химии. – 1987. – № 3. – С. 115–118. [Kostyuk VA, Potapovich AI. Opredelenie produktov perekisnogo okisleniya lipidov s pomoshch'yu tiobarbiturovoi kisloty v anaerobnykh usloviyakh. Problems of Medical Chemistry, 1987;(3); 115–118. (In Russ)].

6. Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии. – 1990. – № 2. – С. 88–91. [Kostyuk VA, Potapovich AI, Kovaleva ZhV. Prostoy i chuvstvitel'nyi metod opredeleniya aktivnosti superoksiddismutazy, osnovannyi na reaktzii okisleniya kvartsetina. Problems of Medical Chemistry. 1990;(2):88–91. (In Russ)].

7. Лукьянова Л. Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции // Бюлл. экс-

Таблица 5

Показатели метаболитов углеводного обмена, про-, антиоксидантной системы крови у пациентов с ТИА до и после лечения, Ме и квартили

Table 5

Metabolites of carbohydrate metabolism, pro-, antioxidant system of blood in patients with TIA before and after treatment, Me and quartile

Показатель	Здоровые лица (n=23)	Пациенты с ТИА (n=16)	
		до лечения	после ВЛОК+БТ
Лактат, ммоль/л	1,2 (0,9–2,1)	1,4 (1,3–1,5)	1,3 (1,2–2,0)
Пируват, ммоль/л	0,12 (0,10–0,14)	0,07 (0,06–0,09), p=0,002	0,12 (0,09–0,12), p ₁ =0,011
Лактат/пируват	9,6 (8,0–14,0)	20,0 (17,1–20,1), p=0,0006	13,5 (10,8–13,9), p ₁ =0,02
ТБК-П, мкмоль/л	2,1 (1,8–2,7)	3,3 (2,9–3,5), p=0,0018	3,0 (2,6–3,3)
СОД, Е/мл	106,3 (92,9–117,6)	80,5 (78,3–89,0), p=0,0046	108,3 (97,5–132,3), p ₁ =0,035

Примечание: p – различия статистически значимы по сравнению с данными здоровых лиц; p₁ – по сравнению с данными до и после лечения; n – количество наблюдений.

перимент. биол. – 1997. – Т. 24. – № 9. – С. 244–253. [Luk'yanova LD. Bioenergeticheskaya gipoksiya: ponyatie, mekhanizmy i sposoby korrektsii Bulletin of Experimental Biology. 1997;24(9):244-253. (In Russ).].

8. Лазерная гемотерапия при ишемических цереброваскулярных заболеваниях (экспериментальные и клинические аспекты) / Н. И. Нечипуренко, Ю. И. Степанова, Л. А. Василевская, И. Д. Пашиковская. – Минск: Бизнесофсет, 2010. [Nechipurenko NI, Stepanova YuI., Vasilevskaya LA, Pashkovskaya ID. Lazernaya gemoterapiya pri ishemicheskikh tserebrovaskulyarnykh zabolevaniyakh (eksperimental'nye i klinicheskie aspekty). Minsk: Biznesofset, 2010. (In Russ)].

9. Оксид азота, гемоглобин и лазерное облучение / А. Н. Осипов, Г. Г. Борисенко, К. Д. Казаринов, Ю. А. Владимиров // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 48–52. [Osipov AN., Borisenko GG, Kazarinov KD, Vladimirov YuA. Oksid azota, gemoglobin i lazernoe obluchenie. Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences. 2000;(4):48–52. (In Russ)].

10. Очерки ангионеврологии / под ред. З. А. Суслиной. – М.: Атмосфера, 2005. [Suslina ZA., editor. Ocherki angioneurologii. Moscow: Atmosfera; 2005. (In Russ)].

11. Рыбакова В. Д., Василевская Л. А. Состояние сосудистой реактивности с оценкой вазодилаторного эффекта у пациентов с симптоматической височной эпилепсией по данным спекл-оптического исследования // Актуальные пробл. неврол. и нейрохирургии: сб. науч. тр. – 2010. – № 13. – С. 134–139. [Rybakova VD, Vasilevskaya LA. Sostoyanie sosudistoi reaktivnosti s otsenкой vazodilatatornogo effekta u patsientov s simptomaticheskoi visochnoi epilepsiei po dannym spekl-opticheskogo issledovaniya. Actual problems of neurology and neurosurgery. 2010; (13):134-139. (In Russ)].

12. Температурные и гемодинамические эффекты при проведении окклюзионной пробы на верхних конечностях здоровых испытуемых: синхронность, вазоконстрикция, вазодилатация / А. А. Сагайдачный, А. В. Фомин, А. В. Скрипаль, Д. А. Усанов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – № 16 (4). – С. 27–34. [Sagaidachnyi AA, Fomin AV, Skripal' AV, Usanov DA. Temperaturnye i gemodinamicheskie efekty pri provedenii okklyuzionnoi proby na verkhnikh konechnostyakh zdorovykh ispytuemykh: sinkhronnost', vazokonstriksiya, vazodilatatsiya. Regional blood circulation and microcirculation. 2017;16(4):27-34. (In Russ)].

13. Федина А. И., Румянцева С. А., Пирадов М. А. и др. Эффективность нейрометаболического протектора цитофлавина при инфарктах мозга (многоцентровое рандомизированное исследование) // Вестн. СПб ГМА им. И. И. Мечникова. – 2005. – № 1. – С. 13–20.

[Fedin AI, Rumyantseva SA, Piradov MA. i dr. Effektivnost' neirometabolicheskogo protektora tsitoflavina pri infarktakh mozga (mnogotsentrovoye randomizirovannoye issledovanie). Bulletin of St. Petersburg State Medical Academy. I. I. Mechnikov. 2005;(1):13-20. (In Russ)].

14. Kennedy J, Hill M, Ryckborst K. et al. Fast assessment of stroke and transient ischaemic attack to prevent early recurrence (FASTER): a randomised controlled pilot trial. Lancet Neurology. 2007;6:961-969. doi: 10.1016/s1474-4422(07)70250-8.

15. Hill MD, Coutts SB. Preventing stroke after transient ischemic attack. CMAJ. 2011;183 (10):1127-1128. doi:10.1503/cmaj.110704.

Информация об авторах

Василевская Людмила Александровна – кандидат медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии нервной системы Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии» МЗ Республики Беларусь, e-mail: luda_vass@mail.ru.

Нечипуренко Наталия Ивановна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией клинической патофизиологии нервной системы Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии» МЗ Республики Беларусь, e-mail: prof_nin@mail.ru.

Пашковская Ирина Дмитриевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии нервной системы Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии» МЗ Республики Беларусь, e-mail: irenapass@mail.ru.

Author information

Vasilevskaya Ludmila A. – associate professor, Md, PhD, Leading researcher of the Laboratory of Clinical Pathophysiology of Nervous System of the State Institution «Republican Science and Practice Centre for Neurology and Neurosurgery» of Ministry of Health Care of Belarus Republic, e-mail: luda_vass@mail.ru.

Nechipurenko Nataliya I. – professor, MD, PhD, ScD, head of the Laboratory of Clinical Pathophysiology of the State Institution «Republican Science and Practice Centre for Neurology and Neurosurgery» of Ministry of Health Care of Belarus Republic, e-mail: luda_vass@mail.ru.

Pashkovskaya Irina D. – PhD, Leading researcher of the Laboratory of Clinical Pathophysiology of Nervous System of the State Institution «Republican Science and Practice Centre for Neurology and Neurosurgery» of Ministry of Health Care of Belarus Republic, e-mail: lu-da_vass@mail.ru.

УДК 611.12

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-37-41

МИЛЮКОВ В. Е., ЖАРИКОВА Т. С.

Тип кровоснабжения сердца и суммарная длина венечных артерий у мужчин и женщин во втором периоде зрелого и в пожилом возрасте

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» (Сеченовский университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия
103904, Россия, Москва, ул. Моховая, д. 11, стр. 10
e-mail: dr_zharikova@mail.ru

Статья поступила в редакцию 01.02.18; принята к печати 24.03.18

Резюме

Цель работы – выявление гендерных особенностей и возрастных преобразований длины венечных артерий в норме. Изучена 161 коронароангиограмма мужчин и женщин 36–74 лет без признаков патологических изменений коронарных артерий. Использовались программы «Syngo Fast View», «Adobe Photoshop CS7», «Microsoft Excel», «SPSS». У людей пожилого возраста длина ветвей правой и левой венечных артерий и их общей длины больше, чем у людей второго периода зрелого возраста. В пожилом возрасте наблюдается уменьшение разности длины ветвей русла правой и левой венечных артерий. Тип (вид) кровоснабжения сердца возможно определять, основываясь на оценке коронарного русла, длине венечных артерий и объеме кровоснабжаемых ими тканей.

Ключевые слова: венечные артерии, миокард, тип кровоснабжения сердца

Для цитирования: Милуков В. Е., Жарикова Т. С. Тип кровоснабжения сердца и суммарная длина венечных артерий у мужчин и женщин во втором периоде зрелого и в пожилом возрасте. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(2):39–43. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-37-41

UDC 611.12

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-37-41

MILYUKOV V. Y., ZHARIKOVA T. S.

The type of blood supply to the heart and the total length of coronary arteries in men and women in the second period of mature and elderly age

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «I. M. Sechenov First Moscow State Medical University» (Sechenovskiy University) of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia
103904, Russia, Moscow, Mokhovaya street, 11/10
e-mail: dr_zharikova@mail.ru

Received 01.02.18; accepted 24.03.18.

Summary

The goal of the work is to identify gender peculiarities and age-related changes in the length of the coronary arteries in the norm. 161 coronarangiograms of men and women aged 36–74 years without signs of pathological changes of the coronary arteries were studied. The programs «Syngo Fast View», «Adobe Photoshop CS7», «Microsoft Excel», «SPSS» were used. In elderly people, the length of the branches of the right and left coronary arteries and their total length is greater than in people of the second period of adulthood. In the elderly, there is a decrease in the difference in the length of the branches of the channel of the right and left coronary arteries. The type (type) of blood supply of the heart can be determined, based on the evaluation of the coronary bed: the length of the coronary arteries and the volume of blood supply to them tissues.

Key words: coronary arteries; myocardium; type of blood supply to the heart

For citation: Milyukov V. Y., Zharikova T. S. The type of blood supply to the heart and the total length of coronary arteries in men and women in the second period of mature and elderly age. Regional hemodynamics and microcirculation. 2018;17(2):39–43. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-37-41

Введение

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, наиболее распространенными заболева-

ниями сердца и сосудов являются ишемическая болезнь сердца (ИБС), хроническая сердечная недостаточность и артериальная гипертензия [1, 3, 10]. Во

всем мире в 2012 г. 7,4 млн человек умерли от ИБС [12]. В нашей стране в течение последнего десятилетия 34 % мужчин и 39 % женщин в возрасте 20–65 лет умирают от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [6]. ССЗ стали причиной 56,8 % летальных исходов в России в 2010 г. и 60 % – в 2013 г. [1, 15], а число лиц, впервые признанных инвалидами вследствие сердечно-сосудистой патологии в 2012 г. составило 292,2 тыс. человек [4].

В настоящее время лечение ишемической болезни сердца осуществляется как терапевтическими, так и хирургическими методами. Для определения лечебной тактики пациенту проводят коронароангиографию, являющуюся «золотым стандартом» диагностики поражений венечных артерий [5]. Несмотря на развитие технологий и внедрение новых методов, на наш взгляд, диагностические возможности коронароангиографии используются не в полном объеме.

Организация сосудистого русла является объективным показателем, характеризующим состояние трофики тканей любого органа. Для того, чтобы объективно оценить степень изменения сосудистого русла и трофики миокарда, необходимо определить венечную артерию, имеющую более развитую сеть ветвей, обеспечивающих больший объем тканей миокарда, кровоснабжаемых из этого сосудистого бассейна и, соответственно, играющую наиболее значимую роль в осуществлении кровоснабжения миокарда. По степени поражения этой коронарной артерии возможна объективная оценка выраженности нарушений трофики миокарда в бассейне данного сосуда. При этом как для определения нормы кровоснабжения тканей сердца, так и для градации степени выраженности патологии следует опираться на единые критерии оценки организации сосудистого русла. Однако при анализе современной доступной научной литературы нами было установлено, что у врачей различных специальностей (анатомов, кардиологов-терапевтов и хирургов, лучевых диагностов) и даже внутри одной области медицинских знаний отсутствуют четкие критерии оценки закономерностей и вариантов организации артериального звена кровеносного русла сердца, типов кровоснабжения сердца и функциональной анатомии артериальных сосудов сердца в норме. Соответственно, отсутствуют и критерии возможной градации их изменений при патологии и определении степени риска развития жизнеугрожающих состояний. Также отметим, что с возрастом все органы и системы организма человека претерпевают морфофункциональные изменения [9]. Следовательно, необходимо учитывать и морфометрические возрастные преобразования артериального русла миокарда, так как с возрастом у человека изменяются масса тела и, соответственно, уровень физической и функциональной нагрузки на различные отделы сердца. Это требует и изменения морфофункциональной организации артериальной сети, влекущей за собой изменение гидродинамических условий и объема тканей сердца, кровоснабжаемых из бассейна правой (ПВА) и левой венечных артерий (ЛВА).

Большинство авторов приводят лишь ограниченные сведения о разделении ветвей венечных артерий на группы в зависимости от какого-либо критерия, например, степени визуализации сосуда при коронароангиографии или возможности имплантации стента [2, 13, 14]. Приверженцы различных медицинских школ предлагают разные критерии оценки типа кровоснабжения сердца. Наиболее распространенным является определение типа кровоснабжения сердца по источнику формирования задней межжелудочковой ветви. Данных о суммарной длине ветвей русла ПВА и ЛВА у людей в норме мы в доступной научной литературе не обнаружили.

Разрозненность, а иногда противоречивость и отсутствие данных о морфометрических гемодинамически значимых параметрах организации русла ПВА и ЛВА позволили нам сформулировать **цель** нашего исследования: определить индивидуальные особенности развития сосудистой сети венечных артерий (суммарной длины ветвей их русла) в различных возрастных группах в норме у мужчин и женщин.

Материал и методы исследования

Материалом для исследования послужили архивные записи ангиограмм 161 человека в возрасте от 36 до 74 лет. Всем обследуемым проводилась коронароангиография в ФГБНУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии имени А. Н. Бакулева» (директор – д-р мед. наук, проф., акад. РАН Л. А. Бокерия – зав. каф. сердечно-сосудистой хирургии № 2 Института профессионального образования ПМГМУ им. И. М. Сеченова) в 2012 г., по результатам ангиографического обследования патологических изменений коронарных артерий выявлено не было. Среди обследуемых было 77 женщин (47,9 %) и 84 мужчины (52,1 %). Морфометрия проводилась в одной проекции (левой передней косой для обеих коронарных артерий). Для величин определялись средняя арифметическая, медиана, стандартное квадратичное отклонение, коэффициент вариации, средняя ошибка средней арифметической, коэффициент корреляции Спирмена. Использовали программы «Syngo Fast View», «Adobe Photoshop CS7», статистическую обработку данных проводили при помощи «Microsoft Excel», «SPSS».

Результаты исследования и их обсуждение

Были определены типы кровоснабжения сердца. В литературе выделяют три основных типа кровоснабжения сердца в зависимости от визуально определяемого при селективном контрастировании венечных артерий источника формирования задней межжелудочковой ветви – правовенечный, левовенечный и равномерный. Такое разделение считается удобным для использования в клинической практике рентгенологами и ангиохирургами. В нашем исследовании во всех возрастных группах преобладает правовенечный тип кровоснабжения сердца (табл. 1).

Нами была определена суммарная длина визуализированных ветвей ПВА и ЛВА (табл. 2).

У людей пожилого возраста как средние, так и медианные значения суммарной длины сосудистых вет-

вей русла ПБА (т. е. всех визуализируемых при ангиографии ее ветвей) больше, чем у людей второго периода зрелого возраста. Так, у мужчин пожилого возраста этот показатель на 1,7 % (16,24 мм) больше при сравнении средней арифметической и на 8,4 % (66,57 мм) – при сравнении медиан. У женщин пожилого возраста длина сосудистых ветвей русла ПБА на 4,9 % (44,75 мм) больше, чем у женщин второго периода зрелого возраста, при сравнении средней арифметической и на 14,4 % (113,35 мм) – при сравнении медиан.

У женщин пожилого возраста суммарная длина ветвей русла ПБА на 1 % (9,43 мм) больше при сравнении средней арифметической и на 5,1 % (43,5 мм) больше при сравнении медиан.

У людей пожилого возраста как средние, так и медианные значения суммарной длины ветвей русла ЛБА (т. е. всех визуализируемых при ангиографии ее ветвей) больше, чем у людей второго периода зрелого возраста. Так, у мужчин пожилого возраста этот показатель на 8,7 % (73,59 мм) больше, чем у мужчин второго периода зрелого возраста, при сравнении средней арифметической и на 7,0 % (55,7 мм) – при сравнении медиан. У женщин пожилого возраста длина русла ветвей ЛБА на 18,4 % (156,37 мм) больше, чем у женщин второго периода зрелого возраста, при сравнении средней арифметической и на 14,4 % (112,56 мм) – при сравнении медиан.

Следовательно, адаптация организма к возрастающему уровню физической нагрузки в пожилом возрасте проявляется в виде увеличения длины сосудистого русла ПБА и ЛБА, а степень увеличения этого параметра может служить критерием адекватности и прогностической оценки вероятности развития недостаточности кровоснабжения миокарда с развитием ИБС.

При анализе данных обследованных лиц второго периода зрелого возраста выявлено, что у мужчин и женщин разница в длине ветвей русла ЛБА невелика. Однако у женщин пожилого возраста суммарная длина сосудистых ветвей русла ЛБА на 9,7 % (88,86 мм) больше, чем у мужчин, при сравнении средней арифметической.

У мужчин второго периода зрелого возраста длина ветвей русла ПБА превосходит длину русла ЛБА на 10,3 % (87,42 мм) при сравнении средней арифметической. У мужчин пожилого возраста значения длины сосудистых ветвей русла ПБА превосходят значения длины русла ЛБА на 3,3 % (30,07 мм) при сравнении средней арифметической. У женщин второго периода зрелого возраста длина ветвей русла ПБА превосходит значения длины ветвей русла ЛБА на 7,3 % (62,26 мм) при сравнении средней арифметической. У женщин пожилого

Таблица 1				
Встречаемость различных типов кровоснабжения сердца (n=161)				
Table 1				
The occurrence of various types of blood supply to the heart (n=161)				
Возрастная группа	Тип кровоснабжения сердца			
	правовенечный	левовенечный	равномерный	
Второй период зрелого возраста (мужчины)	31	10	9	
Второй период зрелого возраста (женщины)	26	5	5	
Пожилой возраст (мужчины)	20	11	3	
Пожилой возраст (женщины)	21	13	7	
Всего	n	98	39	24
	%	60,9	24,2	14,9

возраста длина ветвей русла ЛБА превосходит значения длины ветвей русла ПБА на 5,1 % (49,36 мм) при сравнении средней арифметической.

Во втором периоде зрелого возраста, когда все системы организма человека, в том числе и сердечно-сосудистая, достигают своего максимального развития [11], мы выявили значительную разницу в суммарной длине ветвей русла ПБА и ЛБА (табл. 2). Далее, в пожилом возрасте, в связи с увеличением функциональной нагрузки на большой круг кровообращения и, следовательно, на левые отделы сердца, мы наблюдали уменьшение разности длины ветвей русла ПБА и ЛБА. Таким образом, изменения длины русла коронарных артерий обусловлены морфофункциональной взаимосвязью с состоянием всех органов и систем организма человека.

В связи с тем, что у мужчин и женщин второго периода зрелого возраста и мужчин пожилого возраста преобладает длина сосудистых ветвей русла ПБА, мы полагаем, что большая часть сердечной мышцы получает питание из системы русла ПБА. Следовательно, для этих людей наиболее опасными будут атеросклеротические поражения ПБА и ее ветвей.

Таблица 2			
Длина русла ПБА и ЛБА, мм (n=161)*			
Table 2			
The length of the channel right (RCA) and left coronary artery (LCA), мм (n=161)*			
Группа	ПБА	ЛБА	Суммарная длина
Второй период зрелого возраста (мужчины)	932,83±49,54	845,41±44,93	1752,22±88,77
Второй период зрелого возраста (женщины)	913,75±82,71	851,49±67,66	1765,27±143,35
Пожилой возраст (мужчины)	949,07±71,72	919,0±70,27	1853,88±132,73
Пожилой возраст (женщины)	958,50±61,77	1007,86±59,79	1926,50±115,01
* – значение средней арифметической и стандартного квадратичного отклонения.			

У людей пожилого возраста как средние, так и медианные значения суммарной длины ветвей русла ПВА и ЛВА больше, чем у людей второго периода зрелого возраста, что может быть связано с адаптацией организма к повышающейся функциональной нагрузке на миокард. Так, у мужчин пожилого возраста этот показатель на 5,8 % (101,66 мм) больше, чем у мужчин второго периода зрелого возраста, при сравнении средней арифметической и на 0,5 % (7,92 мм) – при сравнении медиан; у женщин пожилого возраста – больше, чем у женщин второго периода зрелого возраста, на 9,1 % (161,23 мм) и 20,3 % (304,36 мм) соответственно. Следовательно, у лиц пожилого возраста протяженность артериальной сети сердца достигает своего максимума и обеспечивает наилучшие условия для кровоснабжения миокарда в условиях его возрастных изменений.

Суммарное значение длины всех ветвей коронарных артерий характеризует уровень развития сосудистой сети. Суммарное значение длины коронарных артерий в пожилом возрасте у женщин превосходит данный показатель у мужчин на 3,9 % при сравнении средней арифметической и на 7,3 % – при сравнении медиан, что объясняет большую распространенность кардиальной патологии в этой возрастной группе у мужчин.

Данных о суммарной длине ветвей русла ПВА и ЛВА у людей в норме мы в доступной научной литературе не обнаружили. Данные, характеризующие длину отдельных элементов сосудистых ветвей русла ПВА и ЛВА, приводились О. Ю. Лежниной и А. А. Коробкевым (2012), однако были использованы как основа для построения схемы, описывающей уровни деления ПВА и ЛВА на ветви [8]. При определении типа кровоснабжения сердца большинство авторов главным критерием считают источник формирования задней межжелудочковой ветви. Поскольку ишемическое поражение чаще локализуется в области верхушки сердца, передней и боковой стенок левого желудочка и передних отделов межжелудочковой перегородки, т. е. в бассейне ветвей ЛВА, которая функционально является более отягощенной, а встречаемость инфаркта миокарда области, кровоснабжаемой задней межжелудочковой артерией, составляет только от 24,4 до 30 % случаев [7, 9], мы считаем, что этот критерий не является как анатомически, так и клинически обоснованным.

Соответственно, при выявлении корреляционной зависимости в последующих исследованиях с большей выборкой наблюдений станет возможным с высокой степенью достоверности определять лечебную тактику и показания как к терапевтическому, так и к хирургическому лечению кардиологических больных, а также прогнозировать риск ишемического поражения сердечной мышцы и осложнений. Предложенный нами критерий определения типа кровоснабжения миокарда по определению сосуда с наибольшей длиной ветвей и, следовательно, наибольшим бассейном кровоснабжаемых тканей является более объективным. Это дает врачам – лучевым диагностам и кардиологам, хирургам и терапевтам – инструмент для объективного определения удельной доли

кровооснабжаемого миокарда, а по степени стеноза данного сосуда – для оценки степени его ишемии, оптимизирует выбор тактики и объема лечения кардиологических больных.

Заключение

Процесс адаптации организма к возрастающему уровню физической нагрузки в пожилом возрасте характеризуется ростом длины русла коронарных артерий, а степень ее увеличения может служить критерием кровоснабжения миокарда у кардиологических больных. У мужчин и женщин второго периода зрелого возраста и мужчин пожилого возраста преобладает длина ветвей русла ПВА, следовательно, для этих людей наиболее опасными будут атеросклеротические поражения ПВА и ее ветвей. Тип (вид) кровоснабжения сердца возможно определять, основываясь на оценке коронарного русла – длине коронарных артерий и объеме кровоснабжаемых ими тканей. Изучение закономерностей гендерных и возрастных изменений параметров, характеризующих артериальное русло сердца в норме в перспективе, позволит на основе законов гидродинамики оценить условия распределения крови по ветвям коронарных артерий, степень их участия в обеспечении перфузии сердечной мышцы, объективно судить о функциональной достаточности кровоснабжения сердечной мышцы, определять тактику лечения пациентов, прогнозировать и профилактировать интраоперационные и послеоперационные осложнения. Полученные данные являются основой для последующей оценки коронарного кровообращения и создания удобных для использования в клинической практике программ и алгоритмов анализа рентгеноанатомических изображений.

Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interests.

Литература / References

1. Бокерия Л. А., Гудкова П. Г. Сердечно-сосудистая хирургия – 2010. Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения. – М.: НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, 2011. – 192 с. [Bokeria LA, Gudkov RG. Cardiovascular surgery – 2010. Disease and congenital anomalies of the circulatory system. Moscow: Bakulev Centr RAMS; 2011. (In Russ)].
2. Бокерия Л. А., Голухова Е. З., Алесян Б. Г. и др. Стентирование коронарных артерий малого диаметра ($\leq 2,5$ мм) // Грудная и сердечно-сосуд. хир. – 2008. – № 4. – С. 22–26. [Bokeria LA, Golukhova EZ, Alekseyan BG et al. Stenting of coronary arteries small diameter (≤ 2.5 mm) Thoracic and cardiovascular surgery. 2008;4:22-26. (In Russ)].
3. Гамджян К. А. Ингибиторы АПФ и блокаторы рецепторов ангиотензина II в лечении сердечно-сосудистых заболеваний // Сеченов. вестн. – 2012. – № 3. – С. 55–60. [Gamdjan KA. ACE Inhibitors and blockers of angiotensin II receptors in the treatment of cardiovascular diseases Sechenovskiy Gazette. 2012;3:55-60. (In Russ)].
4. Здоровоохранение в России – 2013: статист. сб. – М.: Росстат, 2013. – 380 с. [Health care in Russia – 2013. The statistical compilation. Moscow, Rosstat; 2013. (In Russ)].
5. Кардиология: Национальное руководство: краткое изд. / под ред. Ю. Н. Беленкова, П. Г. Оганова. – М.: ГЭО-

TAP-Медиа, 2012. – 848 с. [Cardiology. National guidelines: concise edition / ed. by Yu N Belenkova, R G Oganova. Moscow: GEOTAR-Media; 2012. (In Russ)].

6. Карпов Ю. А., Сорокин Е. В. Стабильная ишемическая болезнь сердца: стратегия и тактика лечения. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Мед. информ. аг-во, 2012. – 272 с. [Karpov YA, Sorokin EV. Stable coronary artery disease: Strategy and tactics of treatment. – 3rd ed. Rev. and extra Moscow: ООО «Publisher «Medical information Agency»; 2012. (In Russ)].

7. Коробкеев А. А., Соколов В. В. Морфометрическая характеристика ветвлений артерий сердца человека // Морфология. – 2000. – Т. 117. – № 1. – С. 75–78. [Korobkeev AA, Sokolov VV. Morphometric characteristics of the branching arteries of the heart of the person Morphology. 2000;117(1):75-78. (In Russ)].

8. Лежнина О. Ю., Коробкеев А. А. Особенности структурно-функциональной организации артериального русла сердца по данным прижизненной коронароангиографии // Мед. вестн. Северного Кавказа. – 2012. – Т. 26. – № 2. – С. 13–15. [Lezhnina OYu, Korobkeev VV. The features of structure-functional organization of the blood rule intact heart according to coronary angiography Medical news of the North Caucasus. 2012;26(2):13-15. (In Russ)].

9. Лежнина О. Ю., Коробкеев А. А., Никифоров А. В. Анализ анатомических особенностей инфаркта миокарда // Морфология. – 2012. – Т. 141. – № 3. – С. 92. [Lezhnina OYu, Korobkeev VV, Nikiforov AV. Analysis of the anatomical features of the Ink of the myocardium Morphology. 2012;141(3):92. (In Russ)].

10. Периоперационная реабилитация больных осложненными формами ишемической болезни сердца / под ред. В. В. Плечева. – Уфа, 2012. – 335 с. [The proportion of rehabilitation patients with complicated form of Islamic heart disease / pod red. VV. Plecev. Ufa; 2012. (In Russ)].

11. Прищепина И. М. Возрастная анатомия и физиология: учеб. пособие. – Минск: Новое знание, 2006. – 416 с. [Prishepa IM. Anatomy and physiology the worst: proc. allowance. – Minsk: New knowledge; 2006. (In Russ)].

12. Сердечно-сосудистые заболевания // Всемирная организация здравоохранения. Информ. бюлл. № 317. – 2015. – янв. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/ru/index.htm> (дата обращения 15.03.2018). [Cardiovascular disease // Ester health organization. Fact sheet №317. 2015, Jan. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/ru/index.htm>. (accessed 15.03.2018)].

13. Camici PG, Crea F. Coronary microvascular dysfunction. N. Engl. Med. 2007;356(8):830–840.

14. Heaps CL, Parker JL. Effects of exercise training on coronary collateralization and control of collateral resistance J. Appl. Physiol. 2011;111:587–598.

15. World Health Organization. Noncommunicable diseases country profiles. 2014:207.

Информация об авторах

Милуков Владимир Ефимович – доктор медицинских наук, профессор кафедры анатомии человека лечебного факультета ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова», e-mail: Milyucov@mail.ru.

Жарикова Татьяна Сергеевна – кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры анатомии человека лечебного факультета ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова», e-mail: dr_zharikova@mail.ru.

Author information

Milyukov Vladimir Y. – MD, PhD, Doctor of Medical Sciences, Professor, I. M. Sechenov First MSMU, Chair of Human Anatomy, e-mail: Milyucov@mail.ru.

Zharikova Tatiana S. – MD, PhD, Candidate of Medical Sciences, Senior Lecturer, I. M. Sechenov First MSMU, Chair of Human Anatomy, e-mail: dr_zharikova@mail.ru.

УДК 616.13.002.2

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-42-48

СТРЕЛЬЦОВА Н. Н., ВАСИЛЬЕВ А. П., БЕССОНОВ И. С.,
КОЛУНИН Г. В.

Изменение микроциркуляторной картины у больных перемежающейся хромотой после эндоваскулярного восстановления магистрального кровотока конечности

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия, Тюменский кардиологический научный центр
634009, Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5
e-mail: sss@cardio.tmn.ru

Статья поступила в редакцию 19.02.18; принята к печати 19.03.18

Резюме

Введение. Большое патогенетическое значение у больных перемежающейся хромотой (ПХ) имеет состояние микроциркуляции (МЦ). Это делает ценным выявление ее особенностей после эндоваскулярных вмешательств на артериях конечности.

Цель – оценить характер изменения МЦ после восстановления магистрального кровотока в конечности у больных ПХ.

Материал и методы. У 37 больных до и через 1 месяц после ангиопластики артерии нижней конечности исследовали МЦ методом лазерной доплеровской флоуметрии.

Результаты. Восстановление магистрального кровотока сопровождалось увеличением нутритивного кровотока на 56,0 %, уменьшением артериоло-веноулярного шунтирования (–30,7 %) и венозного полнокровия (–13,5 %).

Заключение. Восстановление кровотока в конечности у больных ПХ приводит к сбалансированности МЦ-процессов.

Ключевые слова: перемежающаяся хромота, микроциркуляция, эндоваскулярная реваскуляризация

Для цитирования: Стрельцова Н. Н., Васильев А. П., Бессонов И. С., Колунин Г. В. Изменение микроциркуляторной картины у больных перемежающейся хромотой после эндоваскулярного восстановления магистрального кровотока конечности. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(2):44–50. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-42-48

UDC 616.13.002.2

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-42-48

STRELTSOVA N. N., VASILYEV A. P., BESSONOV I. S.,
KOLUNIN G. V.

The microcirculatory changes in patients with intermittent claudication after endovascular restoration of main blood flow to the extremity

Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia
634009, Russia, Tomsk, Kooperativny street, 5
e-mail: sss@cardio.tmn.ru

Received 19.02.18; accepted 19.03.18.

Summary

The functional state of microvascular blood flow is the major pathogenic determinant in patients with intermittent claudication (IC). Revealing features of microcirculation (MC) shifts has been especially valuable after endovascular interventions.

Purpose. To assess the alterations in MC profile after the restoration of main blood flow to affected extremity in patients with IC.

Material and methods. MC was assessed by laser Doppler flowmetry in 37 patients before and 1 month after lower extremity angioplasty.

Results. Restoration of main blood flow was associated with increased nutritive blood flow by 56.0 %, decreased arteriole-venule shunts by 30.7 % and venous congestion by 13.5 %.

Conclusion. Endovascular interventions in patients with IC are associated with recovery of balance in MC processes.

Key words: intermittent claudication, microcirculation, endovascular revascularization of the limb

For citation: Streltsova N. N., Vasilyev A. P., Bessonov I. S., Kolunin G. V. The microcirculatory changes in patients with intermittent claudication after endovascular restoration of main blood flow to the extremity. Regional hemodynamics and microcirculation. 2018;17(2):44–50. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-42-48

Введение

Перемежающаяся хромота (ПХ) – основной синдром атеросклеротического поражения артерий нижних конечностей – является довольно распространенной патологией, составляя около 20 % от всех сердечно-сосудистых заболеваний и встречается в зависимости от возраста у 0,9–7 % лиц [2, 12]. Этот факт, а также очень серьезный прогноз атеросклеротического поражения артерий нижних конечностей делает весьма актуальными раннее выявление и эффективное его лечение. Представляя собой одно из генерализованных проявлений атеросклероза, ПХ очень часто сочетается с поражением других сосудистых регионов, вызывающих тяжелые сосудистые катастрофы, – инфаркт миокарда, инсульт. На этом фоне симптоматике артериальной недостаточности нижних конечностей не всегда придается должное значение. Это является одной из возможных причин того, что на момент обращения к врачу пациент находится на стадии заболевания, требующей эндоваскулярного либо оперативного вмешательства. В ряде случаев восстановление кровотока является единственным способом спасения конечности от высокой ампутации.

В настоящее время существует 2 метода реваскуляризации: открытая операция (шунтирование) и чрескожная баллонная ангиопластика. Исследования последних лет продемонстрировали сходные результаты этих вмешательств [12]. Преимущества баллонной ангиопластики заключаются в том, что она осуществляется через прокол кожи, не требует общего обезболивания, характеризуется низким риском осложнений и позволяет проводить раннюю мобилизацию больного.

В патогенезе ПХ, помимо окклюзии магистральной артерии, определяющее значение имеет состояние терминального сосудистого русла. Многочисленные исследования продемонстрировали при данной патологии выраженные изменения микроциркуляции (МЦ) [1, 3, 5, 13]. В частности, показаны изменения микрососудов спастико-атонического характера с интенсификацией артериоло-венулярного шунтирования крови, ограничением нутритивного кровотока и формированием венозного застоя [3, 5]. Эндоваскулярное восстановление магистрального кровотока, сопровождающееся улучшением клинической картины – увеличением дистанции безболевой ходьбы, ростом лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ), – безусловно, отражается на микроциркуляторной картине. В этой связи оценка характера сдвигов гемодикуляции на уровне терминального сосудистого русла имеет не только теоретическое, но и практическое значение, поскольку позволит рассмотреть возможность использования дополнительных консервативных методов воздействия, помимо традиционных (статины, дезагреганты, пентоксифиллин и др.).

Исходя из изложенного, **целью** исследования явилась оценка характера изменения микроциркуляторной картины после восстановления магистрального кровотока пораженной конечности у больных перемежающейся хромотой.

Материал и методы исследования

В исследование включены 37 больных мужского пола с ангиографически подтвержденным облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей (стеноз магистральной артерии более 80 % или его окклюзия: поражение подвздошно-бедренного сегмента – у 21 пациента, бедренно-подколенного сегмента – у 16), с ПХ IIБ стадии (по А. В. Покровскому) и ЛПИ $\leq 0,85$, без заболеваний крови, бронхо-легочной патологии, сахарного диабета, сложных нарушений ритма и сердечной недостаточностью не выше II функционального класса. В исследование были включены пациенты с классом поражения А и В по классификации TASK II. При проведении эндоваскулярного вмешательства использовали контралатеральный бедренный доступ. В случае стенотического поражения, после проведения сосудистого проводника, выполняли баллонную преддилатацию. Реканализацию окклюзий проводили антеградным методом, с использованием поддерживающих катетеров. При неудовлетворительном результате после проведения преддилатации (остаточный стеноз более 30 %, наличие дессекции артерии) выполняли имплантацию стента с последующей постдилатацией. Во всех случаях был восстановлен магистральный кровоток. В качестве критерия выраженности артериальной недостаточности использовали ЛПИ – объективный, хорошо воспроизводимый, простой, надежный и широко используемый в клинической практике показатель, имеющий также прогностическое значение [4, 14], что выгодно отличает его от традиционно используемого теста – дистанции безболевой ходьбы. Все пациенты получали базовую терапию, включавшую статины, аспирин, а при необходимости – гипотензивные препараты. За 3-е суток до исследования препараты с вазолитическим действием отменялись. На исходном этапе и через 1 месяц после баллонной ангиопластики с последующим стентированием пораженного сегмента артерии исследовали состояние МЦ кожи методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) на аппарате «ЛАКК-М» (НПП «Лазма», Россия). Исследование проводили в соответствии с существующими рекомендациями [6, 7]. Датчик фиксировали на тыльной поверхности стопы пораженной конечности на уровне 2-го пальца. Исследовали показатель микроциркуляции (ПМ; перф. ед.), отражающий средний уровень гемоперфузии в единице объема ткани за единицу времени. Расчет амплитудно-частотного спектра колебаний перфузии осуществлялся методом вейвлет-преобразования. Оценивали амплитудные показатели, отражающие активные, тонусформирующие механизмы контроля микроциркуляции – выраженность эндотелиальной (Аэ), нейрогенной (Ан), миогенной (Ам) функции микрососудов – и пассивные факторы регуляции, дающие представление о выраженности венозного оттока (Ад) и о пульсовом кровотоке (Ас). Общую мощность спектра флуксуций определяли как сумму показателей амплитуд ритмических составляющих: $M = A_{\text{э}}^2 + A_{\text{н}}^2 + A_{\text{м}}^2 + A_{\text{д}}^2 + A_{\text{с}}^2$, а вклад каждого компонента спектра рассчитывали по формуле $A_i/M \cdot 100 \%$. Нейрогенный тонус прекапиллярных резистивных микрососудов определяли по формуле

$HT = SKO \cdot A_{\text{ср}} / A_n \cdot PM$ (ед.),
где SKO – среднее квадратичное отклонение показателя МЦ; $A_{\text{ср}}$ – среднее артериальное давление ($(AD_{\text{систолическое}} - AD_{\text{диастолическое}}) / 3 + AD_{\text{диастолическое}}$); A_n – наибольшее значение амплитуды колебаний перфузии в нейрогенном частотном диапазоне; PM – показатель микроциркуляции. Миогенный тонус метартериол и прекапиллярных сфинктеров определяли как

$MT = SKO \cdot A_{\text{ср}} / A_m \cdot PM$ (ед.),
где A_m – максимальное значение амплитуды колебаний кровотока в миогенном частотном диапазоне. Показатель артериоло-венулярного шунтирования крови вычисляли по формуле

$$P_{\text{Ш}} = MT / HT \text{ (ед.)}.$$

Нутритивный кровоток ($M_{\text{нутр}}$) определялся как отношение PM/ $P_{\text{Ш}}$ (ед.) [7]. В ходе исследования проводили окклюзионную пробу с расчетом резерва капиллярного кровотока (РКК), максимальной тканевой перфузии (PM_{max}) и периода полувосстановления исходного уровня перфузии ($T_{1/2}$). По методике [9] оценивали гемодинамические типы МЦ (ГТМ) с выделением нормоциркуляторного (НГТМ), спастического (СГТМ), гиперемического (ГГТМ) и застойно-статического (ЗГТМ) вариантов.

Полученные результаты исследований обработаны с использованием IBM «SPSS Statistic 21» for Windows. Для анализа распределения переменных применяли критерий Колмогорова–Смирнова. Поскольку распределение почти всех изучаемых показателей было отличным от нормального, для оценки различий показателей до и после исследования использовали критерий Вилкоксона. Полученные данные представ-

лены в виде медианы и интерквартильного размаха, 25–75 процентиля ($Me [Q_1; Q_2]$). Различия считали статистически значимыми при двустороннем уровне значимости $p < 0,05$.

Представленная работа одобрена Этическим комитетом Тюменского кардиологического научного центра и выполнена в соответствии со стандартами Good Clinical Practice и принципами Хельсинской декларации. У всех исследуемых пациентов получено письменное информированное согласие.

Результаты исследования и их обсуждение

На исходном этапе исследования, как было продемонстрировано в ранее полученных результатах [3, 13], МЦ кожи пораженной конечности у больных ПХ характеризовалась закономерными изменениями параметров ЛДФ, свидетельствующими о спастико-атонических сдвигах МС русла и перераспределении кровотока: спазме метартериол и прекапиллярных сфинктеров с ограничением нутритивного кровотока, с одной стороны, и дилатации артериол, увеличении притока крови в прекапиллярный сегмент, раскрытие артериоло-венулярных шунтов, возникновении венозного полнокровия и, как следствие, нарастании нарушений гемореологии, с другой.

После реваскуляризации магистральной артерии у всех пациентов отмечалось прекращение боли в конечности при ходьбе и увеличение ЛПИ с 0,65 [0,54; 0,79] ед. до 0,91 [0,79; 0,98] ед. ($p < 0,001$). Улучшение клинической картины сопровождалось существенными сдвигами показателей микрогемоциркуляции. Несмотря на то, что при повторном исследовании через 1 месяц значения общей тканевой гемоперфузии

Значения ЛПИ и показателей ЛДФ у больных перемежающейся хромотой до и через 1 месяц после восстановления кровотока в магистральной артерии, Me [25; 75]

ABI and Laser Doppler flowmetry parameters in patients with intermittent claudication before and 1 month after the restoration of blood flow in main artery, Me [25; 75]

Показатель	Исходно	Через 1 месяц после эндоваскулярной реваскуляризации	p
ЛПИ, ед.	0,65 [0,54; 0,79]	0,91 [0,79; 0,98]	0,001
PM, перф. ед.	6,9 [5,5; 9,3]	6,9 [5,6; 9,5]	0,74
Аэ, перф. ед.	0,35 [0,22; 0,64]	0,35 [0,27; 0,45]	0,091
Ан, перф. ед.	0,49 [0,33; 0,71]	0,32 [0,20; 0,34]	0,004
Ам, перф. ед.	0,24 [0,13; 0,4]	0,24 [0,10; 0,35]	0,17
Ад, перф. ед.	0,15 [0,09; 0,25]	0,13 [0,07; 0,23]	0,05
Ас, перф. ед.	0,11 [0,08; 0,19]	0,16 [0,11; 0,20]	0,037
MT, ед.	66,1 [46,9; 77,5]	36,1 [25,2; 52,3]	0,017
HT, ед.	24,1 [12,6; 28,9]	34,2 [23,6; 53,4]	0,046
$P_{\text{Ш}}$, ед.	2,25 [1,30; 3,18]	1,56 [1,05; 1,80]	0,028
$M_{\text{нутр}}$, ед.	3,27 [2,32; 5,54]	5,11 [3,35; 8,12]	0,021
РКК, %	145,6 [120,1; 190,8]	217,3 [133,0; 267,0]	0,017
PM_{max} , перф. ед.	10,5 [7,4; 16,5]	13,9 [9,6; 17,3]	0,023
$T_{1/2}$, ед.	5,6 [2,8; 13,2]	2,95 [1,7; 6,4]	0,05

Примечание: Me [25; 75] – медиана (25–75-й процентиля); p – уровень значимости; Аэ, Ан, Ам, Ад, Ас – амплитудные показатели в различных частотных диапазонах; ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия; ЛПИ – лодыжечно-плечевой индекс; $M_{\text{нутр}}$ – величина нутритивного кровотока; HT, MT – нейрогенный и миогенный тонус; PM – показатель микроциркуляции; PM_{max} – максимальная тканевая перфузия; $P_{\text{Ш}}$ – показатель шунтирования; РКК – резерв капиллярного кровотока; $T_{1/2}$ – период полувосстановления исходного уровня перфузии.

(ПМ), как показано в таблице, не претерпели изменений (6,9 [5,5; 9,3] и 6,9 [5,6; 9,5] перф. ед.), в структуре МЦ выявлены значительные преобразования. Прежде всего, необходимо отметить статистически значимое снижение амплитуды колебаний кровотока в нейрогенном диапазоне (Ан) с 0,49 [0,33; 0,71] до 0,32 [0,20; 0,34] перф. ед. (на 59,4 %), свидетельствующее об активации симпатических вазомоторных волокон, увеличении тонуса артериол и ограничении по ним кровотока. Представленные результаты хорошо согласуются с ростом показателя нейрогенного тонуса с 24,1 [12,6; 28,9] до 34,2 [23,6; 53,4] ед. ($p=0,046$). Исходная дилатация артериол – так называемая паралимпическая гиперемия, по нашему мнению [3], может быть связана с ишемической нейропатией, десимпатизацией артериальной стенки и ограничением констрикторного контроля сосудистого тонуса. Восстановление кровотока в конечности и ликвидация тканевой ишемии ведут к восстановлению адекватной нейрогенной регуляции функции микрососудистого русла. Это находит подтверждение в изменении показателя, отражающего рост реактивности сосудистой стенки в результате активизации симпатической иннервации, – сокращение периода полувосстановления кровотока после окклюзионной пробы ($T_{1/2}$) на 47,3 % ($p=0,05$). Полученные данные указывают на обратимость ишемических патофизиологических процессов на этапе проведения реваскуляризации.

Известно, что ишемия ткани, вызванная окклюзией приводящей артерии, сопровождается снижением давления в микрососудах, вызывает их спазм, замедление линейной и объемной скоростей кровотока в капиллярах. Это обуславливает уменьшение плотности функционирующих капилляров [11]. Данную картину функциональной перестройки микрососудистого русла мы наблюдаем у больных ПХ на исходном этапе исследования (таблица).

Восстановление магистрального кровотока в конечности приводит к снижению тонуса метартериол и прекапилляров, о чем свидетельствует уменьшение показателя МТ на 36,4 % ($p=0,017$). Кроме того, ангиопластика пораженной артерии сопровождается ростом пульсового кровенаполнения микрососудистого русла, которое отражается увеличением амплитуды флаксаций в пульсовом частотном диапазоне с 0,11 [0,08; 0,19] до 0,16 [0,11; 0,20] перф. ед. (+45,4 %;

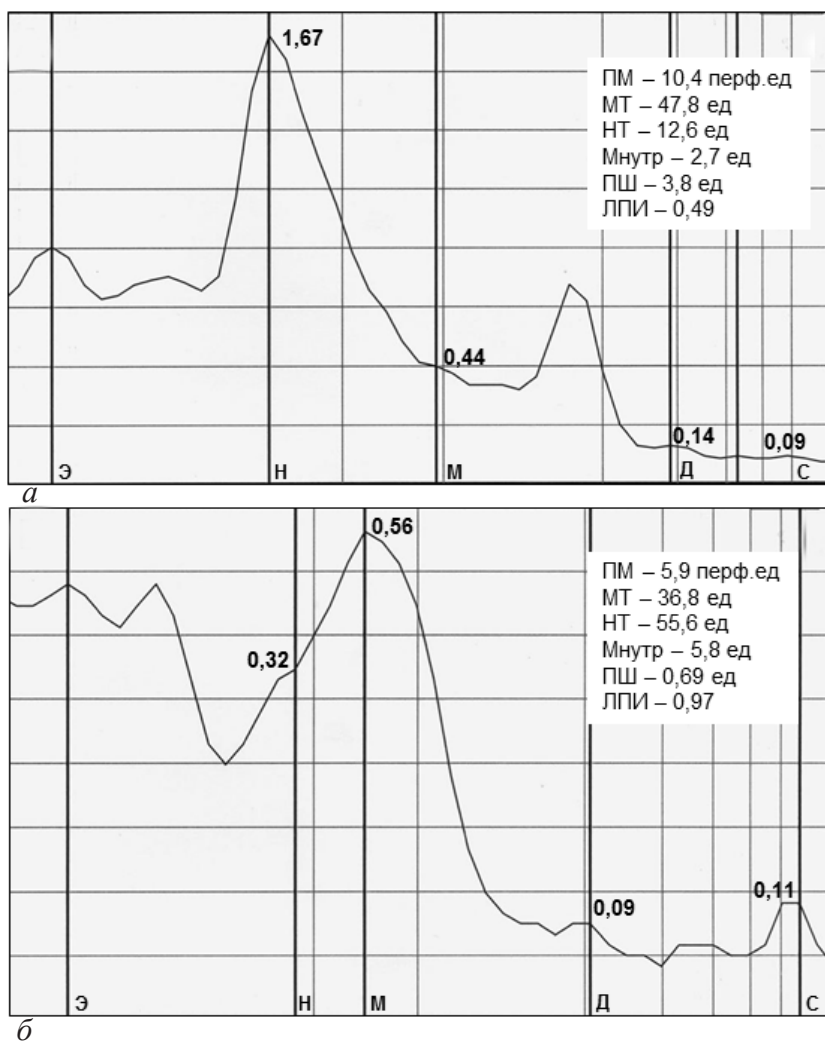


Рис. 1. Примеры ЛДФ-грамм больного перемежающейся хромотой на исходном этапе исследования (а) и после баллонной ангиопластики бедренной артерии (б) (вейвлет-преобразование). Показатели амплитуд колебаний кровотока в эндотелиальном (Э), нейрогенном (Н), мио-генном (М), дыхательном (Д) и пульсовом (С) частотных диапазонах представлены в перф. ед.: ЛПИ – лодыжечно-плечевой индекс; М_{нутр} – нутритивный кровоток; МТ – миогенный тонус; НТ – нейрогенный тонус; ПМ – показатель общей перфузии; ПШ – показатель шунтирования

Fig. 1. Example of Laser Doppler flowmetry in a patient with intermittent claudication at baseline (a) and after percutaneous transluminal angioplasty in femoral artery (b) (wavelet transform). Amplitudes of blood flow oscillations in endothelial (E), neurogenic (N), myogenic (M), respiratory (R) and pulse (C) frequency ranges measured in perfusion units. ABI – ankle-brachial index; NBF – nutritive blood flow; MT – myogenic tone; NT – neurogenic tone; TP – total perfusion rate; ShV – shunt values

$p=0,037$). Следствием выявленных изменений в регуляции микрогемодикуляции является рост капиллярного кровотока ($M_{\text{нутр}}$) с 3,27 [2,32; 5,54] до 5,11 [3,35; 8,12] ед. ($p=0,021$) и ограничение шунтового артериоло-венулярного сброса крови (ПШ) с 2,25 [1,30; 3,18] до 1,29 [1,05; 1,80] ед. ($p=0,028$). Последнее, в свою очередь, создает условия для уменьшения венозного полнокровия, представление о котором дает снижение амплитуды осцилляций в респираторном частотном диапазоне с 0,15 [0,09; 0,25] до 0,13 [0,07; 0,23] перф. ед. ($p=0,05$). Физиологическое значение полученных сдвигов заключается в том, что, как известно, ослабление венозного застоя и увеличение скорости кровотока оказывают благоприятное

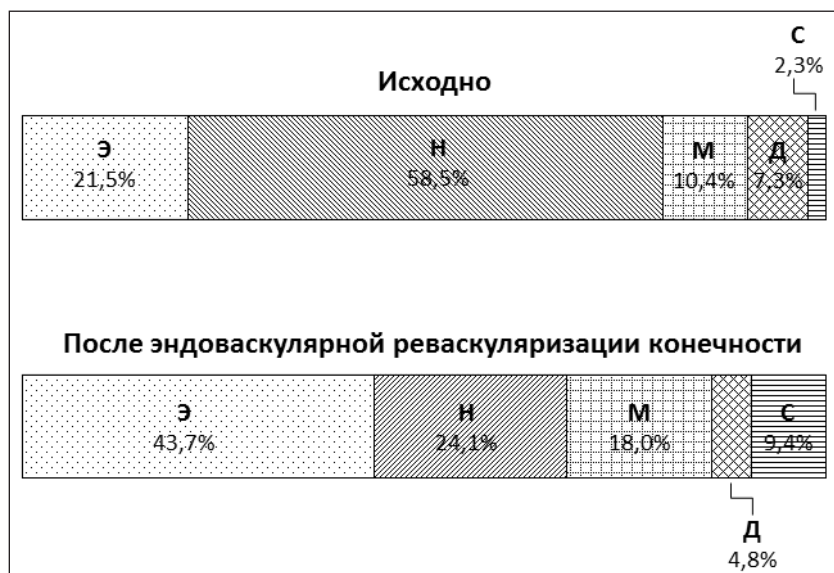


Рис. 2. Вклад различных механизмов контроля МЦ у больных перемежающейся хромотой на исходном этапе исследования и после восстановления кровотока в конечности: Э – эндотелиальный; Н – нейрогенный; М – миогенный; Д – дыхательный; С – пульсовой фактор контроля микрокровотока

Fig. 2. Parameters of various MC control mechanisms in patients with IC at baseline and after the restoration of blood flow to the extremity: Э – endothelial; Н – neurogenic; М – myogenic; Д – respiratory; С – pulse factors of micro-blood flow regulation

влияние на состояние реологических свойств крови [2, 10, 15].

Через 1 месяц после восстановления магистрального кровотока в нижней конечности наблюдается существенный прирост показателя РКК, составивший 217,3 [133,0; 267,0] против 145,6 [120,1; 190,8] % на исходном этапе исследования ($p=0,017$), и показателя $ПМ_{\max}$ с 10,5 [7,4; 16,5] до 13,9 [9,6; 17,3] перф. ед. ($p=0,023$). В многочисленных исследованиях установлено, что увеличение показателей постокклюзионной гиперемии обусловлено ростом числа функционирующих капилляров, уменьшением застоя в веноулярном звене микрососудистого русла, восстановлением способности эндотелия реагировать на напряжение сдвига [7, 9, 16].

Полученные данные хорошо иллюстрируют показанные на рис. 1 амплитудно-частотные вейвлет-спектры осцилляций микрокровотока больного К., 63 г, с ПХ ИБ ст. до (рис.1, а) и после (рис.1, б) успешной эндоваскулярной реваскуляризации стенозированной бедренной артерии. На исходном этапе доминирующая роль в обеспечении тканевой гемоперфузии принадлежит нейрогенному фактору ($A_n = 1,67$ перф. ед.). Отмечается сравнительно низкий показатель пульсового кровенаполнения ($A_c = 0,09$ перф. ед.). При этом выявляется снижение продуктивности гемоциркуляции – сброс крови по артериоло-веноулярным шунтам ($ПШ = 3,8$ ед.) на фоне уменьшения НТ (12,6 ед.) и повышенного МТ (47,8 ед.). Полученные данные вполне логично обосновывают факт ограничения капиллярного кровотока ($M_{\text{нупр}} = 2,7$ ед.). Через 1 месяц после восстановления магистрального кровотока в конечности МЦ пре-

терпевает существенные изменения. Преобладающей становится амплитуда колебаний кровотока в миогенном диапазоне, указывающая на снижение тонуса метартериол и прекапиллярных сфинктеров ($A_m = 0,56$ перф. ед.). Это согласуется со снижением показателя МТ (36,8 ед.) на 23 % и ростом показателя $M_{\text{нупр}}$ (5,8 ед.) на 114,8 %, свидетельствующего об увеличении объемного капиллярного кровотока. Повышение при этом НТ (55,6 ед.) на 34,0 % и ограничение артериолярного кровотока ($A_n = 0,32$ перф. ед.) сопровождается уменьшением артериоло-веноулярного шунтирования крови ($ПШ = 0,69$ ед.) и венозного полнокровия (уменьшением Ад на 11,1 %). Представленная модификация параметров ЛДФ указывает на оптимизацию микрогемоциркуляции и сопровождается существенным улучшением клинической картины, увеличением переносимости физической нагрузки и ростом значений ЛПИ с 0,49 до 0,97.

Безусловный интерес представляет анализ вклада отдельных ритмических составляющих в общую мощность спектра флэксмоций (рис. 2). У боль-

ных ПХ на исходном этапе исследования вклад в спектр активных факторов представлен в основном ритмическими составляющими в нейрогенном (58,5 %) частотном диапазоне; среди пассивных механизмов контроля кровотока преобладали колебания в респираторном диапазоне (7,3 %), что подтверждает факт артериолярной гиперемии и венозного полнокровия, доминирующих в МЦ-картине. Спустя 1 месяц после реваскуляризации конечности основной вклад в спектре активных факторов МЦ представлен флэксмоциями в эндотелиальном частотном диапазоне, который возрос с 21,5 до 43,7 %; участие миогенных механизмов контроля микрокровотока составило 18,0 против 10,4 % на исходном этапе исследования. Пассивные факторы гемоциркуляции характеризовались ростом доли пульсового кровенаполнения (9,4 против 2,3 %) и снижением участия дыхательных механизмов с 7,3 до 4,8 %. Таким образом, после успешного восстановления магистрального кровотока в конечности наблюдалось увеличение на уровне микрососудистого русла роли эндотелиальных и миогенных механизмов контроля МЦ, в значительной мере определяющих капиллярный кровоток.

Общие представления о характере сдвигов микрососудистой гемоциркуляции дает анализ изменения гемодинамических типов МЦ (ГТМ) под влиянием эндоваскулярной терапии больных ПХ. Как показано на рис. 3, через 1 месяц наблюдалось уменьшение числа пациентов с наиболее прогностически неблагоприятным – застойно-стазическим – ГТМ с 24,3 до 10,9 %; реже встречался гиперемический тип (у 29,7 против 40,6 % первоначально). В то же время возросло число лиц с нормоциркуляторным ГТМ с 16,2

до 29,7 %. Несмотря на некоторую условность представленной классификации, в целом можно говорить о позитивных гемодинамических преобразованиях микроциркуляции.

Заключение

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о выраженных нарушениях процессов МЦ у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей, отличающихся констрикцией прекапилляров, снижением капиллярного кровотока, артериолоарной гиперемией, интенсификацией артериоло-венулярного шунтирования крови и венозного полнокровия. Восстановление магистрального кровотока в конечности, т. е. устранение основной причины тканевой ишемии, создает условия для нормализации функционирования микрососудистого русла. Прежде всего, это находит отражение в позитивных сдвигах наиболее важных патофизиологических процессов.

Во-первых, улучшение магистрального кровотока приводит к снижению миогенного констрикторного влияния на метаартериолы и прекапиллярные сфинктеры и, как следствие, увеличению плотности функционирующих капилляров, капиллярного кровотока и резервного потенциала микрососудистого русла. Это обеспечивает адекватный метаболическим запросам капиллярнотрофический эффект. Во-вторых, снижение тканевой ишемии в результате восстановления капиллярного кровотока уменьшает проявления ишемической нейропатии и тем самым приводит к восстановлению адекватного констрикторного нейрогенного контроля тонуса артериол, снижению так называемой паралитической гиперемии, ограничению артериоло-венулярного шунтирования крови и венозного полнокровия. Ликвидация венозного застоя и активизация венозного оттока сопровождаются улучшением реологических свойств крови.

Таким образом, успешное эндоваскулярное реконструктивное вмешательство у больных ПХ сопровождается комплексом взаимосвязанных и взаимообусловленных сдвигов, обеспечивающих оптимизацию регуляции МС-русла, что, безусловно, является основополагающим фактором улучшения клинической картины.

Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interests.

Литература / References

1. Азизов Г. А., Дуванский В. А., Гагарин Е. Н. и др. Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке микроциркуляции у больных облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей // Лазер. мед. – 2011. – Т. 15. – № 2. – С. 115. [Azizov GA, Duvanskiy VA, Gagarin EN et al. Laser Doppler flowmetry for evaluation of microcirculation in patients with obliterating atherosclerosis of the lower extremities. *Laser Medicine*. 2011;15(2):15. (In Russ)].
2. Болезни сердца и сосудов: рук-во Европ. об-ва кардиол. / под ред. Джона Кэма А., Томаса Ф. Люшера, Патрика В. Серруиса, Е. В. Шляхто. – М.: Гозетар, 2011. [John Camm A, Thomas F Luscher, Patrick W Serruys, Lane, Shljahto

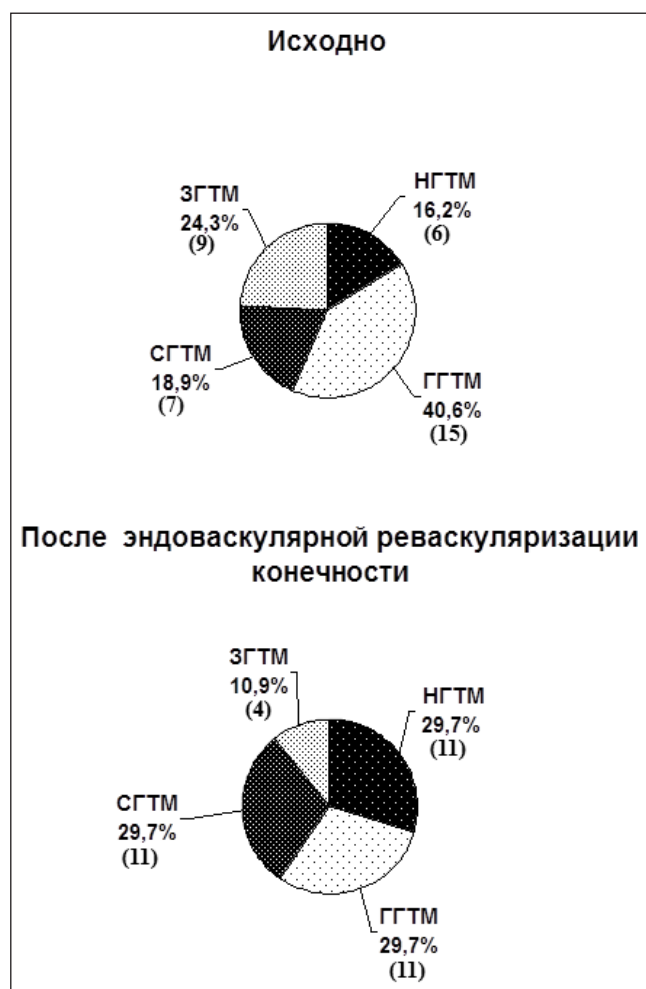


Рис. 3. Частота встречаемости различных гемодинамических типов микроциркуляции у больных перемежающейся хромотой на исходном этапе исследования и после эндоваскулярной реваскуляризации конечности: НГТМ – нормоциркуляторный; ГГТМ – гиперемический; ЗГТМ – застойно-стазический; СГТМ – спастические гемодинамические типы микроциркуляции

Fig. 3. The frequency of occurrence of various hemodynamic microcirculation types in patients with IC at baseline and after endovascular revascularization of the limb: НГТМ – normal circulation; ГГТМ – hyperemic; ЗГТМ – congestive type; СГТМ – spastic hemodynamic types of microcirculation.

EV, editors. *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine*. Moscow: Gofetar; 2011. (In Russ)].

3. Васильев А. П., Стрельцова Н. Н., Саламова Л. А. Функциональное состояние микрогемоциркуляции кожи у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей по данным лазерной доплеровской // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16. – № 4. – С. 35–41. doi: 10.24884/1682-6655-2017-16-4-35-41. [Vasiliev AP, Streltsova NN, Salamova LA. Functionality of skin microhemocirculation in patients with obliterating atherosclerosis of lower extremity arteries as per laser doppler flowmetry. *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2017;16(4):35-41. (In Russ)].

4. Клинические рекомендации по ведению пациентов с сосудистой артериальной патологией (Российский согласительный документ). М.: НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. – 423 с. [Clinical recommendations for the management of patients with vascular arterial pathology (Russian conciliation document). Moscow: NCCVS, 2010. 423 p. (In Russ)].

5. Козлов В. И. Капилляроскопия в клинической практике. – М.: Практ. мед., 2015. [Kozlov VI. Capillaroscopy in clinical practice. Moscow: Practical medicine; 2015. (In Russ)].
6. Козлов В. И., Дуванский В. А., Азизов Г. А. и др. Лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) и оптическая тканевая оксиметрия (ОТО) в оценке состояния и расстройств микроциркуляции крови: метод. реком.: реком. ФМБА России. – М., 2014. [Kozlov VI, Duvanskij VA, Azizov GA et al. Laser Doppler flowmetry and optical tissue oximetry (OTO) in assessment of microcirculation and disorders. Methodical recommendations. Guidelines of Federal Medical and Biological Agency of Russia. Moscow, 2014. (In Russ)].
7. Крупаткин А. И., Сидоров В. В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность: рук-во для врачей. – М.: Либроком, 2013. [Krupatkin AI, Sidorov VV. Functional diagnostics of mikrotsirkuljatorno-tissue systems: Fluctuations, information, nonlinearity. Guide for Physicians. Moscow: Librokom, 2013. (In Russ)].
8. Левин Г. Я., Кудрицкий С. Ю., Изумрудов М. Р. Корреляция изменений гемореологии и микроциркуляции при синдроме диабетической стопы // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2011. – Т. 39. – № 3. – С. 44–48. [Levin GY, Kudritsky SJ, Izumrudov MR. Correlation changes of hemorheology and microcirculation in diabetic foot. Regional hemodynamics and microcirculation. 2011;39(3):44-48. (In Russ)].
9. Маколкин В. И. Микроциркуляция в кардиологии. – М.: Визарт, 2004. [Makolkin VI. Microcirculation in cardiology. Moscow: Vizart; 2004. (In Russ)].
10. Муравьев А. В., Михайлов П. В., Тихомирова И. А. Микроциркуляция и гемореология: точки взаимодействия // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16. – № 2. – С. 90–100. [Muravyov AV, Mikhailov PV, Tikhomirova IA. Microcirculation and Hemorheology: points of interaction. Regional hemodynamics and microcirculation. 2017;16(2):90-100. (In Russ)].
11. Мchedlishvili Г. И. Микроциркуляция. Общие закономерности и нарушения. – Л.: Наука, 1989. [Mchedlishvili GI. Microcirculation. General regularities and irregularities. Leningrad: Nauka; 1989. (In Russ)].
12. Национальные рекомендации по ведению пациентов с патологией артерий нижних конечностей // Ангиол. и сосуд. хир. – 2013. – № 2 (Прил.). – С. 1–67. [National guidelines for the management of patients with diseases of the arteries of the lower limbs. Angiologi and vascular surgery. 2013;(2 supp):1-67. (In Russ)].
13. Стрельцова Н. Н., Васильев А. П., Шипицына Н. В. и др. Лазерная доплеровская флоуметрия в выявлении особенностей тканевого микрокровотока у больных с различной выраженностью перемежающейся хромоты // Лазер. мед. – 2017. – Т. 21. – № 4. – С. 23–28. [Streltsova NN, Vasilev AP, Shipitsyna NV et al. Laser doppler flowmetry in revealing features of peripheral blood flow in patients with

different intensity of intermittent claudication. *Laser Medicine*. 2017;1(4):23-28. (In Russ)].

14. Diehm N, Pattynama PM, Jaff MR et al. *Clinical Endpoints in Peripheral Endovascular Revascularization Trials: a Case for Standardized Definitions*. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2008;36:409-419. doi: 10.1016/j.ejvs.2008.06.020.

15. Hamlin SK, Benedik PS. *Basic Concepts of Hemorheology in Microvascular Hemodynamics*. *Crit Care Nurs Clin North Am*. 2014;26(3):337-344. doi: 10.1016/j.ccell.2014.04.005.

16. Lorenzo S, Minson CT. *Human cutaneous reactive hyperaemia: role of BKCa channels and sensory nerves*. *J Physiol*. 2007;585(1):295-303. doi: 10.1113/jphysiol.2007.143867.

Информация об авторах

Стрельцова Нина Николаевна – научный сотрудник отделения артериальной гипертонии и коронарной недостаточности научного отдела клинической кардиологии Тюменского кардиологического научного центра ТНИМЦ РАН, e-mail: sss@cardio.tmn.ru.

Васильев Александр Петрович – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отделения артериальной гипертонии и коронарной недостаточности научного отдела клинической кардиологии Тюменского кардиологического научного центра ТНИМЦ РАН, e-mail: sss@cardio.tmn.ru.

Бессонов Иван Сергеевич – кандидат медицинских наук, врач по рентгенэндоваскулярным диагностике и лечению отделения рентгенохирургических методов диагностики и лечения № 1 Тюменского кардиологического научного центра ТНИМЦ РАН, e-mail: bessonov@cardio.tmn.ru.

Колунин Григорий Владимирович – кандидат медицинских наук, врач по рентгенэндоваскулярным диагностике и лечению отделения рентгенохирургических методов диагностики и лечения № 1 Тюменского кардиологического научного центра ТНИМЦ РАН, e-mail: kolunin@cardio.tmn.ru.

Author information

Streltsova Nina N. – scientific researcher, Department of Arterial Hypertension and Coronary Insufficiency of Scientific Division of Clinical Cardiology, Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences Tomsk, e-mail: sss@cardio.tmn.ru.

Vasilyev Alexander P. – MD, PhD, Scientific Head of Arterial Hypertension and Coronary Insufficiency Department of Scientific Division of Clinical Cardiology, Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences Tomsk, e-mail: sss@cardio.tmn.ru.

Bessonov Ivan S. – MD, PhD, interventional cardiologist, Department of X-ray and Surgery Methods of Diagnostics and Treatment № 1, Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences Tomsk, e-mail: bessonov@cardio.tmn.ru.

Kolunin Grigoriy V. – MD, PhD, Head of Department of X-ray and Surgery Methods of Diagnostics and Treatment № 2, interventional cardiologist, Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences Tomsk, e-mail: kolunin@cardio.tmn.ru.

УДК 612.15

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-49-56

СКЕДИНА М. А., СОЛОВЬЁВА З. О., КОВАЛЁВА А. А.,
ИЛЬИН В. К.

Исследование тканей пародонта при моделировании условий микрогравитации

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН», Москва, Россия
123007, Россия, Москва, Хорошевское шоссе, д. 76 А
e-mail: skedina@imbp.ru

Статья поступила в редакцию 01.02.18; принята к печати 15.03.18

Реферат

Проводилась комплексная оценка состояния тканей пародонта, включающая микроциркуляторные, микробиологические и иммунологические исследования в условиях, моделирующих состояние микрогравитации. В условиях 5-суточной «сухой» иммерсии у 8 мужчин-добровольцев измеряли скорость кровотока в микроциркуляторном русле пародонта, определяли уровень иммуноглобулинов в ротовой жидкости, исследовали состояние микробиоценоза пародонта. На 5-е сутки иммерсии и на 7-е сутки после иммерсии отмечали снижение скорости кровотока в тканях пародонта в нижней и достоверно ($p \leq 0,05$) в верхней челюсти. Показано носительство пяти основных пародонтопатогенных видов микроорганизмов в ходе эксперимента. При этом отмечена тенденция роста sIgA, что, вероятно, можно связать с появлением пародонтопатогенной микрофлоры в ротовой полости. Комплексное исследование показало предрасположенность тканей пародонта обследуемых в условиях иммерсии к развитию воспалительных заболеваний и снижение барьерных функций пародонта.

Ключевые слова: пародонт, микроциркуляция, микрофлора, иммунная система, ультразвуковое исследование, микрогравитация

Для цитирования: Скедина М. А., Соловьёва З. О., Ковалёва А. А., Ильин В. К. Исследование тканей пародонта при моделировании условий микрогравитации. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(2):51–58. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-49-56

UDC 612.15

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-49-56

SKEDINA M. A., SOLOV'YEV Z. O., KOVALEVA A. A.,
ILYIN V. K.

Examination of periodontal tissue in modeling microgravity conditions

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia,
123007, Russia, Moscow, Horoshevskoe street, 76 A
e-mail: skedina@imbp.ru

Received 01.02.18; accepted 15.03.18.

Summary

A complex assessment of the condition of periodontal tissues was carried out, including microcirculatory, microbiological and immunological studies in conditions simulating microgravity. Under conditions of a 5-day «dry» immersion, 8 male volunteers were subjected to blood flow velocity measuring in microcirculatory bed of periodontal disease, measuring of immunoglobulins level in the oral fluid, and investigations of periodontal microflora. On the 5th day of immersion and on 7-th day after immersion, there was a decrease in the blood flow velocity in the periodontal tissues in mandible ($p \leq 0.05$) in maxilla. Five main parodontopathogenic microorganisms predominated after experiment. At the same time, the growth trend of sIgA was noted, which, probably, can be associated with the appearance of parodontopathogenic microflora in the oral cavity. A comprehensive study showed a predisposition of periodontal tissues in conditions of immersion to inflammatory diseases and a decrease of periodontal disease barrier functions.

Key words: periodontium, microcirculation, microflora, immune system, ultrasound, microgravity

For citation: Skedina M. A., Solov'eva Z. O., Kovaleva A. A., Ilyin V. K. Examination of periodontal tissue in modeling microgravity conditions. Regional hemodynamics and microcirculation. 2018;17(2):51–58. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-49-56

Введение

Воспалительные заболевания пародонта – это одна из важнейших проблем современной стоматологии. Население развитых стран в возрасте старше 35 лет в 50 % имеет локализованный гингивит и в 30 % – локализованный пародонтит [20]. Основная роль в патогенезе развития заболеваний отводится дисфункции системы микроциркуляции тканей пародонта, иммунной системе, неврогенной составляющей и действию патогенной микрофлоры [5]. Система микроциркуляции (МЦР) – это основное звено, обеспечивающее гомеостаз в органах и тканях, и она является наиболее чувствительным индикатором, реагирующим на патологические изменения еще до появления клинических симптомов воспаления в пародонте. Следует отметить, что система МЦР ротовой полости остается малоизученной [10], в связи с этим исследование кровотока в тканях пародонта в условиях, моделирующих космический полет (КП), является актуальной.

Пародонт – это комплекс тканей, окружающих зуб, составляющих единое целое, имеющих генетическую и функциональную общность. В состав пародонта входят десна, костная ткань альвеолы (вместе с надкостницей), периодонт, зуб (цемент, дентин корня зуба, пульпа). Выделяют три основные зоны десны – десневой край, прикрепленная десна, зона переходной складки. В первых двух зонах располагаются только капиллярные петли, а зона переходной складки представлена всеми звеньями системы МЦР, поэтому местом исследования микроциркуляторного кровотока в пародонте является граница между прикрепленной десной и переходной складкой, так называемая десневая борозда [4, 5].

Ткани пародонта снабжаются артериальной кровью из бассейна наружной сонной артерии, ее ветвью – челюстной артерией. Интенсивность кровотока в десне составляет 70 % интенсивности кровотока всех тканей пародонта. Исследованиями показано, что десна нижней челюсти более васкуляризирована, чем верхней [1, 15, 16].

В области десневой борозды сосуды не образуют капиллярных петель, а располагаются плоским слоем, являясь посткапиллярными венулами, стенки которых имеют повышенную проницаемость, через них идет трансудация плазмы крови и ее превращение в десневую жидкость. Десневая жидкость содержит вещества, обеспечивающие местную иммунную защиту слизистой оболочки полости рта. Местный иммунитет полости рта представлен сложной многокомпонентной системой, которая включает специфические и неспецифические компоненты, гуморальные и клеточные факторы, обеспечивающие защиту тканей полости рта и пародонта от патогенной микрофлоры. Неспецифические факторы представляют собой биологические белки слюны, комплемент, микрофлору полости рта, местные фагоцитирующие клетки и т. д.; специфические факторы – иммуноглобулины (IgA, IgM, IgG), попадающие из сыворотки крови путем пассивной диффузии через межклеточные пространства десневой борозды и через клетки эпителия. Основную роль играет IgA. Секреторный компонент

(s) IgA синтезируется эпителиальными клетками выводных протоков слюнных желез, он способен специфически связываться с чужеродными элементами, возбудителями воспалительных процессов и вызывать их элиминацию.

Исследованиями последних лет показано, что в патогенезе развития воспалительных изменений в пародонте лежат ассоциации такой патогенно-агрессивной микрофлоры, как *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetem comitans*, *Porphyromonas gingivalis* [13].

Неблагоприятные факторы окружающей среды вызывают напряжение адаптационных систем, приводящее к изменению гомеостатических параметров организма человека, изменению метаболических и физиологических процессов. Исследования по влиянию хронического психоэмоционального стресса на ткани пародонта показали, что стресс может провоцировать микроциркуляторные расстройства и нарушать обменные процессы в тканях пародонта [2].

Условия космического полета (КП) приводят к изменению функциональных показателей многих органов и систем организма человека. Накопленный опыт осуществления КП показывает, что по мере увеличения длительности полета значение комплексного подхода в исследовании изменений зубочелюстной системы приобретает большую актуальность. Возможность развития неблагоприятных изменений в тканях пародонта членов экипажей в условиях КП была подтверждена при исследованиях в рамках космического эксперимента «Пародонт» и модельных экспериментов (60- и 120-суточная антиортостатическая гипокинезия). Показано, что по завершению КП происходят существенные изменения местного иммунитета и микрофлоры тканей пародонта космонавтов. В условиях модельных экспериментов выявлено увеличение концентрации иммуноглобулинов (sIgA, IgA, IgG) в десневой жидкости, появление пародонтопатогенной микрофлоры при исчезновении нормальной, нарушение показателей системы МЦР тканей пародонта. Данные изменения свидетельствуют о напряжении общего иммунитета, а в сочетании с ростом патогенной микрофлоры – и о снижении местного иммунитета. Исследования не смогли определить, являются ли изменения результатом длительного КП и особенностями формирования микробиоценоза и местного иммунитета пародонта в условиях КП, или же они являются одним из специфических проявлений реадaptационного послеполетного состояния организма человека [3].

Цель работы – комплексная оценка состояния тканей пародонта, включающая клинические, микроциркуляторные, микробиологические и иммунологические исследования в условиях, моделирующих состояние микрогравитации (5-суточная «сухая» иммерсия).

Материал и методы исследования

Исследования проведены с участием 8 здоровых мужчин-добровольцев, ознакомленных с программой эксперимента и подписавших информированное согласие на участие в проводимых исследованиях.

Перед экспериментом испытуемые прошли строгий отбор, были признаны здоровыми и получили допуск врачебно-экспертной комиссии. У всех испытуемых стоматологический статус без особенностей. Испытуемые имели возраст от 19 до 26 лет, средний рост их составлял $175,5 \pm 5,2$ см, масса тела – $68,5 \pm 4,9$ кг.

Согласно программе исследований [12], они в течение 5 суток находились в иммерсионной ванне размером $256 \times 148 \times 110$ см, наполненной водой, температура которой постоянно поддерживалась на уровне $32\text{--}34^\circ\text{C}$. Испытуемых от воды отделяла свободно плавающая водонепроницаемая пленка. Уровень погружения поддерживался постоянным по границе подмышечной впадины испытуемого или несколько выше (рис. 1).

«Сухая» иммерсия воспроизводит в организме человека изменения физиологических функций, так же как невесомость [14, 19], и впервые была предложена в качестве модели физиологических эффектов невесомости в начале 1970-х гг. [14].

Исследования тканей пародонта проводились на 1-е сутки (фон), на 5-е сутки иммерсии (выход) и на 7-е сутки по окончании иммерсии. Все исследования выполнялись натошак, перед чисткой зубов, в положении лежа в иммерсионной ванне, на 7-е сутки после иммерсии – полулежа (имитирующее положение в иммерсионной ванне).

Гигиена полости рта осуществлялась утром и вечером, чистка зубов проводилась в течение 3 мин зубной щеткой и зубной пастой, индивидуально используемой каждым испытуемым в обычных условиях жизнедеятельности. После приема пищи проводилось очищение межзубных промежутков с помощью шелковых флоссов.

Все исследования проводились в покое без предварительных физических и психоэмоциональных нагрузок.

Оценку кровотока в тканях пародонта проводили методом ультразвуковой доплеровской флуометрии (УЗДФ). Для этого применяли ультразвуковой высокочастотный доплерограф «Минимакс-Допплер-К», (Санкт-Петербург) с ультразвуковым датчиком непрерывного излучения, рабочая частота которого составляла 20 МГц (рис. 2), который широко используется в стоматологии [8, 9, 18]. Данный метод

позволяет оценить линейную и объемную скорость кровотока в ткани на глубине до 1,5 см.

Измерения проводили на границе между прикрепленной десной и переходной складкой снаружи между 1-м и 2-м резцами справа и слева, на верхней и нижней челюсти после нанесения на датчик акустического геля, без сдавления слизистой оболочки десны. Правильность установки датчика контролировали по характерному звуковому сигналу и визуальному сигналу на мониторе прибора, представляющему монофазную кривую, не синхронизированную с фазами сердечного цикла.

Данные представлялись на экране монитора в виде цветной доплерограммы, по которой можно визуально определить тип преобладающего кровотока. В ходе исследования регистрировались абсолютные значения линейных скоростей в исследуемом объеме ткани по кривым: максимальной скорости, отражающей артериовенулярный кровоток: V_s – максимальная систолическая скорость; V_m – средняя скорость; V_d – конечная диастолическая скорость (в см/с); и средней скорости (показатели, рассчитанные по этой кривой соответствуют преимущественно капиллярному кровотоку): V_{as} – максимальная систолическая скорость; V_{am} – средняя скорость; V_{akd} – конечная диастолическая скорость (см/с).

Для проведения исследований ротовой жидкости (представляющей собой десневую жидкость и слюну) пробы отбирались в тех же местах, где проводилось УЗ-исследование тканей пародонта. Пробы отбирались стерильным тампоном, который прикладывался к месту отбора на 2 мин. Забор микробиологических проб осуществлялся с зубной щетки 7-го, 10-го, 23-го и 26-го зубов верхней и нижней челюсти в соответствии с универсальной схемой нумерации (рис. 2, а) с помощью пробоборников. Исследования проводились стандартными бактериологическим и иммунологическим методами.

Для определения иммуноглобулинов (sIgA, IgA, IgM) использовался иммуноферментный метод анализа (ИФА). Применялись наборы реагентов «IgA общий-ИФА-Бест», «IgM общий-ИФА-Бест», «IgA секреторный-ИФА-Бест» (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). Качественный состав основных пародонтопатогенных видов микроорганизмов определялся современным методом молекулярно-биологическо-

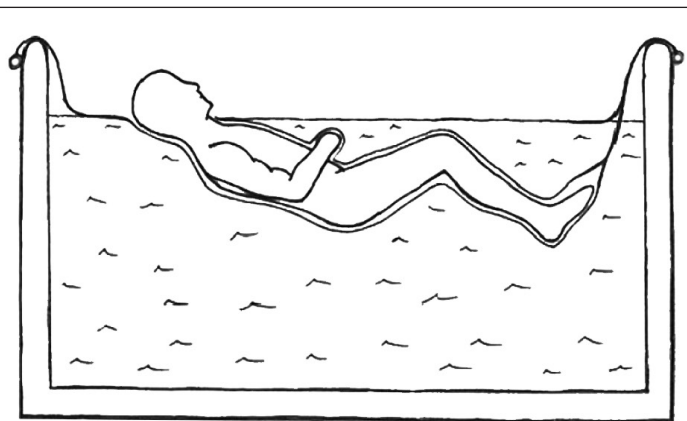


Рис. 1. Расположение испытуемого в иммерсионной ванне

Fig. 1. Location of the volunteer in the immersion bath

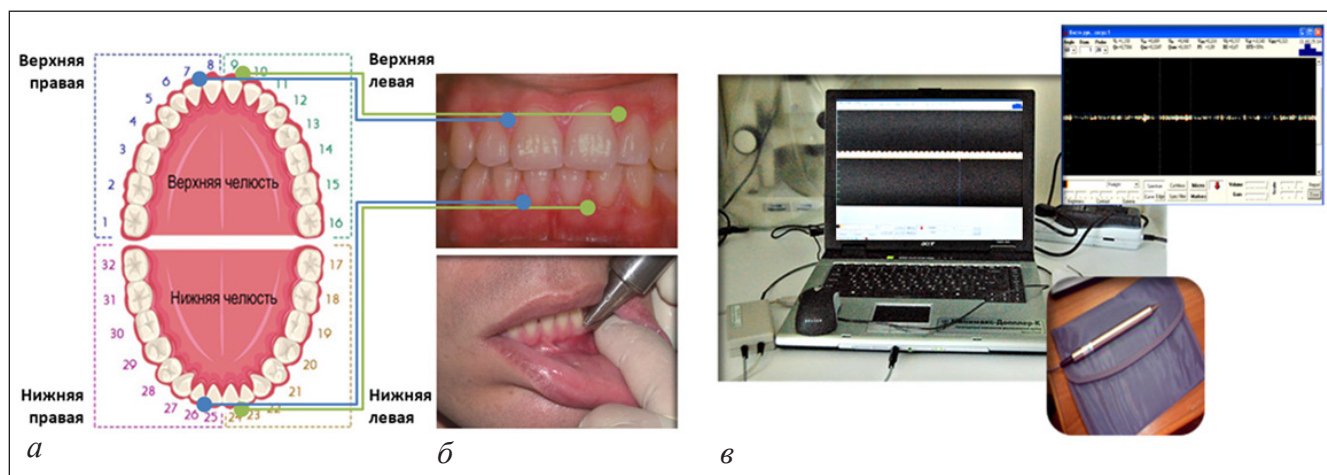


Рис. 2. Точки проведения ультразвукового исследования тканей пародонта и забора ротовой жидкости (а); проведение ультразвукового исследования (б); прибор доплерограф «Минимакс-Допплер-К» и доплерограмма (в)
Fig. 2. The field of ultrasound examination of periodontal tissues and oral fluid intake (a); carrying out ultrasound (b); device dopplerograph Minimax-Doppler-K and dopplerogram (c)

го исследования – полимеразной цепной реакцией (ПЦР) [6].

Статистическая обработка полученных данных производилась с помощью программы «StatSoft Statistica v7.0». Для определения различий между группами использовался непараметрический критерий Манна–Уитни с принятым уровнем значимости $p=0,05$. С целью оценки достоверности внутригрупповой динамики параметров микроциркуляции использовали непараметрический критерий Вилкоксона с принятым уровнем значимости $p=0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Сравнение показателей кровотока в МЦР пародонта верхней и нижней челюсти у испытуемых до эксперимента не выявило различий (табл. 1).

У 3 обследуемых на 5-е сутки «сухой» иммерсии показатели скорости кровотока в нижней челюсти практически не изменились, показатели артерио-

венулярного и капиллярного кровотока в верхней челюсти имели тенденцию к снижению в среднем на 15 %. Через 7 суток после иммерсии все показатели кровотока приближались к исходным значениям.

У 5 обследуемых наблюдали достоверное замедление кровотока в тканях пародонта как в артериоло-венулярном, так и капиллярном звене верхней челюсти (рис. 3). Как видно из рис. 3, на 5-е сутки иммерсии происходит достоверное снижение кровотока в артериоло-венулярном и венулярном звене ($p \leq 0,05$) МЦР пародонта верхней челюсти, также отмечается достоверное снижение ($p \leq 0,01$) показателей капиллярного кровотока. Замедление кровотока отчетливо прослеживается на представленных доплерограммах (рис. 4). В нижней челюсти отмечалась тенденция к снижению кровотока в МЦР пародонта в артериоло-венулярном звене в среднем на 8 %, в капиллярном звене – в среднем на 12 %.

Таблица 1

Средние значения показателей и кровотока в тканях пародонта испытуемых в фоновом периоде

Table 1

Mean values of blood flow indices in the periodontal tissues of volunteers in the background

Показатель, см/с		Верхняя челюсть (n=16)			Нижняя челюсть (n=16)		
		среднее*	минимум	максимум	среднее*	минимум	максимум
Артериоло-венулярный кровоток	Vs	1,1295 (0,98; 1,237)	0,469	1,5	0,989 (0,858; 1,059)	0,572	1,575
	Vm	0,5695 (0,409; 0,665)	0,195	0,958	0,5175 (0,373; 0,664)	0,236	1,159
	Vad	0,264 (0,225; 0,335)	0,151	0,504	0,2205 (0,203; 0,283)	0,172	0,43
Капиллярный кровоток	Vas	0,2 (0,16; 0,226)	0,117	0,343	0,171 (0,150; 0,194)	0,13	0,225
	Vam	0,1295 (0,113; 0,157)	0,084	0,274	0,122 (0,114; 0,136)	0,092	0,161
	Vakd	0,208 (0,142; 0,283)	0,128	0,38	0,1645 (0,144; 0,191)	0,125	0,229

Примечание: данные представлены в виде медианы; * – 25-й процентиль, 75-й процентиль.

На 7-е сутки после завершения иммерсии показатели скорости кровотока в МЦР пародонта верхней челюсти находятся ниже фоновых значений, а показатели капиллярного кровотока (Vas, Vam) продолжают снижаться. Показатели скорости кровотока в МЦР пародонта нижней челюсти к этому времени восстанавливаются до исходных значений.

Результаты проводимых исследований показали, что подавляющее большинство обследуемых характеризовались нормальным микробиоценозом и местным иммунным статусом перед модельным экспериментом.

Характер изменения содержания иммуноглобулинов у обследуемых в ротовой жидкости в ходе «сухой» иммерсии представлен в табл. 2.

Как видно из данных табл. 2, динамика показателей иммуноглобулинов в ротовой жидкости в ходе 5-суточной «сухой» иммерсии и после эксперимента колеблется в пределах нормальных значений. Однако отмечается тенденция роста sIgA (секреторного компонента IgA) на 5-е сутки иммерсии и на 7-е сутки после завершения иммерсии. Можно предположить, что увеличение sIgA связано с появлением пародонтопатогенной микрофлоры в ротовой полости в ходе эксперимента.

Проведенная детекция маркерной дезоксирибонуклеиновой кислоты пяти основных пародонтопатогенных видов – *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* пока-

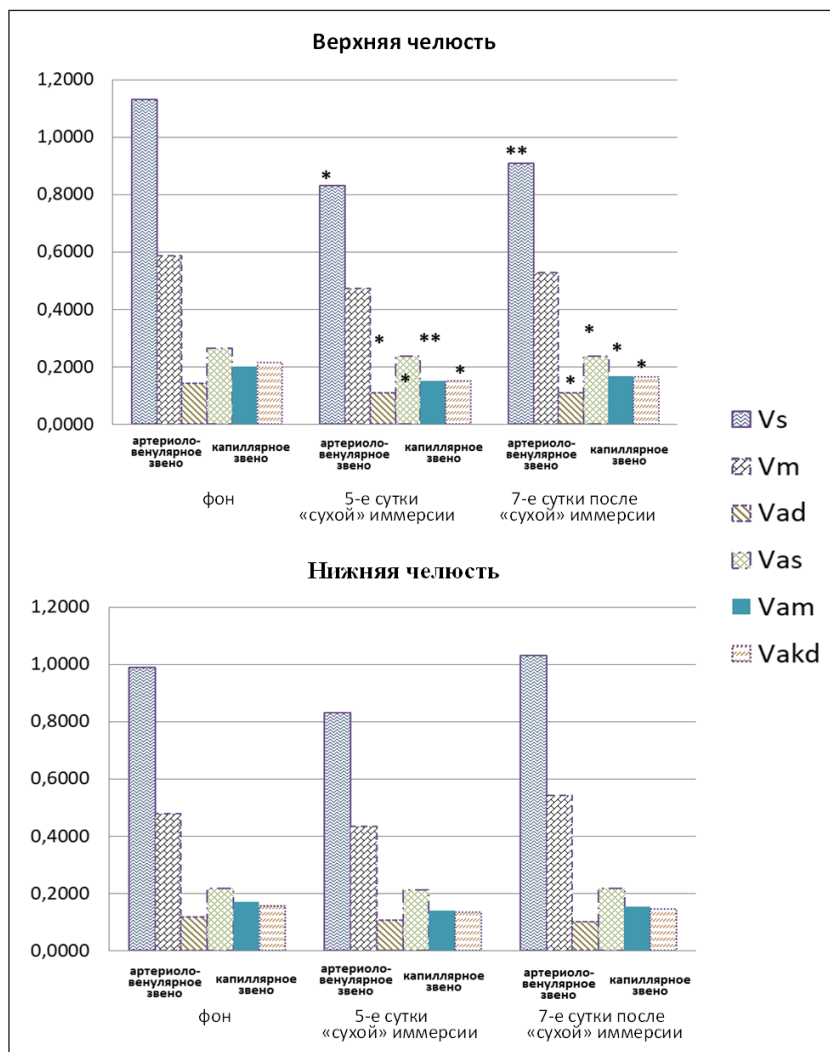


Рис. 3. Динамика показателей скорости кровотока в МЦР пародонта у обследуемых в ходе эксперимента с «сухой» иммерсией:

* – $p \leq 0,05$; ** – $p < 0,01$ относительно фона

Fig. 3. The blood flow speed dynamics in the periodontal MCR in subjects surveyed in the experiment with a «dry» immersion:

* – $p \leq 0.05$; ** – $p < 0.01$ with respect to the background

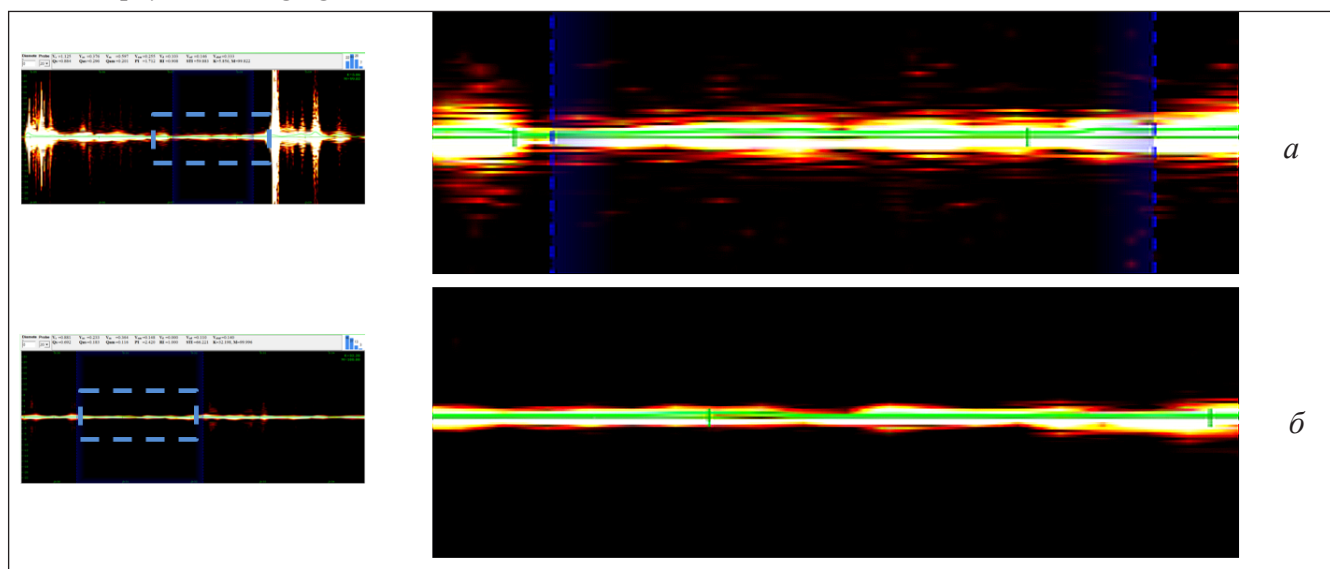


Рис. 4. Пример доплерограмм пародонта верхней челюсти у испытуемого: *a* – в фоне; *б* – на 5-е сутки «сухой» иммерсии

Fig. 4. The dopplerograms of the periodontium of the upper jaw in the subject (an example): *a* – in the background; *б* – on the 5th day of the «dry» immersion

Таблица 2

Динамика содержания иммуноглобулинов в ротовой жидкости у обследуемых в ходе иммерсии

Table 2

Dynamics of the immunoglobulins content in the oral fluid in the subjects during immersion

Показатель		Среднее (N=32)	Минимум	Максимум	25-й процентиль	75-й процентиль	Показатели нормы в слюне по данным Вектор-Бест
sIgA, мг/л	фон	117,7450	100,6550	333,6000	108,8150	180,2150	115,3–299,7
	5-е сутки иммерсии	135,9750	101,7000	487,4650	115,1000	303,7000	
	7-е сутки после иммерсии	211,5725	117,9900	341,8600	170,7350	303,9425	
IgA, г/л	фон	0,0355	0,0100	0,2379	0,0163	0,0605	0,069±0,028
	5-е сутки иммерсии	0,0395	0,0105	0,0988	0,0206	0,0528	
	7-е сутки после иммерсии	0,0250	0,0111	0,0830	0,0225	0,0321	
IgM, г/л	фон	0,0126	0,0101	0,0329	0,0106	0,0200	0,055±0,011
	5-е сутки иммерсии	0,0119	0,0083	0,0278	0,0112	0,0144	
	7-е сутки после иммерсии	0,0106	0,0088	0,0291	0,0100	0,0216	

зала наличие в ротовой полости обследуемых всех представителей этой группы после проведения иммерсии.

Что подтверждается увеличением sIgA как специфического фактора, обеспечивающего защиту тканей полости рта и пародонта от патогенной микрофлоры.

Пародонт – это сложная многокомпонентная система, жизнеспособность которой сильно зависит от адекватной микроциркуляции, микробиоценоза ротовой полости, местного и общего иммунного состояния организма. Поэтому для понимания развития патологических процессов, которые могут приводить к дисфункции тканей пародонта, необходимо проводить комплексные исследования, включающие изучение всех компонентов этой системы. Считается, что воспаление в периодонтальных тканях приводит к разрушению микроциркуляторной функции и что кровоток может служить предиктором заболеваний пародонта [18, 5]. Многими исследованиями показано, что первичная (доклиническая) реакция МЦР на развитие патологического процесса в пародонте проявляется в замедлении кровотока, дилатации венул [5, 20]. Однако исследование параметров микроциркуляции в тканях пародонта является технически сложной задачей. Наиболее приемлемым и информативным методом, который позволяет измерить линейные показатели кровотока в разных звеньях МЦР и рассчитать объемные показатели кровотока, является метод ультразвуковой доплеровской флуометрии, используемый в высокочастотном доплерографе «Минимакс-Допплер-К». Данный прибор позволяет проконтролировать правильную установку датчика в исследуемой области по звуковому и визуальному сигналу. Это дает возможность различать типы кровеносных сосудов – артериолы, венулы и капилляры – по характерному звуку и виду доплерограм-

мы [11]. Компьютерный анализ доплерограмм дает качественную и количественную оценку кровотока в исследуемом объеме ткани. Прибор удобен и прост в обращении, минимальное время исследования до 5 мин, форма датчика позволяет проводить исследование в труднодоступных местах. Метод обладает высокой воспроизводимостью, что было убедительно показано на разработанном фантоме, который моделировал кровоток в пульпе зуба, где использовалась УЗДФ-система [17], применяемая и в наших исследованиях. Компьютер-контролируемая система подавала поток жидкости, имитирующей кровь. УЗДФ-система с датчиком 20 МГц измеряла скорость потока жидкости. В результате была зафиксирована высокая линейная корреляция между скоростями потока фантома и измеренными системой скоростями. Непосредственно во время измерения осуществляется звуковой и визуальный контроль УЗДФ системой. На монитор выводилась информация значений линейных (систолическое, среднее, диастолическое) скоростей.

Диаметр исследуемых сосудов пародонта составляет в среднем от 10×10^{-3} до 60×10^{-3} мм, а скорость кровотока в покое (в фоновых значениях) в наших исследованиях колебалась от 0,47 до 1,5 см/с (Vs), что хорошо согласуется с ранее опубликованными данными [4, 22]. Если скорость кровотока превышала 1,0 см/с, на доплерограмме была видна артериолярная составляющая в виде пульсовой волны, характерная для сосудов большего диаметра. Это подтверждает хорошую чувствительность метода, поскольку показана положительная корреляция между диаметром сосуда и скоростью кровотока [21].

На 5-е сутки имитации микрогравитации и после нее отмечается достоверное снижение скорости кровотока в артериолярном и капиллярном ($p \leq 0,05$)

звеньях МЦР пародонта верхней челюсти. Некоторое снижение наблюдается и в веноулярном звене, однако выраженных застойных явлений не выявлено. Снижение скорости кровотока в пародонте нижней челюсти было менее выражено, что связано, как было отмечено ранее, с ее лучшей васкуляризацией. Данный эффект снижения показателей кровотока вызван перераспределением жидких сред организма, изменением центральной и периферической гемодинамики в условиях микрогравитации. Эти эффекты были показаны в многочисленных экспериментах в условиях, моделирующих микрогравитацию, и в полетных исследованиях [7].

Характер изменения содержания иммуноглобулинов (рост sIgA) у обследуемых говорит о возможности возникновения воспалительного процесса в тканях пародонта. Можно предположить, что увеличение sIgA связано с появлением пародонтопатогенной микрофлоры в ротовой полости в ходе эксперимента. Установлена прямая связь между появлением агрессивной микрофлоры и иммунной защитой пародонта. В начальных стадиях воспаления пародонта происходит усиление резистентности тканей, а затем, по мере прогрессирования патологического процесса, отмечается угнетение местной иммунологической реактивности и резистентности.

В ходе иммерсии показано носительство пяти основных пародонтопатогенных видов микроорганизмов. Для анаэробных бактерий выявлена четкая связь с прогрессированием заболевания пародонта. Так, если, наряду с другими пародонтопатогенами, отмечается присутствие *Treponema denticola*, – это указывает на переход локального процесса к генерализованному. Выявление *Prevotella intermedia* как моноинфекции означает самое начало заболевания. Обнаружение ее с другими пародонтопатогенами, характеризует прогрессирование заболевания, при стабилизации процесса она, как правило, отсутствует. Следует обратить внимание, что наличие пяти основных пародонтопатогенных видов микроорганизмов предполагает этиологическую значимость этих микроорганизмов и потенциальную возможность вызывать заболевания.

Заключение

Таким образом, изучение и анализ состояния динамики микроциркуляции, местной иммунологической реактивности и резистентности тканей пародонта, состава микробиоценоза полости рта позволяют выделить важные этиопатогенетические аспекты патологии, имеющие исключительное значение для прогнозирования, течения и исхода заболеваний пародонта, а также для рационального построения профилактических мероприятий в условиях КП.

Комплексное исследование показало возможность развития воспалительных заболеваний тканей пародонта в условиях иммерсии. Под влиянием микрогравитации наблюдалось нарушение, как минимум, в двух барьерах колонизации пародонта. Это барьер, сформированный комменсальной микрофлорой, и начальные проявления в барьере, сформированном гуморальным иммунитетом. Сни-

жение кровотока в тканях пародонта, которое может привести к гипоксии тканей, усугубляет нейродистрофические нарушения и еще более снижает барьерные функции пародонта.

В плане диагностики состояния тканей пародонта перспективным является анализ микрофлоры пародонта, исследование состояния гемодинамики в МЦР тканей пародонта методом ультразвуковой высокочастотной флуометрии, который позволяет неинвазивно изучить микроциркуляцию в физиологических условиях, а также выявить доклинические изменения, предшествующие патологическому состоянию пародонта. При возможности определение уровня иммуноглобулинов в ротовой жидкости является диагностическим критерием местного гуморального иммунитета.

Работа выполнена в рамках тем СЧ ОКР «МКС (Наука)» ИМБП, 64.2 ФНИ РАН.

Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interests.

Литература / References

1. Варшавский А. И., Левин Н. А. Состояние путей микроциркуляции крови пульпы зубов при пародонтозе // *Стоматология*. – 1973. – № 6. – С. 13–16. [Varshavskij AI, Levin NA Sostoyanie putej mikrocirkulyacii krovi pul'py zubov pri parodontoze. *Stomatologiya*. 1973;(6):13-16. (In Russ)].
2. Ильин В. К., Воложин А. И., Ви́ха Г. В. Колонизационная резистентность организма в измененных условиях обитания. – М.: Наука, 2005. [Il'in V.K., Volozhin A.I., Viha G.V. Kolonizacionnaya rezistentnost' organizma v izmenennykh usloviyakh obitaniya. Moscow: Nauka; 2005. (In Russ)].
3. Ильин В. К., Скедина М. А., Соловьева З. О. Контроль состояния тканей пародонта при воздействии факторов космического полета // Гагарин. сб.: Материалы XLIII Общественно-науч. чт., посвящ. памяти Ю. А. Гагарина; Гагарин, 9–12 марта 2016 г. – Гагарин: БФ Мемориального музея Ю. А. Гагарина, 2016. – С. 260–267. [Il'in VK, Skedina MA, Solov'eva ZO. Monitoring the condition of periodontal tissues under the influence of space flight factors. *Gagarinskij sbornik: materialy XLIII Obshchestvenno-nauchnykh chtenij, posvyashchennykh pamyati YU.A. Gagarina*; Gagarin, 9-12 March. Gagarin: BF Memorial'nogo muzeya YU.A. Gagarina; 2016:260-267. (In Russ)].
4. Кречина Е. К., Рахимова Э. Н., Гирина М. Б. Применение метода ультразвуковой доплерографии для оценки тканевого кровотока при воспалительных заболеваниях пародонта: пособие для врачей. – М.: Центр. НИИ стоматол., 2005. [Krechina EK, Rahimova EhN, Girina MB. *Primenenie metoda ul'trazvukovoj dopplerografii dlya ocenki tkanevogo krovotoka pri vospalitel'nyh zabolovaniyakh parodonta: Posobie dlya vrachej*. Moscow: Central'nyj NII stomatologii; 2005. (In Russ)].
5. Кучумова Е. Д., Прохорова О. В., Ткаченко Т. Б. Основные методы исследования микроциркуляции пародонта. – СПб.: СПбГМУ, 2005. [Kuchumova ED, Prohorova OV, Tkachenko TB *Osnovnye metody issledovaniya mikrocirkulyacii parodonta*. St. Petersburg: SPbGMU; 2005. (In Russ)].
6. Маерле А. В., Сергеев И. А., Алексеев Л. П. Метод иммуно-ПЦР: перспективы использования // *Иммунология*. – 2014. – № 1. – С. 44–48. [Maerle AV, Sergeev IA, Alekseev LP.

Immuno-PCR method: prospect of application. Immunologiya. 2014;1:44-48. (In Russ)].

7. Носков В. Б. Перераспределение жидких сред организма в условиях невесомости и моделирующих ее воздействий // *Авиакосм. и эколог. мед.* – 2011. – Т. 45. – № 1. – С. 17–26. [Noskov VB. Redistribution of body liquids in the conditions of microgravity and simulation of its effects. *Aviakosmicheskaya i ehkologicheskaya medicina. 2011;45(1):17-26. (In Russ)].*

8. Орехова Л. Ю. Заболевания пародонта / под общ. ред. проф. Л. Ю. Ореховой. – М.: Поли Медиа Пресс, 2004. [Orekhova LYu. et al. *Zabolevaniya parodonta. Orekhova LYu, editor. Moscow: Poli Media Press, 2004. (In Russ)].*

9. Орехова Л. Ю., Лобода Е. С., Яманидзе Н. Значение ультразвуковой доплерографии в динамике лечения воспалительных заболеваний пародонта // *Евраз. союз ученых.* – 2016. – № 30 (1). – С. 89–94. [Orekhova LYu., Loboda ES, Yamanidze N. *Znachenie ul'trazvukovoy dopplerografii v dinamike lecheniya vospalitel'nykh zabolevanij parodonta. Evrazijskij soyuz uchenykh. 2016;30(1):89-94. (In Russ)].*

10. Орехова Л. Ю., Кучумова Е. Д., Стюф Я. В. Исследование микроциркуляции тканей пародонта и пульпы зуба до и после удаления зубных отложений электрическими скейлерами // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* – 2007. – Т. 6. – № 3. – С. 86–90. [Orekhova LYu., Kuchumova ED, Styuf YaV. *Issledovanie mikrocirkulyacii tkanej parodonta i pul'py zuba do i posle udaleniya zubnykh otlozhenij ehlektricheskimi skejlerami. Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocirkulyaciya. 2007;6(3):86-90. (In Russ)].*

11. Петрищев Н. Н., Васина Е. Ю., Корнеев Н. В. и др. Способ определения реактивности сосудов микроциркуляторного русла и вазомоторной функции эндотелия с использованием высокочастотной доплерографии (медицинская технология). – СПб.: СП-Минимакс, 2009. [Petrishchev NN, Vasina EYu., Korneev NV et al. *Sposob opredeleniya reaktivnosti sosudov mikrocirkulyatornogo rusla i vazomotornoj funkcii ehndoteliya s ispol'zovaniem vysokochastotnoj dopplerografii (medicinskaya tekhnologiya). St. Petersburg: SP-Minimaks; 2009. (In Russ)].*

12. Томиловская Е. С. Эксперимент с 5-суточной иммерсией: задачи, объем, структура исследований, особенности методических подходов // *Авиакосм. и эколог. мед.* – 2011. – Т. 45. – № 6. – С. 3–7. [Tomilovskaya ES. *Experiment with 5-day dry immersion: objectives, content and structure of the investigations, methods. Aviakosmicheskaya i ehkologicheskaya medicina. 2011;45(6):3-7. (In Russ)].*

13. Царев В. Н. и др. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта: учебник / под ред. В. Н. Царева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. [Carev VN et al. *Mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya polosti rta: ucheb. Carev VN, editor. Moscow: GEHOTAR-Media; 2016. (In Russ)].*

14. Шульженко Е. Б., Виль-Вильямс И. Ф. Возможность проведения длительной водной иммерсии методом «сухого» погружения // *Косм. биол. и авиакосм. мед.* – 1976. – Т. 10. – № 9. – С. 82–84. [SHul'zhenko EB, Vil'-Vil'yams IF. *Vozmozhnost' provedeniya dlitel'noj vodnoj immersii metodom «suhogo» pogruzheniya. Kosm. biol. i aviakosm. med. 1976;10(9):82-84. (In Russ)].*

15. Kerdvongbundit V, Vongsavan N, Soo-Ampon S et al. Microcirculation of the healthy human gingiva. *Odontology. 2002;90(1):48-51. doi: 10.1007/s102660200007.*

16. Kerémi B, Csempesz F, Vág J. et al. Blood flow in marginal gingiva as measured with laser Doppler flowmetry. *Fogorvosi szemle. 2000;93(6):163-168.*

17. Kim D, Park SH. A microfluidics-based pulpal arteriole blood flow phantom for validation of doppler ultrasound devices in pulpal blood flow velocity measurement. *Journal of endodontics. 2016;42(11):1660-1666. doi: org/10.1016/j.joen. 2016.08.008.*

18. Kim D. and Park S.-H. Effects of age, sex, and blood pressure on the blood flow velocity in dental pulp measured by Doppler ultrasound technique. *Microcirculation. 2016; 23:523–529. doi: 10.1111/micc.12302.*

19. Kozlovskaya I et al. Gravitational mechanisms in the motor system. *Studies in real and simulated weightlessness. Stance and Motion. Springer US. 1988:37-48.*

20. Orekhova LY, Barmasheva AA. Doppler flowmetry as a tool of predictive, preventive and personalised dentistry. *EPMA Journal. 2013;4(1)21. doi: 10.1186/1878-5085-4-21.*

21. Owolabi MO, Agunloye AM, Ogunniyi A. The relationship of flow velocities to vessel diameters differs between extracranial carotid and vertebral arteries of stroke patients. *Journal of Clinical Ultrasound. 2014;42(1):16-23. doi: 10.1002/jcu.22053.*

22. Yoon MJ, Kim E, Lee SJ et al. Pulpal blood flow measurement with ultrasound Doppler imaging. *Journal of endodontics. 2010;36(3):419-422. doi: org/10.1016/j.joen.2009.12.031.*

Информация об авторах

Скедина Марина Анатольевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ науки «Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН», e-mail: skedina@imbp.ru.

Соловьёва Зоя Олеговна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ФГБУ науки «Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН», e-mail: soloviova @imbp.ru.

Ковалева Анна Александровна – научный сотрудник ФГБУ науки «Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН», e-mail: aakovaleva@imbp.ru.

Ильин Вячеслав Константинович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом ФГБУ науки «Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН», e-mail: ilyin@imbp.ru.

Author information

Skedina Marina Anatol'evna – Ph.D. in medical sciences, Leading Researcher, Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, e-mail: skedina@imbp.ru.

Solov'eva Zoya Olegovna – Ph.D. in biological sciences, Senior Researcher, Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, e-mail: soloviova @imbp.ru.

Kovaleva Anna Aleksandrovna – Research Officer, Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, e-mail: aakovaleva@imbp.ru.

Ilyin Vyacheslav Konstantinovich – Dr. of Biol. Sci., Professor, Head of Department, Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, e-mail: ilyin@imbp.ru.

УДК 616.379-008.64

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-57-63

СИМАНЕНКОВА А. В.¹, МАКАРОВА М. Н.¹, ВАСИНА Л. В.^{1, 2},
БУТОМО М. И.¹, ДОРА С. В.¹, ШЛЯХТО Е. В.^{1, 2}

Агонист рецептора глюкагоноподобного пептида-1 уменьшает дисфункцию эндотелия у больных сахарным диабетом 2-го типа

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр
имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2
e-mail: annasimanenkova@mail.ru

Статья поступила в редакцию 29.01.18; принята к печати 25.03.18

Резюме

Цель – оценить эндотелиопротективное действие лираглутида (ЛИР).

Материал и методы. У пациентов с СД 2-го типа с HbA1C 7,5–9,0 % 3 месяца титровалась доза метформина (МЕТ). Пациенты с HbA1C до 7,5 % стали группой 1 (МЕТ), более 7,5 % – группой 2 (МЕТ+ЛИР). Исходно, через 3, 6 и 9 месяцев определялся тканевой активатор плазминогена (t-РА), ингибитор активатора плазминогена-1 (РАI-1), эндотелин-1 (Э) крови.

Результаты. РАI-1 был повышен в обеих группах и снижался. t-РА был в норме. Э был повышен исходно только в группе 2. Э в группе 1 в целом был в норме, но повышался при нарастании гликемии. В группе 2 Э снижался при нарастании и снижении гликемии.

Выводы. Улучшение контроля гликемии уменьшает дисфункцию эндотелия. ЛИР улучшает вазомоторную функцию эндотелия, независимо от влияния на гликемию.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, эндотелиальная дисфункция, агонист рецептора глюкагоноподобного пептида-1, лираглутид

Для цитирования: Симанenkova А. В., Макарова М. Н., Васина Л. В., Бутомо М. И., Дора С. В., Шляхто Е. В. Агонист рецептора глюкагоноподобного пептида-1 уменьшает дисфункцию эндотелия у больных сахарным диабетом 2-го типа. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018; 17(2): 59–65. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-57-63

UDC 616.379-008.64

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-57-63

SIMANENKOVA A. V.¹, MAKAROVA M. N.¹, VASINA L. V.^{1, 2},
BUTOMO M. I.¹, DORA S. V.¹, SHLYAKHTO E. V.^{1, 2}

Glucagon-like peptide-1 receptor agonist diminishes endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Pavlov First Saint Petersburg State Medical University»
Saint-Petersburg, Russia

197022, Russia, Saint-Petersburg, L'va Tolstogo street, 6-8

² Federal State Budgetary Institution «Almazov National Medical Research Centre» of the Ministry of Health of the Russian
Federation, Saint-Petersburg, Russia

197341, Russia, Saint-Petersburg, Akkuratova street, 2

e-mail: annasimanenkova@mail.ru

Received 29.01.18; accepted 25.03.18.

Summary

Objective. To evaluate liraglutide (LIR) endothelial protective action.

Material and methods. Type 2 diabetic patients with HbA1C 7.5–9.0 % had metformin (MET) dose titrated for 3 months. Patients with HbA1C less than 7.5 % comprised group 1 (MET), more than 7.5 % – group 2 (MET+LIR). Blood concentrations of tissue plasminogen activator (t-PA), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), endothelin-1 (E) were evaluated at baseline, in 3, 6 and 9 months.

Results. PAI-1 was increased in both groups and gradually decreased. T-PA was normal. E was primarily increased only in group 2. E was normal in group 1 in general, but enlarged with glycaemia increase. E decreased in group 2 with glycaemia improvement and worsening.

Conclusions. Glycaemia control improvement decreases endothelial dysfunction. LIR improves vasomotor endothelial function, independently on its influence on glycaemia.

Key words: type 2 diabetes mellitus, endothelial dysfunction, glucagon-like peptide-1 receptor agonist, liraglutide

For citation: Simanenkov A. V., Makarova M. N., Vasina L. V., Butomo M. I., Dora S. V., Shlyakhto E. V. Glucagon-like peptide-1 receptor agonist diminishes endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients. *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2018;17(2):59–65. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-57-63

Введение

Сахарный диабет (СД) 2-го типа остается одной из ключевых проблем современного здравоохранения. По данным Атласа Международной диабетической федерации 2017 г., в мире насчитывается до 425 млн больных СД, а в России – более 8 млн [7].

Особую проблему представляют собой хронические осложнения СД, такие как нефропатия, нейропатия, ретинопатия, хроническое нарушение мозгового кровообращения. Известно, что в основе всех перечисленных осложнений СД лежит дисфункция эндотелия. Коррекция эндотелиальной дисфункции у этой когорты больных могла бы стать эффективным способом первичной и вторичной профилактики данных состояний. Поэтому поиск препаратов, положительно воздействующих на углеводный обмен и способных оказывать дополнительное эндотелиопротективное действие, является весьма перспективным.

В последние годы высокую эффективность в терапии СД 2-го типа показали препараты из класса агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1). В настоящее время появляется все больше сведений об их плейотропных эффектах. В ряде работ установлено кардиопротективное действие инкретиномиметиков на экспериментальных моделях *in vivo* и *ex vivo* [3, 5, 11], которое проявляется в уменьшении размера инфаркта, улучшении параметров пост-ишемической гемодинамики, а также потребления глюкозы миокардом [3]. Агонисты рецептора ГПП-1 оказывают кардиопротективный эффект у больных без СД 2-го типа, страдающих ишемической болезнью сердца [10, 12]. Кроме того, имеются отдельные экспериментальные данные о нейропротективном эффекте данной группы препаратов при ишемии головного мозга [4, 9, 14], в случае введения их как до, так и после моделирования ишемического инсульта.

Сведения о защитном действии агонистов рецептора ГПП-1 в отношении эндотелия сосудов крайне скудны. В то же время специфические рецепторы ГПП-1 экспрессируются и на поверхности эндотелиоцитов [8], что может создавать предпосылки для реализации эндотелиопротективного действия этих препаратов. Имеются единичные сведения о потенциальном эндотелиопротективном эффекте данного препарата [6, 16], однако комплексного изучения его влияния на вазомоторную и гемостатическую функции эндотелия ранее не производилось.

Целью исследования стала оценка защитного действия лираглутида на вазомоторную и гемостатическую функции эндотелия и выявление его связи с коррекцией углеводного обмена.

Материал и методы исследования

Критерии включения и невключения. В исследование были включены мужчины и женщины от 45 до 75 лет с СД 2-го типа (n=64) с неудовлетворительным контролем гликемии (гликированный гемоглобин (HbA1C) от 7,5 до 9,0 %) на фоне монотерапии метформином (МЕТ) до 2000 мг/сут. Все пациенты получали эффективную антигипертензивную и гиполипидемическую терапию в течение не менее 3 месяцев до начала данного проекта. В исследование не были включены пациенты с какими-либо сопутствующими патологиями, кроме гипертонической болезни и дислипидемии. Пациенты с ишемической болезнью сердца, в том числе безболевой ишемией миокарда, исключались из исследования.

Дизайн исследования. На момент включения в исследование все пациенты объединялись в общую группу. В течение 3 месяцев у всех больных проводилась титрация дозы метформина (МЕТ) либо до достижения удовлетворительного контроля гликемии, либо до максимальной дозы метформина – 3000 мг/сут. Через 3 месяца пациенты, достигшие показателя гликированного гемоглобина (HbA1C) менее 7,5 %, были включены в группу 1 – у них монотерапия МЕТ была продолжена еще на 6 месяцев. Больным, имевшим через 3 месяца HbA1C более 7,5 %, к терапии МЕТ был добавлен лираглутид (ЛИР) (Виктоза, «Ново Нордиск», Дания) на последующие 6 месяцев, и они были включены в группу 2. Через 6 и 9 месяцев от начала исследования производилось повторное определение HbA1C.

Исходно через 3, 6 и 9 месяцев от начала проекта выполнялся анализ крови на эндотелин-1 как маркер вазомоторной функции эндотелия, на тканевой активатор плазминогена (t-PA), ингибитор активатора плазминогена (PAI-1) как показатели гемостатической функции. Концентрация эндотелина-1 (big endothelin-1) определялась в цитратной плазме при помощи иммуноферментного анализа (ИФА) (ELISA kit, Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, Австрия), уровень антигенов t-PA и PAI-1 оценивался в ЭДТА-плазме при помощи ИФА (ELISA kit, Technozym, Technoclone GmbH, Австрия).

Статистический анализ. Статистическая обработка данных производилась при помощи программного пакета «IBM SPSS Statistics-22» (IBM, США) и «Statistica-10» (Statsoft, США). Значимость различий между группами оценивалась с помощью непараметрического критерия Крускала–Уоллеса и Манна–Уитни для независимых выборок, с применением непараметрического дисперсионного анализа (апостериорное попарное сравнение групп при помощи критерия Данна). Значимость различий внутри одной

группы оценивалась с помощью непараметрических критериев Фридмана и Вилкоксона для зависимых переменных с введением поправки Бонферрони с false discovery rate (FDR). Все показатели представлены в виде «медиана (25 %; 75 %)». Значения P меньше 0,05 рассматривались как значимые.

Соблюдение этических требований. Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие.

Результаты исследования и их обсуждение

Исходно в исследование были включены 64 пациента, 27 мужчин и 37 женщин, однако 12 больных выбыли из исследования по собственному желанию; таким образом, в окончательный анализ были включены данные, полученные от 52 пациентов.

Клинико-лабораторные характеристики пациентов будущих групп 1 и 2 приведена в табл. 1.

Через 3 месяца титрации дозы МЕТ 28 пациентов достигли уровня HbA1C менее 7,5 % (6,75 (6,3; 7,2) %), которые составили группу 1 – данная группа продолжила получать монотерапию МЕТ. 24 человека через 3 месяца наблюдения имели HbA1C более 7,5 % (8,2 (7,68; 8,68) %), и они были включены в группу 2 – к терапии МЕТ был добавлен ЛИР.

Через 6 месяцев от начала проекта у пациентов группы 1 сохранялся удовлетворительный контроль гликемии, HbA1C составлял 6,89 (6,45; 7,5) %. В группе 2 через 6 месяцев, на фоне добавления к терапии ЛИР, в целом наблюдалось улучшение гликемического профиля, HbA1C составил 7,9 (7,65; 8,4) %. У 1 пациентки наблюдалась отрицательная динамика: произошло нарастание уровня HbA1C с 7,4 до 8,4 %. Эта пациентка прекратила дальнейшее участие в исследовании.

Таблица 1

Характеристика пациентов будущих групп 1 и 2 (исходно)

Table 1

Characteristic of patients from future groups 1 and 2 (baseline)

Показатель	Группа 1	Группа 2	Достоверность различий, p
<i>Клинические характеристики</i>			
Возраст, лет	56,0 (49,25; 66,0)	57,0 (54,75; 63,25)	0,430
Пол:			
мужской	14 (50 %)	5 (20,8 %)	0,044
женский	14 (50 %)	19 (79,2 %)	
Масса тела, кг	88,0 (74,0; 118,0)	103,0 (73,5; 140,5)	0,527
<i>Анамнестические характеристики</i>			
Длительность анамнеза СД, лет	1,75 (0,0; 5,25)	10,0 (8,0; 15,0)	0,000
Длительность анамнеза ГБ, лет	10,0 (2,0; 20,75)	10,0 (2,0; 26,0)	0,819
Наследственность по СД:			
отягощена	6 (21,4 %)	13 (54,2 %)	0,021
не отягощена	22 (78,6 %)	11 (45,8 %)	
Наследственность по ССЗ			
отягощена	16 (57,1 %)	17 (70,8 %)	0,391
не отягощена	12 (42,9 %)	7 (29,2 %)	
Курение:			
да	6 (21,4 %)	6 (25,0 %)	1,000
нет	22 (78,6 %)	18 (75,0 %)	
Сопутствующая терапия:			
иАПФ	14 (50,0 %)	10 (41,7 %)	0,762
сартаны	7 (25,0 %)	8 (33,3 %)	0,532
диуретики	9 (32,1 %)	11 (45,8 %)	0,363
блокаторы кальциевых каналов	12 (42,9 %)	9 (37,5 %)	0,771
статины	12 (42,9 %)	12 (50 %)	0,556
<i>Лабораторные характеристики</i>			
Гликированный гемоглобин, %	8,4 (7,5; 9,0)	7,8 (7,54; 8,7)	0,471

Примечание: СД – сахарный диабет; ГБ – гипертоническая болезнь; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; иАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента.

Через 9 месяцев наблюдения в группе 1 в целом сохранялся удовлетворительный контроль гликемии, и уровень HbA1C составлял 6,95 (6,5; 7,75) %. При этом у 25 пациентов HbA1C по-прежнему не превышал установленного целевого уровня менее 7,5 % (6,7 (6,2; 7,0) %). У 3 пациентов наблюдалось ухудшение гликемического профиля, что отражалось в нарастании концентрации HbA1C с 7,5 (6,3; 7,5) % до 8,2 (7,6; 8,7) %.

В группе 2 через 9 месяцев не наблюдалось достоверного изменения концентрации HbA1C (7,7 (7,2; 8,2) %). При этом у 18 человек имела место положительная динамика на фоне комбинированной терапии MET+ЛИР, уровень HbA1C составил 7,35 (6,43; 7,75) %. Однако у 5 пациентов наблюдалась отрицательная динамика: у них концентрация HbA1C через 9 месяцев составляла 8,1 (7,75; 8,6) %.

Исходный уровень и динамика маркеров эндотелиальной дисфункции. Мы провели ретроспективный анализ некоторых исходных показателей у пациентов, которые будут впоследствии разделены на группы 1 и 2, с целью выявления различий, которые могли бы стать основой раннего выбора лечения.

Так, исходный уровень PAI-1 был выше нормы в группах 1 и 2 и составил 48,79 (32,96; 96,2) и 87,3 (71,75; 108,93) нг/мл соответственно ($p=0,028$).

Уровень эндотелина-1 был исходно достоверно ниже у пациентов группы 1, по сравнению с таковым у пациентов группы 2 (0,74 (0,28; 1,23) и 2,14 (0,73; 3,23) пмоль/л соответственно ($p=0,045$)). Различий в исходном уровне t-РА между группами 1 и 2 не было – 5,26 (3,39; 6,07) и 5,16 (4,19; 7,7) нг/мл соответственно.

При этом важно отметить, что не было выявлено корреляционной связи между концентрацией указанных маркеров дисфункции эндотелия и длительностью анамнеза СД, а также уровнем HbA1C.

В течение всего периода наблюдения концентрация t-РА оставалась в пределах референсных значений как в группе 1, так и в группе 2 (табл. 2).

Уровень PAI-1 достоверно снизился в группе 1 через 3 месяца. В дальнейшем (через 6 и 9 месяцев наблюдения) данный показатель не имел достоверной динамики, оставаясь на верхней границе нормы. В группе 2 через 3 месяца, на фоне улучшения контроля гликемии, концентрация PAI-1 достоверно уменьшилась, однако не достигла нормальных значений. Через 6 месяцев в группе 2, на фоне добавления

к терапии ЛИР, PAI-1 имел тенденцию к дальнейшему снижению, однако по-прежнему превышал нормальные значения. Через 9 месяцев наблюдения показатель не имел достоверной динамики (табл. 3).

Концентрация эндотелина-1 в группе 1, исходно не выходящая за пределы референсного интервала, через 3 месяца по-прежнему оставалась в пределах нормальных значений. Через 6 и 9 месяцев в группе 1 в целом данный показатель не претерпевал достоверных изменений. В то же время через 9 месяцев у 3 больных группы 1, имевших ухудшение гликемического профиля, наблюдалось достоверное нарастание концентрации эндотелина-1. У пациентов группы 2 через 3 месяца, на фоне улучшения контроля гликемии, произошло снижение уровня эндотелина-1, показатель достиг нормы и оставался в ее пределах в течение последующего времени исследования. Необходимо отметить, что через 9 месяцев концентрация эндотелина-1 не различалась, как у пациентов группы 2, имевших стойко удовлетворительный контроль гликемии, так и у 5 больных, у которых отмечалось ухудшение показателей углеводного обмена (табл. 4).

Известно, что СД 2-го типа является заболеванием, облигатно сопровождающимся нарушением функционального состояния сосудистого эндотелия. В то же время до сих пор не определено, какой вариант дисфункции эндотелия превалирует у данной категории больных, страдает преимущественно вазомоторная или гемостатическая функция.

Так, различными авторами были получены противоречивые сведения о взаимосвязи уровня эндотелина-1, как одного из ключевых вазоконстрикторных факторов, со степенью контроля гликемии, длительностью заболевания, наличием осложнений и сопутствующих заболеваний. J. G. Schneider et al. показали, что эндотелин-1 у пациентов с СД 1-го и 2-го типа выше, чем у здоровых людей. При этом авторы выявили слабую корреляцию между уровнем данного маркера и гликемическим контролем [15]. M. Vicente et al. не только показали, что уровень эндотелина-1 выше у больных с СД, по сравнению со здоровыми людьми, но также отметили, что у пациентов с СД, имевших проявления микроангиопатии, данный маркер был выше, чем у пациентов без проявлений микроангиопатии [17]. Показано, что концентрация эндотелина-1 коррелирует с выраженностью альбуминурии у больных СД 2-го типа [18].

В другом исследовании не было обнаружено различий в концентрации эндотелина-1 между больными СД 2-го типа и здоровыми лицами, однако у пациентов с СД 2-го типа и сопутствующими ишемическими повреждениями внутренних органов (облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей, хроническая ишемическая болезнь органов пищеварения) уровень эндотелина-1 был выше, чем у пациентов с СД 2-го типа без атеросклеротических проявлений. Авторами не было обнаруже-

Таблица 2

Динамика концентрации t-РА, нг/мл

Table 2

Dynamics of t-PA concentration, ng/ml

Группа	Исходно	Через 3 месяца	Через 6 месяцев	Через 9 месяцев
1-я	5,26 (3,39; 6,07)	3,0 (2,37; 5,05)**	3,29 (2,58; 4,43)	3,25 (2,08; 4,78)
2-я	5,16 (4,19; 7,7)	4,68 (2,77; 5,49)	4,2 (2,73; 6,35)	3,44 (2,81; 4,26)

Примечание: здесь и далее * – $p<0,05$ между группами 1 и 2; ** – $p<0,05$ по сравнению с предыдущим измерением.

но корреляции между концентрацией эндотелина-1 и уровнем HbA1C, глюкозы крови, индексом массы тела и возрастом. Полученные данные позволили предположить, что при СД 2-го типа эндотелин-1 не является ранним и чувствительным маркером сосудистого поражения. В то же время повышенный уровень эндотелина-1 может отражать наличие значимого, однако клинически не манифестного ишемического поражения органов [13]. В нашем исследовании мы выявили повышенный уровень эндотелина-1 у тех пациентов, которые в дальнейшем не достигли удовлетворительного контроля гликемии на фоне трехмесячной монотерапии МЕТ. В то же время концентрация эндотелина-1 у пациентов, имевших хороший ответ на монотерапию МЕТ, не отличалась от таковой у здоровых лиц. Мы не выявили корреляции между уровнем данного маркера дисфункции эндотелия и длительностью СД 2-го типа и/или контролем гликемии на момент начала исследования, что позволяет рассматривать его в качестве самостоятельного предиктора возможности или невозможности достижения эугликемии на фоне приема только МЕТ.

В ходе нашего исследования мы обнаружили, что концентрация эндотелина-1 находилась в пределах нормы в течение всего времени наблюдения у пациентов группы 1, имевших стойко удовлетворительный контроль гликемии. При этом у больных группы 1, с ухудшением гликемического профиля через 9 месяцев, уровень эндотелина-1 достоверно увеличился. Это позволило нам предположить, что МЕТ не обладает самостоятельным защитным действием в отношении вазомоторной функции эндотелия, и колебания эндотелина-1 происходят в зависимости от изменений гликемического профиля. В то же время добавление к терапии ЛИР в группе 2 привело к нормализации концентрации эндотелина-1, причем описанный эффект наблюдался как у пациентов, имевших положительную динамику в отношении контроля гликемии, так и у больных с ухудшением гликемического профиля через 9 месяцев наблюдения. Этот феномен свидетельствует в пользу наличия у ЛИР самостоятельного эндотелиопротективного действия, не связанного с влиянием препарата на углеводный обмен.

Помимо выявления нарушений вазомоторной функции эндотелия, нам удалось также обнаружить

Таблица 3				
Динамика концентрации PAI-1, нг/мл				
Table 3				
Dynamics of PAI-1 concentration, ng/ml				
Группа	Исходно	Через 3 месяца	Через 6 месяцев	Через 9 месяцев
1-я	48,79 (32,96; 96,2)	43,03 (27,75; 50,5)**	43,24 (29,29; 54,76)	44,71 (26,87; 51,29)
2-я	87,3 (75,75; 108,93)*	64,37 (45,94; 71,7)* **	52,74 (45,94; 68,12)*	57,66 (42,87; 60,48)

изменения в показателях гемостатической функции. Так, уровень PAI-1 превышал границы нормы у всех больных СД 2-го типа. Подобные результаты были описаны в ряде работ зарубежных авторов. Было показано, что активность PAI-1 выше у лиц с сочетанием СД 2-го типа и метаболического синдрома, а также у лиц с метаболическим синдромом без СД, по сравнению со здоровыми людьми [2]. Рядом авторов была выявлена корреляция между концентрацией PAI-1 и осложнениями СД. Так, концентрация PAI-1 была выше у пациентов с СД, имеющих микрососудистые осложнения, по сравнению с пациентами с СД без осложнений [1], и повышенный уровень PAI-1, наряду с повышенным систолическим артериальным давлением, длительностью СД, семейным анамнезом СД 2-го типа, был ассоциирован с терминальной стадией диабетической пролиферативной ретинопатии [19].

Нами обнаружен повышенный уровень PAI-1 у всех пациентов с СД 2-го типа, причем в исследовании не включались пациенты с тяжелыми осложнениями СД. Аналогично изменениям, описанным выше для эндотелина-1, уровень PAI-1 был выше у тех пациентов, которые не достигли через 3 месяца монотерапии МЕТ нормализации гликемического профиля. При этом концентрация PAI-1 в нашем исследовании не коррелировала ни с длительностью анамнеза СД, ни с уровнем HbA1C, что позволяет рассматривать данный маркер как второй самостоятельный предиктор невозможности достижения эугликемии на монотерапии МЕТ. Мы предполагаем, что обнаружение у пациентов с СД 2-го типа высоких концентраций эндотелина-1 и PAI-1 диктует необходимость не только ранней интенсификации сахароснижающей терапии, но также включения в нее препаратов, обладающих потенциальными эндотелиопротективными свойствами, какие были обнаруже-

Таблица 4					
Динамика концентрации эндотелина-1, пмоль/л					
Table 4					
Dynamics of endothelin-1 concentration, pmol/L					
Группа	Исходно	Через 3 месяца	Через 6 месяцев	Через 9 месяцев	
				динамика «+»	динамика «-»
1-я	0,74 (0,28; 1,23)	0,62 (0,3; 1,4)	0,29 (0,2; 0,91)	0,25 (0,18; 0,8)	0,32 (0,18; 0,49)**
2-я	2,14 (0,73; 3,23)*	0,49 (0,14; 1,07)**	0,38 (0,22; 0,7)	0,32 (0,11; 1,04)	0,19 (0,13; 0,76)

ны нами в отношении ЛИР. В ходе наблюдения PAI-1 снизился у пациентов как группы 1, так и группы 2. При этом уровень данного маркера достиг нормы в группе 1 и сохранялся повышенным в группе 2. Учитывая отсутствие выявленной корреляции PAI-1 непосредственно с концентрацией HbA1C, мы считаем, что нормализация описываемого маркера в группе 1 связана, прежде всего, с большей длительностью эугликемии и меньшей вариабельностью гликемии в этой группе. ЛИР не оказал положительного влияния на описываемый показатель. Концентрация t-PA на протяжении всего исследования находилась в пределах референсных значений, и достоверных различий между группами 1 и 2 выявлено не было.

Таким образом, мы предполагаем, что у больных СД 2-го типа гемостатическая функция эндотелия нарушается одновременно с вазомоторной. ЛИР значительно улучшает вазомоторную функцию, что не обусловлено его воздействием на углеводный обмен, в то же время достоверно не влияя на показатели гемостатической функции.

Выводы

СД 2-го типа характеризуется нарушением как вазомоторной, так и гемостатической функции эндотелия. Высокий уровень эндотелина-1 и PAI-1 у пациентов с СД 2-го типа может рассматриваться в качестве предикторов невозможности достижения удовлетворительного контроля гликемии на фоне монотерапии метформином, что требует ранней интенсификации сахароснижающей терапии с включением в нее препаратов, обладающих эндотелиопротективными свойствами. Улучшение контроля гликемии позволяет снизить выраженность дисфункции эндотелия. Лираглутид обладает самостоятельным защитным действием в отношении вазомоторной функции эндотелия, не связанным с его влиянием на гликемический профиль.

Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interests.

Литература / References

1. Adly AAM, Elbarbary NS, Ismail EAR et al. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: relation to diabetic microvascular complications and carotid intima media thickness. *J Diabetes Complications*. 2014;28(3):340-347. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2014.01.011.
2. Al-Hamodi Z, Ismail IS, Saif-Ali R et al. Association of plasminogen activator inhibitor-1 and tissue plasminogen activator with type 2 diabetes and metabolic syndrome in Malaysian subjects. *Cardiovasc Diabetol*. 2011; 18;10:23. doi: 10.1186/1475-2840-10-23.
3. Bao W, Aravindhan K, Alsaid H, et al. Albiglutide, a long lasting glucagon-like peptide-1 analog, protects the rat heart against ischemia/reperfusion injury: evidence for improving cardiac metabolic efficiency. *PLoS One*. 2011;6(8):e23570. doi: 10.1371/journal.pone.0023570.
4. Briyal S, Gulati A. Effect of liraglutide on oxidative stress and apoptosis in rats following focal cerebral ischemia. *Critical Care Medicine*. 2012;40(12):1-328. doi: 10.1097/01.ccm.0000424416.67430.bc.

5. Dokken BB, La Bonte LR, Davis-Gorman G, et al. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1), immediately prior to reperfusion, decreases neutrophil activation and reduces myocardial infarct size in rodents. *Horm Metab Res*. 2011;43(5):300-3005. doi: 10.1055/s-0031-1271777.

6. Gaspari T, Welungoda I, Widdop RE et al. The GLP-1 receptor agonist liraglutide inhibits progression of vascular disease via effects on atherogenesis, plaque stability and endothelial function in an ApoE^{-/-} mouse model. *Diab Vasc Dis Res*. 2013;10(4):353-60. doi: 10.1177/1479164113481817.

7. IDF Diabetes Atlas. 8-th edition. 2017. Available at: <http://www.diabetesatlas.org/across-the-globe.html> (accessed 15.03.2018).

8. Koska J. Incretins and preservation of endothelial function. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2012;10:295-308. doi: 10.2174/187152512803530289.

9. Li PC, Liu LF, Jou MJ et al. The GLP-1 receptor agonists exendin-4 and liraglutide alleviate oxidative stress and cognitive and micturition deficits induced by middle cerebral artery occlusion in diabetic mice. *BMC Neurosci*. 2016;17(1):37. doi:10.1186/s12868-016-0272-9.

10. Lonborg JL, Vejlsstrup N, Kelbæk H et al. Exenatide reduces reperfusion injury in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2012;33(12):1491-9. doi: 10.1093/eurheartj/ehs309.

11. Noyan-Ashraf MH, Momen MA, Ban K, et al. GLP-1R agonist liraglutide activates cytoprotective pathways and improves outcomes after experimental myocardial infarction in mice. *Diabetes*. 2009;58(4):975-983. doi: 10.2337/db08-1193.

12. Read PA, Khan FZ, Dutka DP. Cardioprotection against ischaemia induced by dobutamine stress using glucagon-like peptide-1 in patients with coronary artery disease. *Heart*. 2012;98(5):408-13. doi: 10.1136/hrt.2010.219345.

13. Sárman B, Tóth M, Somogyi A. Role of endothelin-1 in diabetes mellitus. *Diabetes/Metabolism Reviews*. 1998;14:171-175. doi: 10.1002/(SICI)1099-0895(199806)14:2.

14. Sato K, Kameda M, Yasuhara T et al. Neuroprotective effects of liraglutide for stroke model of rats. *Int J Mol Sci*. 2013;14(11):21513-21524. doi: 10.3390/ijms141121513.

15. Schneider JG, Tilly N, Hierl T et al. Elevated plasma endothelin-1 levels in diabetes mellitus. *Am J Hypertens*. 2002;15(11):967-972. doi: 10.1016/S0895-7061(02)03060-1.

16. Shiraki A, Oyama J, Komoda H et al. The glucagon-like peptide 1 analog liraglutide reduces TNF- α -induced oxidative stress and inflammation in endothelial cells. *Atherosclerosis*. 2012;221(2):375-382. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.12.039.

17. Vicente MRV, Alameda C, Becerra A et al. Relationship between endothelin-1 levels in diabetics with and without microangiopathy and control subjects. *Endocrine Abstracts*. 2013;32:431. doi: 10.1530/endoabs.32.P431.

18. Žeravica R, Ilincic B, Cabarkapa V et al. Plasma endothelin-1 levels and albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2008;80(2):299-304. doi: 10.1016/j.diabres.2007.12.024.

19. Zhong Z-L, Chen S. Plasma Plasminogen Activator Inhibitor-1 Is Associated with End-Stage Proliferative Diabetic Retinopathy in the Northern Chinese Han Population. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:350852. doi: 10.1155/2012/350852.

Информация об авторах

Симаненкова Анна Владимировна – аспирант, ассистент кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики с клиникой ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: annasimanenkova@mail.ru.

Макарова Марианна Николаевна – клинический ординатор по специальности «Эндокринология» кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики с клиникой ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: marian.inspiration@gmail.com.

Васина Любовь Васильевна – доктор медицинских наук, заведующая кафедрой биологической химии Научно-образовательного института биомедицины, старший научный сотрудник НИО микроциркуляции и метаболизма миокарда ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» МЗ РФ, e-mail: lubov.vasina@gmail.com.

Бутомо Мария Игоревна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением функциональной диагностики клиники НИИ сердечно-сосудистых заболеваний клиники научно-клинического исследовательского центра ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: mbutomo@mail.ru.

Дора Светлана Владимировна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики с клиникой ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: doras2001@mail.ru.

Шляхто Евгений Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики с клиникой ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» МЗ РФ, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» МЗ РФ, e-mail: eshlyakhto@spmu.rssi.ru.

Author information

Anna V. Simanenkova – MD, PhD student, assistant of faculty therapy department of Pavlov First Saint-Petersburg State medical university, e-mail: annasimanenkova@mail.ru.

Marianna N. Makarova – MD, clinical resident in endocrinology of faculty therapy department of Pavlov First Saint-Petersburg State medical university, e-mail: marian.inspiration@gmail.com.

Lubov V. Vasina – MD, PhD, head of the department of biological chemistry of Pavlov First Saint-Petersburg State medical university, senior researcher of the Laboratory of Myocardial Metabolism of Almazov National Medical Research Centre, e-mail: lubov.vasina@gmail.com.

Maria I. Butomo – MD, PhD, head of the department of functional diagnostics of the Research Institute of Cardiovascular diseases clinic of Pavlov First Saint-Petersburg State medical university, e-mail: mbutomo@mail.ru.

Svetlana V. Dora – MD, PhD, assistant of faculty therapy department of Pavlov First Saint-Petersburg State medical university, e-mail: doras2001@mail.ru.

Evgeny V. Shlyakhto – MD, PhD, professor, academician of Russian Academy of Sciences, head of faculty therapy department of Pavlov First Saint-Petersburg State medical university, director general of Almazov National Medical Research Centre, e-mail: eshlyakhto@spmu.rssi.ru.

УДК 616-092.9

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-64-70

РЫЖКОВ И. А., ЗАРЖЕЦКИЙ Ю. В.

Влияние циркуляторной и гемической гипоксии на микроциркуляцию в коже

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии», Москва, Россия

107031, Россия, Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

e-mail: riamed21@gmail.com

Статья поступила в редакцию 22.12.17; принята к печати 26.03.18

Резюме

Цель исследования. Установить особенности кожной микрогемодикуляции в условиях циркуляторной и гемической гипоксии.

Материал и методы. Эксперименты проведены на беспородных крысах под наркозом пентобарбиталом. Кровоток в коже уха крысы регистрировали методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). Этапы эксперимента: исход; острая кровопотеря (30 % от объема циркулирующей крови); реинфузия (в группе «Контроль» – аутогемотрансфузия, в группе «Гелофузин» – инфузия раствора модифицированного желатина); гемодилюция гелофузином. Определялись среднее значение кровотока (M , пф. ед.); максимальная (доминирующая) амплитуда колебаний кровотока ($A_{\max}$) и соответствующая ей частота ($F_{\max}$) в частотном диапазоне 0,01–0,4 Гц. Для оценки тяжести гипоксии использовали коэффициент доставки кислорода (D_tO_2) к исследуемому участку ткани.

Результаты. На постгеморрагическом этапе снижались M , АД, гематокрит (Ht), D_tO_2 и $F_{\max}$ наряду с увеличением $A_{\max}$. $F_{\max}$ из миогенного частотного диапазона в исходе смещалась в нейрогенный частотный диапазон. Выявлена корреляция между $A_{\max}$ и АД ($r=-0,38$; $p<0,05$). На реперфузионном этапе не наблюдалось межгрупповых различий по M , $F_{\max}$, $A_{\max}$, несмотря на более высокие значения АД, Ht и D_tO_2 в группе «Контроль». По сравнению с исходным состоянием на этапе «гемодилюция», на фоне низких величин Ht и D_tO_2 , значения M не отличались от исхода, при более низком АД; $A_{\max}$ оставалась на повышенном уровне, а $F_{\max}$ сместилась в миогенный диапазон и не отличалась от исхода.

Заключение. Как кровопотеря, так и гемодилюция сопровождаются увеличением амплитуды флуксуций. Механизмы стимуляции флуксуций различны: увеличение амплитуды флуксуций при циркуляторной гипоксии связано с нейрогенными, а при гемической гипоксии – с миогенными механизмами регуляции микрогемодикуляции. При кровопотере артериальная гипотензия является основным фактором, оказывающим активирующее влияние на амплитуду флуксуций.

Ключевые слова: кожный кровоток, микроциркуляция, лазерная доплеровская флоуметрия, вейвет-анализ, гипоксия

Для цитирования: Рыжков И. А., Заржецкий Ю. В. Влияние циркуляторной и гемической гипоксии на микроциркуляцию в коже. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(2):66–72. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-64-70

УДК 616-092.9

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-64-70

RYZHKOVA I. A., ZARZHETSKY Yu. V.

Influence of circulatory and hemic hypoxia on cutaneous microcirculation

V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation

107031, Russia, Moscow, Petrovka street, 25, build. 2

e-mail: riamed21@gmail.com

Received 22.12.17; accepted 26.03.18.

Summary

Objective. To establish the features of cutaneous microhemocirculation in conditions of circulatory and hemic hypoxia.

Material and methods. Experiments were carried out on outbred rats, anesthetized by pentobarbital. Blood flow in the skin of the rat ear was recorded by laser Doppler flowmetry (LDF). Stages of the experiment: baseline; acute blood loss (30 % of estimated blood volume); reinfusion (autohemotransfusion in «control» group and infusion of modified gelatin solution in «Gelofusin» group); hemodilution with Gelofusin. The following parameters were analyzed: the mean value of blood flow (M , PU); the maximum (dominant) amplitude of blood flow oscillations ($A_{\max}$) and the corresponding frequency ($F_{\max}$) in the frequency band 0.01–0.4 Hz. The coefficient of oxygen delivery to the tissue site under investigation (D_tO_2) was used to assess the severity of hypoxia.

Results. At the posthemorrhagic stage M , blood pressure (BP), hematocrit (Ht), D_tO_2 and $F_{\max}$ decreased along with an increase in $A_{\max}$. $F_{\max}$ shifted from the myogenic frequency band at the baseline into the neurogenic band. A correlation was

found between $A_{\max}$ and BP ($r=-0,38$; $p<0,05$). At the reperfusion stage, there was no intergroup difference in M, $F_{\max}$, $A_{\max}$, despite the higher values of BP, Ht and D_tO_2 in the «control» group. In comparison with the baseline At the «hemodilution» stage the values of M did not differ from the baseline against the background of lower values of Ht, D_tO_2 and BP; $A_{\max}$ remained elevated, and $F_{\max}$ shifted into the myogenic band and did not differ from the baseline.

Conclusion. Both blood loss and hemodilution are associated with an increase in the amplitude of fluxmotion. Mechanisms of fluxmotion stimulation are different: increasing the amplitude of fluxmotion in circulatory hypoxia is associated with the neurogenic regulatory mechanisms of microhemocirculation, while in hemic hypoxia it is associated with the myogenic mechanisms. Arterial hypotension is the main factor increasing the amplitude of fluxmotion during blood loss.

Key words: cutaneous blood flow; microcirculation; laser Doppler flowmetry; wavelet-analysis, hypoxia

For citation: Ryzhkov I. A., Zarzhetsky Yu. V. Influence of circulatory and hemic hypoxia on cutaneous microcirculation. Regional hemodynamics and microcirculation. 2018;17(2):66–72. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-64-70

Введение

Нарушения микроциркуляции, возникающие при тяжелой острой кровопотере, являются одним из ключевых патогенетических факторов развития гипоксии и дисфункции органов [5]. На ранних стадиях острой кровопотери развивается преимущественно *циркуляторная гипоксия* вследствие гиповолемии, вазоконстрикции и гипоперфузии тканей. В последующем на фоне аутогемодилюции и инфузионной терапии развивается постгеморрагическая анемия, снижается кислородная емкость крови, и большое значение приобретает уже *гемическая гипоксия*.

С развитием новых научных технологий появилась возможность более тщательного изучения колебательных процессов на уровне микроциркуляторного русла. *Флоумоции* (от англ. «flowmotion», они же *флаксмоции*) – ритмические колебания кровотока в микрососудах, которые во многом обусловлены *вазомоциями* (от англ. «vasomotion») – ритмическими колебаниями диаметра микрососудов. Флаксмоции и вазомоции широко представлены во многих органах и тканях разных биологических видов, однако их физиологические механизмы и функциональное значение для организма изучены недостаточно [6, 8, 11]. Флаксмоции значительно усиливаются при ряде метаболических нарушений (ацидоз, гипоксия) и гипотензии, в том числе вызванных острой кровопотерей [7, 17, 18]. Есть данные, что активация вазомоций и флаксмоций может приводить к улучшению перфузии в условиях гипоперфузии. Однако эти заключения сделаны по большей части на основании теоретического моделирования [9, 10].

Есть единичные работы, указывающие на стимулирующее действие разных типов гипоксии (артериальная гипотензия, нормоволемическая гемодилюция, гипоксемия) на вазомоции/флаксмоции [11, 14]. Однако в доступной литературе мы не нашли работ, посвященных изучению сравнительных аспектов влияния разных типов гипоксии на амплитудно-частотные характеристики флаксмоций при острой кровопотере и гемодилюции.

Цель экспериментального исследования: установить особенности кожной микрогемодикуляции в условиях циркуляторной и гемической гипоксии.

Материал и методы исследования

Эксперименты проведены на 29 беспородных крысах-самцах массой 300–400 г под наркозом (пентобарбитал 45 мг/кг внутривенно), в условиях спонтанного дыхания и температуры окружающей среды 20–22 °С.

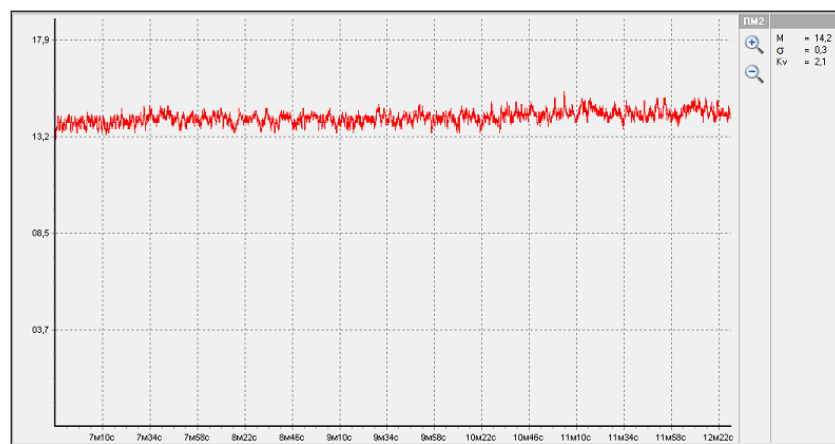
Для измерения среднего артериального давления (АД), забора/реинфузии крови и введения инфузионных сред катетеризировалась хвостовая артерия.

Кровоток в коже крысы регистрировали методом *лазерной доплеровской флоуметрии* (ЛДФ). В результате компьютерной обработки отраженного от тканей светового сигнала формируется показатель микроциркуляции (ПМ), соответствующий уровню перфузии исследуемого объема ткани (около 1 мм³) в единицу времени и измеряемый в относительных перфузионных единицах (пф. ед.). Используя вейвлет-преобразование, выявляли гармонические составляющие ЛДФ-граммы, отражающие колебания ПМ во времени [19]. Спектральное разложение ЛДФ-граммы дает возможность определить амплитудно-частотные характеристики колебаний кровотока (*флаксмоций*) на микроциркуляторном уровне. В частотно-амплитудном спектре ЛДФ-граммы выявляли максимальную амплитуду флаксмоций в 3-х частотных диапазонах, границы которых определяются природой конкретного механизма регуляции микроциркуляции, а максимальная амплитуда отражает активность данного механизма [3]. Среди механизмов регуляции микрогемодикуляции различают активные и пассивные факторы. Активные факторы модуляции кровотока – это *эндотелиальный, нейрогенный и собственно мио-генный* механизмы регуляции просвета сосудов. У лабораторных животных для каждого из приведенных механизмов регуляции кровотока (в коже) характерными диапазонами частот являются следующие: эндотелиальный – 0,01–0,04 Гц, нейрогенный – 0,04–0,15 Гц, миогенный – 0,15–0,4 Гц [12].

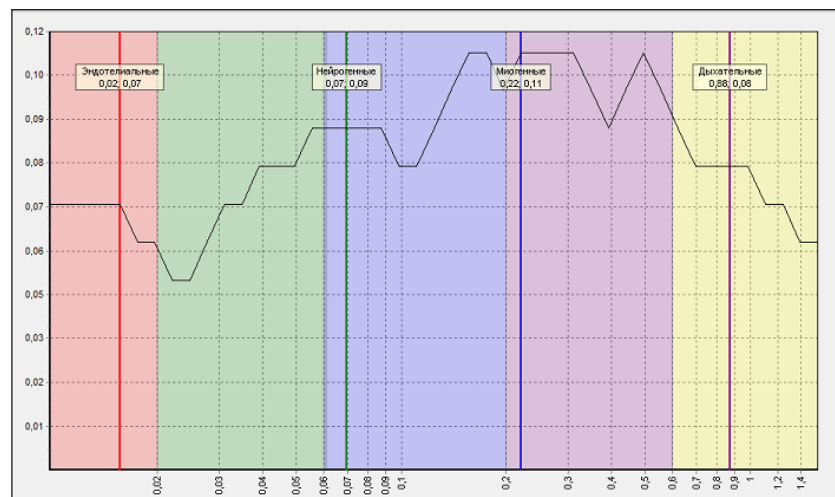
Продолжительность записи ЛДФ-граммы на каждом из этапов эксперимента составляла не менее 6 мин. При наличии артефактов выделялись фрагменты ЛДФ-граммы длительностью не менее 4 мин. При анализе каждой ЛДФ-граммы определялись следующие параметры: *среднее значение ПМ* за время регистрации ЛДФ (М, пф. ед.); выделялась максимальная амплитуда колебаний кровотока ($A_{\max}$) и соответствующая ей частота ($F_{\max}$) в общем частотном диапазоне 0,01–0,4 Гц.

Проводился забор проб артериальной крови для определения газового состава, гематокрита (Ht) и концентрации гемоглобина (Hb) на анализаторе i-STAT («Эбботт Поинт оф Кеа Инк.», США) в объеме 0,2 мл (картридж CG8+).

Крыса фиксировалась на плоской платформе в положении на спине. Световой зонд аппарата ЛАКК-02 (НПП «ЛАЗМА», Москва, Россия) устанавливали над внутренней поверхностью правого уха с минималь-



а



б

Рис. 1. ЛДФ-грамма кровотока в коже уха крысы (а) и ее вейвлет-анализ (б) в исходном состоянии: а – по горизонтальной оси – время, мин и с; по вертикальной оси – показатель микроциркуляции, пф. ед.; б – по горизонтальной оси – частота флаксмоций, Гц; по вертикальной оси – амплитуда флаксмоций, пф. ед.

Fig. 1. LDF-gram of blood flow in the skin of the rat ear (a) and its wavelet analysis (б) at the baseline: а – the abscissa – time, minute (m) and seconds (c); the ordinate – the index of perfusion (IP), perfusion units (PU); б – the abscissa – fluxmotion's frequency, Hz; the ordinate – fluxmotion's amplitude, perfusion units (PU)

ным зазором, по возможности, избегая попадания в область регистрации кровотока крупных сосудов.

Этапы эксперимента

I. Исходное состояние.

II. Кровопотеря. Использовалась модель острой фиксированной по объему кровопотери. Расчетный ОЦК для крысы – 6,5 % от массы тела [2]. Целевой объем кровопотери: 30 % от ОЦК. Кровь забиралась шприцем, содержащим 0,5 мл раствора гепарина 50 ЕД/мл, тремя равными порциями в течение 1 мин с интервалом в 5 мин: «кровопотеря 1» – 10 % от ОЦК, «кровопотеря 2» – 20 % от ОЦК, «кровопотеря 3» – 30 % от ОЦК.

III. Постгеморрагический этап (15 мин).

IV. Реинфузия (12 мин). На данном этапе животные разделялись на две группы. Животным 1-й (контрольной) группы проводилась реинфузия всей забранной крови тремя равными порциями (1-я, 6-я и 12-я мин). Животным 2-й группы («Гелофузин») производилась инфузия 4 %-го раствора модифицированного жидкого желатина («Гелофузин» Б. Браун Медикал АГ, Швейцария) в объеме, соответствующем объему забранной ранее крови, тремя равными порциями (1-я, 6-я и 12-я мин). Отметим, что при проведении первых экспериментов для достижения гемодилюции мы использовали раствор NaCl 0,9 %. Однако у этих животных (n=2) на этапах «реперфузия» и «гемодилюция» отмечалась выраженная гемодинамическая нестабильность с постоянными колебаниями АД и средней величины кро-

Таблица 1

Изменения исследуемых параметров в процессе кровопотери [Me (25 %; 75 %)]

Table 1

Changes in the studied parameters during blood loss [Me (25 %; 75 %)]

Этап кровопотери	М, пф. ед.	$F_{\max}$, Гц	$A_{\max}$, пф. ед.	АД, мм рт. ст.	Ht, %	D_tO_2
Исходное состояние	12,0 11,1; 14,5 (n=29)	0,13 0,06; 0,22 (n=29)	0,14 0,11; 0,15 (n=29)	112 103; 118 (n=29)	38 37; 39 (n=29)	196 163; 240 (n=29)
Кровопотеря 2 (20 % ОЦК)	6,1* ⁺ 4,9; 7,7 (n=29)	0,07* ⁺ 0,05; 0,08 (n=22)	0,18* ⁺ 0,11; 0,29 (n=22)	48* ⁺ 40; 64 (n=29)	32* ⁺ 31; 35 (n=7)	97* ⁺ 84; 119 (n=7)
Постгеморрагический этап (30 % ОЦК)	5,3* ⁺ 3,0; 7,5 (n=29)	0,06* ⁺ 0,05; 0,07 (n=29)	0,35* ⁺ 0,19; 0,62 (n=29)	36* ⁺ 32; 43 (n=29)	30* ⁺ 28; 32 (n=27)	71* ⁺ 44; 100 (n=26)

Примечание: М – среднее значение показателя микроциркуляции (ПМ) за время регистрации ЛДФ в коже уха, пф. ед.; $A_{\max}$ – максимальная амплитуда флаксмоций, пф. ед.; $F_{\max}$ – частота, соответствующая $A_{\max}$, Гц; Ht – гематокрит артериальной крови, %; D_tO_2 – коэффициент доставки кислорода к исследуемому участку ткани (пф. ед. · г/дл); * – $p \leq 0,05$ по сравнению с тем же показателем в исходном состоянии; + – $p \leq 0,05$ по сравнению с тем же показателем на предыдущем этапе исследования.

вотока. В связи с чем было принято решение использовать для этих целей коллоидный раствор. Выбор пал на Гелофузин как плазмозамещающий препарат для достижения нормоволемической гемодилюции и обладающий хорошим профилем безопасности в отношении гемостаза [1].

V. Реперфузионный этап (15 мин).

VI. Процедура достижения гемодилюции (10 мин). Забиралась кровь в объеме 10 % от ОЦК, после чего в эквивалентном объеме вводился Гелофузин. Такая процедура выполнялась 3–5 раз в зависимости от уровня АД и общего состояния животного. Целью данной процедуры было дополнительное снижение показателей Hb и Ht у лабораторного животного при условии относительной нормоволемии.

VII. Этап гемодилюции (15 мин). Для количественной оценки тяжести гипоксии на разных этапах эксперимента мы использовали коэффициент доставки кислорода (D_tO_2) к исследуемому участку ткани. Расчет его производился на основании общепринятого подхода к оценке системного транспорта кислорода [4], однако вместо сердечного выброса в формулу вводилась величина M, значения которой пропорциональны перфузии исследуемого органа:

$D_tO_2 = M \cdot 134 \cdot Hb \cdot S_aO_2$ (пф. ед. · г/дл), где M – среднее значение ПМ за время регистрации ЛДФ, пф. ед.; Hb – концентрация гемоглобина в крови исследуемого животного, г/дл; S_aO_2 – кислородное насыщение гемоглобина артериальной крови, в долях единицы.

Статистическую обработку данных проводили в программе «Statistica 7.0». Для оценки достоверности различий соответствующих показателей между группами использовали критерий U Вилкоксона–Манна–Уитни, изменения показателя внутри группы – парный критерий T Вилкоксона. Различия считались достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$. Анализируемые величины представлены в виде Me (25 %; 75 %).

Результаты исследования и их обсуждение

До этапа «реинфузия» животные не различались по схеме проведения эксперимента, поэтому для оценки динамики исследуемых показателей на более ранних этапах животные были сведены в одну общую группу. На рис. 1 приведен пример ЛДФ-граммы кровотока в коже уха крысы в исходном состоянии и ее вейвлет-анализ.

По мере углубления гиповолемии наблюдалось последовательное снижение кровотока (M), АД, гематокрита, D_tO_2 и F_{max} наряду с увеличением A_{max} (табл. 1). ЛДФ-грамма на данном этапе характеризовалась появлением

медленных высокоамплитудных колебаний кровотока (рис. 2).

На постгеморрагическом этапе одновременно с увеличением A_{max} произошло снижение показателей, каждый из которых способен оказать влияние на изменение амплитуды флуксуций: кровотока, АД и D_tO_2 . Поэтому для выявления фактора, связанного с повышением A_{max} , был проведен корреляционный анализ между перечисленными выше показателями. Оказалось, что лишь между A_{max} и АД величина коэффициента корреляции достоверно отличалась от нуля ($p < 0,05$) и составила $r = -0,38$. Таким образом, было установлено, что именно артериальная гипотензия является фактором, оказывающим стимулирующее влияние на амплитуду флуксуций.

Для изучения влияния типа гипоксии на флуксуции были проведены эксперименты с возмещением кровопотери плазмозаменителем гелофузином. На реперфузионном этапе в группе гелофузина произошло увеличение кровотока до исходного уровня. При этом величины АД не достигали исходных значений. Уровень Ht ожидаемо снизился по сравнению с постгеморрагическим этапом, в связи с чем величины

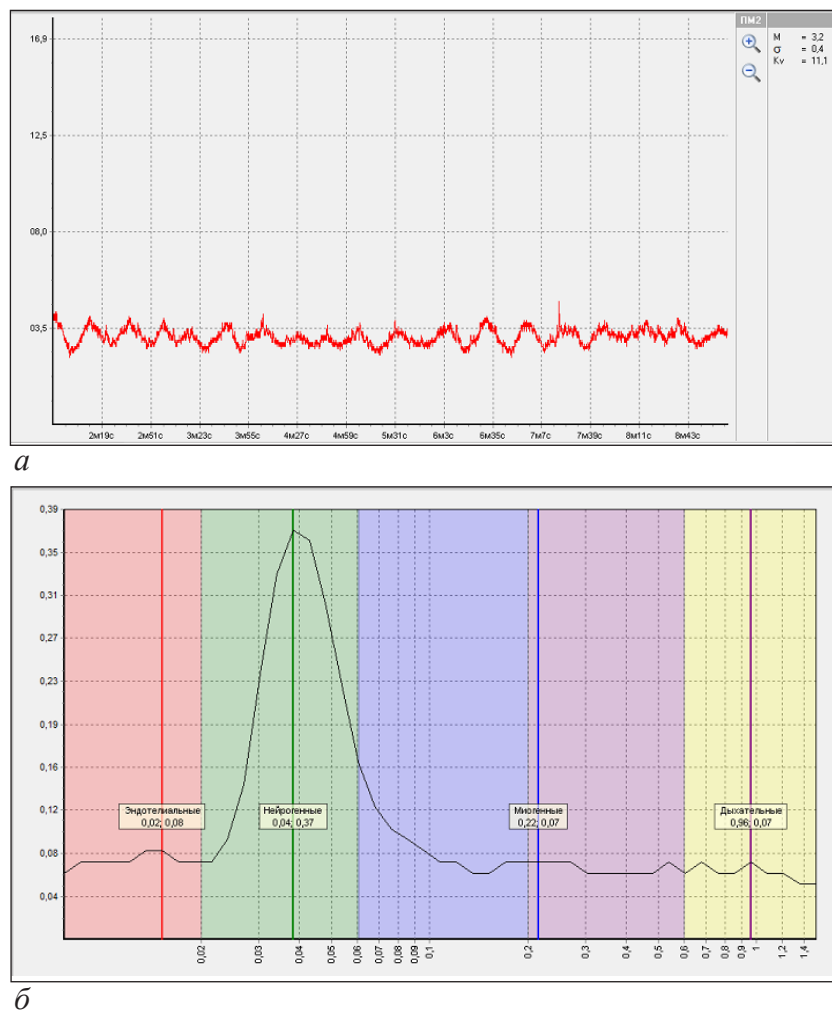


Рис. 2. ЛДФ-грамма кровотока в коже уха крысы (а) и ее вейвлет-анализ (б) на постгеморрагическом этапе эксперимента (циркуляторная гипоксия)

Fig. 2. LDF-gram of blood flow in the skin of the rat ear (a) and its wavelet analysis (б) at posthemorrhagic stage of the experiment (circulatory hypoxia)

Таблица 2

Изменения исследуемых показателей в группе «Гелофузин» и при реинфузии аутокровью [Me (25 %; 75 %)]

Table 2

Changes in the studied parameters in the group «Gelofusin» and after autohemotransfusion [Me (25 %; 75 %)]

Этап эксперимента	M, пф. ед.	F _{max} , Гц	A _{max} , пф. ед.	АД, мм рт. ст.	Ht, %	D _t O ₂
Исходное состояние	11,4 9,7; 14,2 (n=18)	0,14 0,06; 0,25 (n=18)	0,12 0,11; 0,15 (n=18)	111 104; 117 (n=18)	38 37; 39 (n=17)	190 156; 205 (n=17)
«Кровопотеря 2» (20 % ОЦК)	5,3* 3,3; 6,3 (n=18)	0,07* 0,06; 0,08 (n=12)	0,22* 0,12; 0,39 (n=12)	46,5* 40; 58 (n=18)	33* 32; 35 (n=6)	94* 84; 98 (n=6)
Постгеморрагический этап (30 % ОЦК)	5,0* + 2,9; 6,3 (n=18)	0,06* + 0,05; 0,07 (n=18)	0,36* + 0,18; 0,72 (n=18)	33* + 32; 35 (n=18)	30* + 28; 30 (n=15)	61* + 38; 83 (n=15)
Реперфузионный этап (Гелофузин)	13,6+ 10,0; 15,3 (n=18)	0,1 0,02; 0,24 (n=17)	0,17* + 0,12; 0,21 (n=17)	85,5* + 80; 100 (n=18)	23* + 20; 24 (n=17)	116* + 93; 155 (n=17)
Реперфузионный этап (реинфузия аутокрови)	12,4+ 9,6; 21,0 (n=8)	0,18+ 0,03; 0,23 (n=8)	0,16+ 0,12; 0,19 (n=8)	105+ # 102; 116 (n=8)	34,5+ # 33; 36,5 (n=8)	173+ # 124; 353 (n=7)
Этап гемодилюции	12,8** 11,0; 14,5 (n=18)	0,2** 0,12; 0,26 (n=17)	0,14* 0,14; 0,20 (n=17)	88,5* ** 80; 90 (n=18)	19* + ** 18; 20 (n=15)	114* + 66; 122 (n=15)

Примечание: * – $p \leq 0,05$ по сравнению с тем же показателем в исходном состоянии; + – $p \leq 0,05$ по сравнению с тем же показателем на предыдущем этапе исследования; ** – $p \leq 0,05$ по сравнению тем же показателем на этапе исследования «Кровопотеря 2»; # – $p \leq 0,05$ по сравнению с реперфузионным этапом в группе «Гелофузин».

D_tO₂ были существенным образом ниже исходных значений этого показателя. A_{max} снизилась по сравнению с предыдущим этапом исследования (постгеморрагическим), однако оставалась выше исходных величин этого показателя, в то время как значения F_{max} не отличались от исходных величин (табл. 2).

Следует отметить, что различий между исследуемыми показателями микрогемодилюции (M, F_{max}, A_{max}) в группе с реперфузией аутокровью и в группе с реперфузией Гелофузином не наблюдалось, несмотря на более высокие значения АД, Ht и D_tO₂ в контрольной группе по сравнению с группой Гелофузина (табл. 2).

На этапе гемодилюции по сравнению с предыдущим этапом исследования наблюдалось дальнейшее снижение Ht и D_tO₂. Однако при этом кровоток, АД и A_{max} не изменились, а F_{max} не отличалась от исходной величины этого показателя (табл. 2). На рис. 3 приведен пример ЛДФ-граммы и ее вейвлет-анализа на этапе гемодилюции.

Сравнительный анализ между этапом «кровопотеря 2» и этапом гемодилюции показал, что животные на этих этапах не различались по показателю D_tO₂, что указывало на одинаковый уровень транспорта кислорода через исследуемый участок ткани. При этом оказалось, что при одинаково повышенных значениях A_{max} по сравнению с исходным состоянием F_{max} после потери 20 % ОЦК имели существенно более низкие величины, чем на этапе гемодилюции (табл. 2). Итак, при развитии гипоксического состояния, вызванного как кровопотерей, так и последующей нормоволемической гемодилюцией, происходит увеличение максимальной амплитуды флуксуций.

Однако при кровопотере ее частота снижается по сравнению с исходной, в то время как при гемодилюции – не отличается от исходных величин этого показателя.

С целью выяснения влияния флуксуций на уровень кровотока на постгеморрагическом этапе были выделены две подгруппы в зависимости от значений A_{max}. В одну подгруппу вошли эксперименты, в которых A_{max} не превышали верхнюю границу нижнего квартиля, а в другую подгруппу – эксперименты, в которых величины A_{max} были равны или превышали нижнюю границу верхнего квартиля. Оказалось, что кровоток и D_tO₂ в подгруппе с низкими величинами A_{max} были меньше, чем в подгруппе с высокими значениями A_{max}. Более того, АД в подгруппе с высокой амплитудой флуксуций было ниже (в виде тенденции, $p < 0,1$) по сравнению с АД в подгруппе с низкой амплитудой флуксуций (табл. 3). Полученные результаты явились прямым экспериментальным доказательством стимулирующего влияния флуксуций на кровоток и подтвердили важную роль АД в активации флуксуций при острой кровопотере.

Амплитуда флуксуций существенным образом зависит от уровня вазомоторики и степени синхронизации колебаний диаметра микрососудов исследуемого участка ткани. Как показали результаты настоящего исследования, развитие критического состояния вследствие острой кровопотери на микроциркуляторном уровне характеризовалось повышением амплитуды флуксуций (увеличение A_{max}) и их замедлением (снижение F_{max}). При этом значение медианы F_{max} из миогенного частотного диапазона в исходном

состоянии сместилось в нейрогенный частотный диапазон (рис. 2). Данное обстоятельство указывает на то, что нейрогенная регуляция сосудистого тонуса не только обеспечивает кожную вазоконстрикцию при острой кровопотере, но и лежит в основе феномена усиления синхронизации флуксуций в узком частотном диапазоне, что согласуется с ранее проведенными исследованиями [7, 15, 16]. Механизм синхронизации вазомоций при кровопотере, возможно, связан с изменением импульсной активности в нервных волокнах, иннервирующих артериолы данного участка ткани.

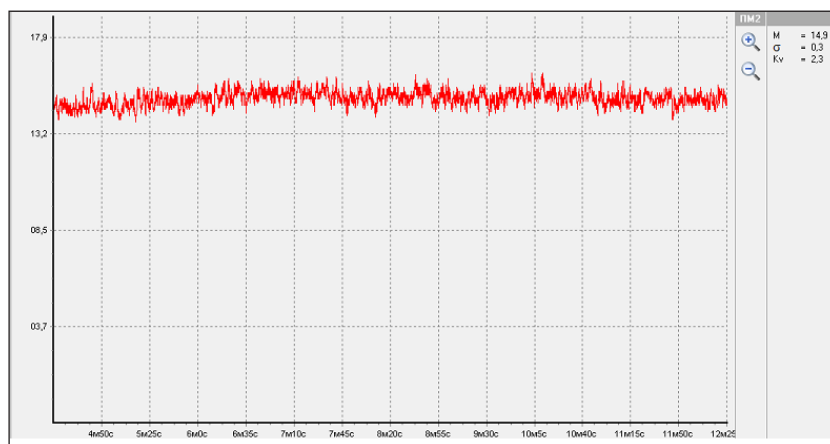
Работы, посвященные изучению функционального значения вазомоций и флуксуций, в основном связаны с моделированием исследуемых процессов, приведших авторов к заключению о том, что вазомоции способствуют увеличению кровотока. Сочетание более высокого кровотока с более низким АД в подгруппе с $A_{\max} \geq 0,62$ пф. ед. по сравнению с животными с низкой амплитудой флуксуций позволило высказать предположение о более низком сосудистом сопротивлении в исследуемом участке кожи у крыс с высокой амплитудой флуксуций. Это предположение подтверждается данными литературы о том, что активация вазомоций ведет к уменьшению сопротивления сосудов [13].

Снижение H_t по мере нарастания кровопотери, по-видимому, является проявлением компенсаторно-приспособительной реакции (аутогемодилюции), направленной на восстановление утраченного объема циркулирующей плазмы. В основе ее лежит мобилизация жидкости из интерстициального пространства в сосудистое русло вследствие изменения соотношения сил Старлинга. Примечательным в данном исследовании оказалось существенное снижение H_t уже на самых ранних этапах острой кровопотери, что указывает на достаточно высокую скорость развития аутогемодилюции в этих условиях.

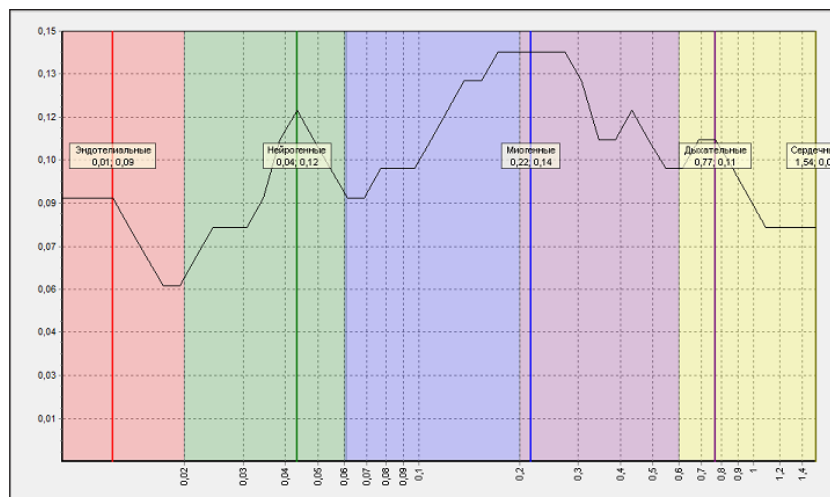
Выводы

1. Увеличение максимальной амплитуды флуксуций по сравнению с исходным состоянием происходит во время гипоксии, вызванной как кровопотерей, так и гемодилюцией.

2. Частота максимальной амплитуды флуксуций при кровопотери снижается по сравнению с исходным состоянием, в то время как при гемо-



а



б

Рис. 3. ЛДФ-грамма кровотока в коже уха крысы (а) и ее вейвлет-анализ (б) на этапе гемодилюции (гемическая гипоксия)

Fig. 3. LDF-gram of blood flow in the skin of the rat ear (а) and its wavelet analysis (б) at hemodilution stage of the experiment (hemic hypoxia)

дилюции не отличается от исходных величин этого показателя, что указывает на существование различ-

Таблица 3

Величины кровотока (М), АД и коэффициента доставки O_2 в исследуемый участок ткани ($D_t O_2$) в подгруппах, составляющих нижний (n=8) и верхний (n=8) квартили максимальных амплитуд флуксуций ($A_{\max}$) на постгеморрагическом этапе [Me (25 %; 75 %)]

Table 3

The blood flow (M), blood pressure and the coefficient of oxygen delivery to the tissue site under investigation ($D_t O_2$) in the subgroups of animals constituting the lower (n=8) and upper (n=8) quartiles of the maximum amplitudes of fluxmotion ($A_{\max}$) in the posthemorrhagic stage [Me (25 %; 75 %)]

Показатель	М, пф. ед.	АД, мм рт. ст.	$D_t O_2$, пф. ед. · г/дл
$A_{\max}^?$ входящие в Q_{25} ($A_{\max}^? \leq 0,19$ пф. ед.)	4,2 (3,0; 5,9)	41 (38; 47)	62 (42; 80)
$A_{\max}^?$ входящие в Q_{75} ($A_{\max}^? \geq 0,62$ пф. ед.)	7,7 (5,7; 7,9) *	33 (30,5; 40,5) +	87 (69; 113) *

Примечание: * – $p \leq 0,05$ по сравнению с тем же показателем в подгруппе Q_{25} ; + – $p \leq 0,1$ по сравнению с тем же показателем в подгруппе Q_{25} .

ных механизмов стимуляции флуксуций во время циркуляторной и гемической гипоксии.

3. Увеличение амплитуды флуксуций при циркуляторной гипоксии связано с нейрогенными, а при гемической гипоксии – с миогенными механизмами регуляции микрогемоциркуляции.

4. В условиях тяжелой кровопотери, наряду с существенным уменьшением кожного кровотока, транспорта кислорода в ткани, именно низкий уровень АД является основным фактором, оказывающим стимулирующее влияние на амплитуду флуксуций.

5. Флуксуции оказывают стимулирующее влияние на кровоток в условиях тяжелой острой кровопотери.

Литература

1. Израйлян Л. А., Лубнин А. Ю. Эффективность и безопасность применения 6% гидроксипропилированного крахмала 130/0,4 и 4% модифицированного жидкого желатина у нейрохирургических больных в условиях массивной интраоперационной кровопотери // *Анестезиол. и реаниматол.* – 2010. – № 4. – С. 50–54. [Israyelyan LA, Lubnin AYU. Effektivnost' i bezopasnost' primeneniya 6% gidroksietilirovannogo krakhmala 130/0,4 i 4% modifitsirovannogo zhidkogo zhelatina u neyrokhirurgicheskikh bol'nykh v usloviyakh massivnoy intraoperatsionnoy krvopoteri. *Anesteziologiya i reanimatologiya.* 2010;(4):50-54. (In Russ)].

2. Каркищенко Н. Н., Грачев С. В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. – М.: Профиль – 2С, 2010. [Karkishchenko NN, Grachev SV. *Rukovodstvo po laboratornym zhivotnym i al'ternativnym modelyam v biomeditsinskikh issledovaniyakh.* Moscow: Profil' – 2S; 2010. (In Russ)].

3. Крупаткин А. И. Колебания кровотока – новый диагностический язык в исследовании микроциркуляции // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* – 2014. – Т. 13. – № 1. – С. 83–99. [Krupatkin AI. Kolebaniya krovotoka – novyy diagnosticheskiy yazyk v issledovanii mikrotsirkulyatsii. *Regionarnoye krovoobrashcheniye i mikrotsirkulyatsiya.* 2014;13(1):83-99. (In Russ)].

4. Марино П. Л. Интенсивная терапия / пер. с англ. под общ. ред. А. П. Зильбера. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. [Marino PL. *Intensivnaya terapiya. Per. s angl. pod obshch. red. A.P. Zil'bera.* Moscow: GEOTAR-Media; 2010. (In Russ)].

5. Мороз В. В., Рыжков И. А. Острая кровопотеря: регионарный кровоток и микроциркуляция: обзор. Ч. I // *Общая реаниматол.* – 2016. – Т. 12. – № 2. – С. 66–89. doi: 10.15360/1813-9779-2016-2-56-65. [Moroz VV, Ryzhkov IA. *Acute Blood Loss: Regional Blood Flow and Microcirculation (Review, Part I).* *General Reanimatology.* 2016;12(2):66-89. (In Russ)].

6. Мороз В. В., Рыжков И. А. Острая кровопотеря: регионарный кровоток и микроциркуляция: обзор. Ч. II // *Общая реаниматол.* – 2016. – Т. 12. – № 5. – С. 65–94. doi: 10.15360/1813-9779-2016-5-65-94. [Moroz VV, Ryzhkov IA. *Acute Blood Loss: Regional Blood Flow and Microcirculation (Review, Part II).* *General Reanimatology.* 2016;12(5):65-94. (In Russ)].

7. Рыжков И. А., Новодержкина И. С., Заржецкий Ю. В. Сравнительные аспекты регуляции кожной и мозговой микроциркуляции при острой кровопотере // *Общая реаниматол.* – 2017. – Т. 13. – № 6. – С. 18–27. doi: 10.15360/1813-9779-2017-6-18-27. [Ryzhkov IA, Zarzhetsky YV, Novoderzhkina IS. *Comparative Aspects of the Regulation of Cutaneous and Cerebral Microcirculation During Acute Blood Loss.* *General Reanimatology.* 2017;13(6):18-27. (In Russ)].

8. Aalkjaer C, Boedtker D, Matchkov V. Vasomotion – what is currently thought? *Acta Physiol. (Oxf).* 2011;202(3):253-269. doi: 10.1111/j.1748-1716.2011.02320.x.

9. Goldman D, Popel AS. A computational study of the effect of vasomotion on oxygen transport from capillary networks. *J. Theor. Biol.* 2001;209(2):189-199.

10. Iida N. Effects of vasomotion and venous pressure elevation on capillary-tissue fluid exchange across heteroporous membrane. *Biorheology.* 1990;27(2):205-224.

11. Intaglietta M. Vasomotion and flowmotion: physiological mechanisms and clinical evidence. *Vasc Med.* 1990;(1):101–112. doi: 10.1177/1358836X9000100202.

12. Li Z, Tam EW, Kwan MP, Mak AF, Lo SC, Leung MC. Effects of prolonged surface pressure on the skin blood flowmotions in anaesthetized rats—an assessment by spectral analysis of laser Doppler flowmetry signals. *Phys. Med. Biol.* 2006;51(10):2681-2694. doi: 10.1088/0031-9155/51/10/020.

13. Meyer C, de Vries G, Davidge ST, Mayes DC. Reassessing the mathematical modeling of the contribution of vasomotion to vascular resistance. *J. Appl. Physiol.* 2002;(92):888–889. doi: 10.1152/jappl.2002.92.2.888.

14. Mirhashemi S, Messmer K, Arfors KE, Intaglietta M. Microcirculatory effects of normovolemic hemodilution in skeletal muscle. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1987;6(4):359-369.

15. Sakurai T, Terui N. Effects of sympathetically induced vasomotion on tissue-capillary fluid exchange. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2006;291(4):1761-1767. doi: 10.1152/ajpheart.00280.2006.

16. Schmidt JA, Borgström P, Intaglietta M. Neurogenic modulation of periodic hemodynamics in rabbit skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 1993;75(3):1216-1221. doi: 10.1152/jappl.1993.75.3.1216.

17. Schmidt JA, Breit GA, Borgström P, Intaglietta M. Induced periodic hemodynamics in skeletal muscle of anesthetized rabbits, studied with multiple laser Doppler flow probes. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1995; 15(1):28-36. doi: 10.1159/000178946.

18. Schmidt-Lucke C, Borgström P, Schmidt-Lucke JA. Low frequency flowmotion/(vasomotion) during pathophysiological conditions. *Life Sci.* 2002;71(23): 2713-2728. doi: 10.1016/s0024-3205(02)02110-0.

19. Stefanovska A, Bracic M, Kvernmo HD. Wavelet analysis of oscillations in the peripheral blood circulation measured by laser Doppler technique. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1999; 46(10):1230-1239. doi: 10.1109/10.790500.

Информация об авторах

Рыжков Иван Александрович – научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии критических состояний НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКИЦ РР, e-mail: riamed21@gmail.com.

Заржецкий Юрий Витальевич – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии критических состояний НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКИЦ РР, e-mail: zarzhetsky.yur@yandex.ru.

Author information

Ivan A. Ryzhkov – researcher, laboratory of Clinical Pathophysiology of critical states, V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation, e-mail: riamed21@gmail.com.

Yuri V. Zarzhetsky – doctor of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Clinical Pathophysiology of critical states, V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation, e-mail: riamed21@gmail.com.

УДК 616-092.9

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-71-77

КУРКИН Д. В., БАКУЛИН Д. А., ВОЛОТОВА Е. В.,
ЛОГВИНОВА Е. О., АВДИЕНКО К. А., ТЮРЕНКОВ И. Н.

Влияние комбинации агониста рецептора GPR119 с метформином и ситаглиптином на мозговой кровоток, функциональное состояние эндотелия и уровень липидов у животных, содержащихся в условиях высокожировой и калорийной диеты

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Волгоград, Россия
400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1
e-mail: strannik986@mail.ru

Статья поступила в редакцию 25.01.18; принята к печати 26.02.18

Резюме

Проведено изучение влияния агониста GPR119 (ZB-16) в комбинации с метформином или ситаглиптином на уровень липидов и эндотелиальную функцию у животных, содержащихся в условиях высокожировой диеты в течение 12 недель. В опытных группах средняя масса в условиях диеты увеличилась незначительно (ZB-16 и ZB-16+ситаглиптин), либо уменьшилась (метформин и ZB-16+метформин –3,3 и –9,7 % соответственно) и была значимо ниже по сравнению с контрольной (+22,8 %) ($p<0,05$). Во всех опытных группах изменения липидного спектра были менее выраженными по сравнению с контрольной. Эндотелийзависимая вазодилатация и вазоконстрикция в опытных группах была сопоставима и значимо превышала показатели в группе без лечения ($p<0,05$). Несмотря на содержание в условиях высокожировой диеты в группах, получавших гипогликемическую терапию, уровень мозгового кровотока и параметры функционального состояния эндотелия были сопоставимы с таковыми в интактной группе.

Ключевые слова: GPR119, метформин, ситаглиптин, ожирение, эндотелий, крысы

Для цитирования: Куркин Д. В., Бакулин Д. А., Волотова Е. В., Логвинова Е. О., Авдиенко К. А., Тюренков И. Н. Влияние комбинации агониста рецептора GPR119 с метформином и ситаглиптином на мозговой кровоток, функциональное состояние эндотелия и уровень липидов у животных, содержащихся в условиях высокожировой и калорийной диеты. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(2):73–79. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-71-77

UDC 616-092.9

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-71-77

KURKIN D. V., BAKULIN D. A., VOLOTOVA E. V.,
LOGVINOVA E. O., AVDIENKO K. A., TYURENKOV I. N.

Influence of novel GPR119 agonist in combination with metformin and sitagliptin on lipid profile and endothelial function in rats fed a high-fat diet

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Volgograd State Medical University», Volgograd, Russia
400131, Russian Federation, Volgograd, Pl. Pavshikh Bortsov Square, 1
e-mail: strannik986@mail.ru

Received 25.01.18; accepted 26.02.18.

Summary

Aim. Study the influence of novel GPR119 agonist in combination with metformin and sitagliptin on lipid profile and endothelial function in rats fed a high-fat diet.

Methods and Results. The study was carried out on female rats with an initial weight of 305–320 g. For 12 weeks, rats fed a high-fat diet, and simultaneously started treatment with GPR119 receptor agonist – ZB-16, metformin and sitagliptin or its combinations. After 12 weeks rats were weighed and lipid profile, cerebral blood flow and endothelial function were evaluated.

Preventive administration of GPR119 agonist in combination with metformin and sitagliptin prevents weight gain, reduces the severity of lipid metabolism disorders and restores the endothelial function in rats fed a high-fat diet ($p < 0.05$).

Keywords: GPR119, metformin, sitagliptin, obesity, dyslipidemia, endothelial dysfunction

For citation: Kurkin D. V., Bakulin D. A., Volotova E. V., Logvinova E. O., Avdienko K. A., Tyurenkov I. N. Influence of novel GPR119 agonist in combination with metformin and sitagliptin on lipid profile and endothelial function in rats fed a high-fat diet. Regional hemodynamics and microcirculation. 2018; 17(2): 73–79. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-71-77

Введение

Избыточный вес, ожирение и эндотелиальная дисфункция являются неотъемлемыми спутниками и ведущей причиной сердечно-сосудистых осложнений практически у всех пациентов с диагнозом сахарный диабет (СД) 2-го типа [3, 5].

В современных рекомендациях по лечению СД для пациентов с сопутствующим ожирением в дебюте заболевания отмечено предпочтительное назначение гипогликемических препаратов, которые снижают массу тела (агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1) и ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа) и корректируют нарушения липидного обмена (бигуаниды) [4]. По ряду исследований, некоторые препараты данных групп снижают риск развития сердечно-сосудистых осложнений СД и проявляют прямое эндотелиопротекторное действие [2, 8, 16].

Значительное внимание последние годы привлекает система инкретинов, секреция и/или активность которых снижается по мере прогрессирования СД 2-го типа и ожирения, а их экзогенное введение или подавление физиологической деградации обеспечивают эффективное и безопасное поддержание нормогликемии, способствуют снижению выраженности эндотелиальной дисфункции, а для некоторых препаратов (лираглутид) доказана способность снижать риск развития сердечно-сосудистых осложнений СД [1, 8].

В то же время наиболее эффективные препараты, обладающие инкретинзависимым механизмом действия, а именно – агонисты рецепторов ГПП-1, являются дорогостоящими, используются только в инъекционной лекарственной форме, что делает их малодоступными для большинства пациентов и снижает приверженность к лечению. Ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4) имеют меньшую стоимость и более удобны в применении, но их эффективность, выраженность плеiotропных эффектов уступают препаратам из группы агонистов рецепторов ГПП-1.

Повышение секреции ГПП-1 и ГИП (глюкозозависимый инсулиноотропный полипептид) рассматривается как новый подход к фармакологической регуляции работы системы инкретинов, а соединения, стимулирующие их секрецию (агонисты рецептора GPR119), позиционируются как средства для моно- и комбинированной терапии СД 2-го типа [14]. Учитывая ведущую роль эндотелиальной дисфункции в развитии сердечно-сосудистых осложнений СД, для целенаправленного поиска препаратов, снижающих риск осложнений, целесообразно на стадии экспериментальных исследований проводить оценку эндотелиопротекторного потенциала новых соединений.

В предыдущих работах было показано, что селективный агонист GPR119, соединение ZB-16 (ЗАО

«ИИХР», г. Химки, Россия) обладает выраженной гипогликемической активностью и способствует снижению массы тела животных в условиях высокожировой и калорийной диеты [7, 9]. Данное соединение является перспективным для разработки на его основе препарата для лечения СД 2-го типа в моно- и комбинированной терапии. Поскольку, с учетом имеющихся клинических данных и теоретических предпосылок, наиболее целесообразными препаратами-кандидатами для создания рациональных комбинаций с агонистами GPR119 являются метформин [10] и ингибиторы ДПП-4 [12], в данной работе была проведена оценка гипогликемического и эндотелиопротекторного действия ZB-16 в комбинации с метформином и ситаглиптином.

Цель исследования – изучить влияние агониста рецептора GPR119 – соединения ZB-16 – в комбинации с метформином или ситаглиптином на массу тела, липидный профиль и функциональное состояние эндотелия у животных, содержащихся в условиях высокожировой и калорийной диеты в течение 12 недель.

Материал и методы исследования

Исследование выполнено на беспородных крысах-самках возрастом 7–8 месяцев и начальным весом 305–320 г (ФГУП «Питомник лабораторных животных "РАППОЛОВО"», Ленинградская обл., Россия). Крысы содержались по 4 особи в клетках площадью 1612 см². Экспериментальная часть работы выполнена в соответствии с заключением Регионального независимого этического комитета (ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр»), протокол № 191-2014 от 25 февраля 2014 г.

В течение 12 недель животные содержались на высокожировой и калорийной диете [7]. Питьевая вода на протяжении всего эксперимента заменялась 10 %-м раствором фруктозы [6]. За 6 ч до взятия проб крови крыс лишали корма, а раствор фруктозы заменяли водой. Животные интактной группы получали стандартный рацион вивария – брикетированный корм ГОСТ Р 51849-2001 (ООО «Лабораторкорм», Москва, Россия).

В качестве референтных препаратов и для комбинированного введения были выбраны препараты метформин (бигуаниды) и ситаглиптин (ингибиторы ДПП-4). Препараты данных групп рекомендованы для лечения СД 2-го типа в начале заболевания, а также для комбинированной терапии. Метформин рекомендован для пациентов с сопутствующим ожирением, способствует снижению дислипидемии [4] и выраженности эндотелиальной дисфункции [2], а ингибиторы ДПП-4 способны повышать эффективность агонистов GPR119, замедляя разрушение инкретинов [12]. Доза ZB-16 (1 мг/кг) выбрана как наиболее эффективная по результатам предыдущих

исследований, а дозы метформина и ситаглиптина – на основании литературных данных [11, 13].

Соединение ZB-16, препараты сравнения и их комбинации вводились животным с первого дня диеты перорально через зонд в виде водных суспензий, приготовленных *ex tempore*, из расчета 0,5 мл/100 г массы животного.

Было сформировано 7 экспериментальных групп (n=8): 1) «Интакт» (гранулированный корм ГОСТ Р51849-2001); 2) «Диета + вода» (0,5 мл/100 г); 3) «Диета + ZB-16» (1 мг/кг); 4) «Диета + метформин» (400 мг/кг); 5) «Диета + ZB-16» (1 мг/кг) + метформин (400 мг/кг); 6) «Диета + ситаглиптин» (10 мг/кг); 7) «Диета + ZB-16 (1 мг/кг) + ситаглиптин» (10 мг/кг).

Сформированные группы изначально соответствовали друг другу по средней массе животных, которая фиксировалась до и через 12 недель после перевода крыс на диету. Мозговой кровоток регистрировался у наркотизированных животных (хлоралгидрат 400 мг/кг, в/б) без вскрытия черепа, через истонченную теменную кость в проекции бассейна средней мозговой артерии с использованием полиграфа MP150 и модуля для лазер-доплеровской флоуметрии LDF100C (Biopac Systems, США). Функциональное состояние эндотелия определялось по изменению скорости мозгового кровотока в ответ на введение в хвостовую вену модификаторов синтеза оксида азота: ацетилхолин 0,001 мг/кг (Sigma Aldrich, США) и L-NAME 10 мг/кг (Sigma Aldrich, США).

Для дополнительной оценки выраженности эндотелиальной дисфункции проводился подсчет числа циркулирующих в крови десквамированных эндотелиоцитов. После центрифугирования (10 мин при 200 g) и осаждения в плазме тромбоцитов добавлением АДФ, подсчет клеток проводили в 2 сетках камеры Горяева, методом фазово-контрастной микроскопии, полученный результат умножали на $10^4/\text{л}$ [18].

Концентрацию общего холестерина ($\text{ХС}_{\text{общ}}$), триглицеридов (ТГ), липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) определяли в плазме крови при использовании соответствующих наборов («Витал-Диагностикс», Россия). Липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) рассчитывали по формуле

$$\text{ЛПНП} = \text{ХС}_{\text{общ}} - \text{ЛПВП} - \text{ТГ}/5 \text{ (мг/дл)}.$$

Индекс дислипидемии (ИД) рассчитывали по формуле

$$\text{ИД} = \text{ХС}_{\text{общ}} / \text{ЛПВП}.$$

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с использованием «Prism 6». Для проверки нормальности распределения использовали критерий Шапиро–Уилка. В зависимости от типа распределения использовали непараметрические (критерии Краскела–Уоллиса и Дана) и параметрические методы статистического анализа (дисперсионный анализ и критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони). Данные представлены в виде медианы с указанием 25-го и 75-го квартилей (диаграммы размаха). Значения $p < 0,05$ расценивались как статистически значимые.

Результаты исследования и их обсуждение

В контрольной группе после 12 недель диеты средняя масса животных увеличилась на 22,8 %

и была достоверно выше ($p < 0,05$) по сравнению с интактной (рис. 1, а). В опытной группе, на фоне введения агониста GPR119, прирост массы тела был незначительным (+2,9 %), а в группе, получавшей метформин и комбинацию ZB-16 с метформином, масса тела уменьшилась соответственно на 3,3 и 9,7 % (рис. 1, а). В группе, получавшей ситаглиптин, наблюдался незначимо меньший, по сравнению с контрольной, прирост массы тела (+11,7 %), однако введение его в комбинации с соединением ZB-16 приводило к значимому ограничению набора веса по сравнению с контрольной группой (+0,6 %).

Через 12 недель диеты изменения липидного спектра в контрольной группе по сравнению с интактной заключались в значимом повышении содержания общего холестерина и ЛПНП, а также снижении уровня ЛПВП в плазме ($p < 0,05$) (рис. 1, б–д). У крыс, которым на протяжении 12 недель вводили ZB-16, препараты сравнения и их комбинации уровень холестерина, триглицеридов, ЛПНП был статистически значимо ниже, а ЛПВП – выше, чем в группе негативного контроля ($p < 0,05$) (рис. 1, б–д). Дислипидемический индекс у животных, получавших лечение, был также ниже ($p < 0,05$) значений контрольной группы (рис. 1, е).

У животных контрольной группы через 12 недель диеты наблюдалась тенденция к снижению скорости мозгового кровотока ($p = 0,07$), при этом во всех опытных группах мозговой кровоток был на уровне интактной группы (рис. 2, а).

На следующем этапе исследования оценивались выраженность эндотелийзависимых реакций сосудов по изменению скорости мозгового кровотока при внутривенном введении модификаторов синтеза оксида азота. В контрольной группе наблюдалось значимое уменьшение выраженности эндотелийзависимых реакций, отражающих снижение стимулированной (уменьшение реакции на введение ацетилхолина) и базальной (уменьшение реакции на введение L-NAME) продукции оксида азота ($p < 0,05$) (рис. 2, в). При этом во всех опытных группах, получавших лечение, выраженность эндотелийзависимых реакций сосудов головного мозга была на сопоставимом с интактной группой уровне. Число десквамированных эндотелиоцитов незначимо повышалось у контрольных животных ($p = 0,09$), однако в группах, получавших комбинированную терапию, данный показатель был значимо ниже ($p < 0,05$) (рис. 2, б).

Распространение метаболических заболеваний в значительной мере обусловлено потреблением высококалорийных продуктов со снижением физической активности. Развитие СД 2-го типа сопровождается формированием эндотелиальной дисфункции, которая возникает вследствие гипергликемии, а в сочетании с дислипидемией приводит к развитию атеросклероза, микро- и макроангиопатий. Эффективная профилактика эндотелиальной дисфункции и дислипидемии является ключевым звеном в снижении риска развития сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с СД 2-го типа.

Не все применяющиеся гипогликемические препараты способны снижать массу тела, улучшать

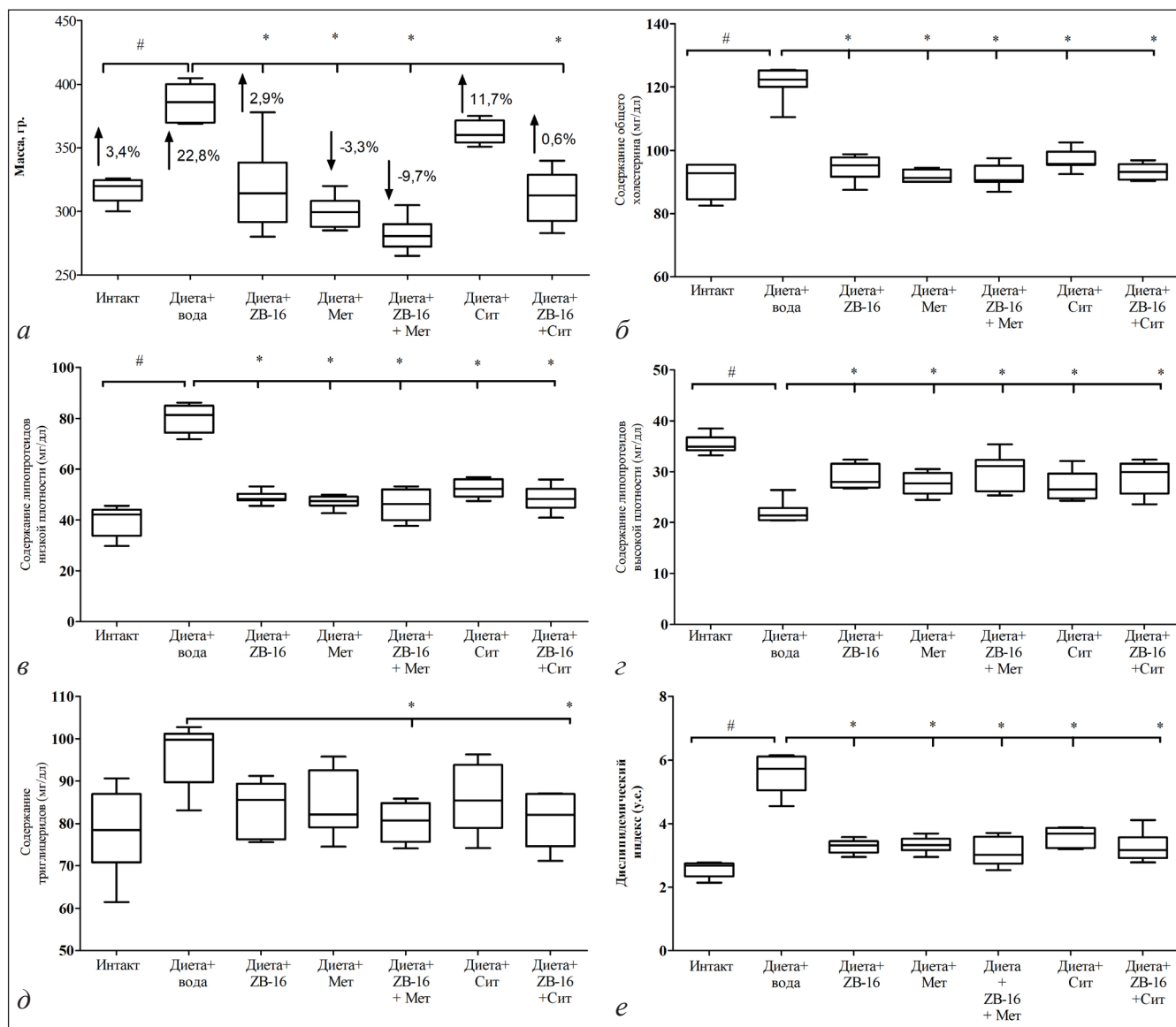


Рис. 1. Масса тела (а), содержание общего холестерина (б), ЛПНП (в), ЛПВП (г), триглицеридов (д) в плазме и дислипидемический индекс (е) у животных, содержащихся 12 недель в условиях высокожировой и калорийной диеты: # – различия достоверны по отношению к группе «Интакт» при $p < 0,05$; * – различия достоверны по отношению к группе «Диета+вода» при $p < 0,05$; стрелками показаны изменения средней массы животных за 12 недель диеты (%)

Fig. 1. Body weight (а), total cholesterol (б), LDL (в), HDL (г), triglyceride (д) content in plasma, and dyslipidemic index (е) in rats fed a high-fat diet: # – differences are significant in relation to the “Intact” group at $p < 0.05$; * – differences are significant in relation to the group “Diet+placebo” at $p < 0.05$; The arrows indicate changes in the average weight of animals over 12 weeks of diet (%)

липидный профиль и оказывать эндотелиопозитивное действие, что необходимо учитывать при выборе препаратов или их комбинаций. Необходимо отметить, что часто лекарственная терапия назначается пациентам не в начале заболевания, а в более поздний период, когда появляется выраженная клиническая симптоматика на фоне развивающейся эндотелиальной дисфункции. При этом раннее начало лечения и использование рациональных комбинаций позволяют значительно снизить риск развития сердечно-сосудистых осложнений [4].

Развитие метаболических нарушений сопровождается дефектами в системе инкретинов, устранение которых является перспективным подходом при лечении метаболических заболеваний, в том числе СД 2-го типа и ожирения. Согласно клиническим

рекомендациям от 2017 г. [4], гипогликемическим препаратам с инкретиновой активностью отдается приоритет при монотерапии СД 2-го типа в дебюте заболевания и для комбинированной терапии с низким риском гипогликемии.

Использование агонистов GPR119 является одним из подходов в фармакологической регуляции секреции инкретинов. Для многих соединений данной группы установлен ряд плеiotропных эффектов, потенциально полезных при лечении метаболических заболеваний. Способность снижать массу тела в эксперименте отмечена для некоторых агонистов GPR119 (PSN632408, PSN821 и GSK2041706) [15], при этом комбинированное введение одного из агонистов с метформином, при терапии ожирения в эксперименте, значительно повышало эффективность препаратов [10].

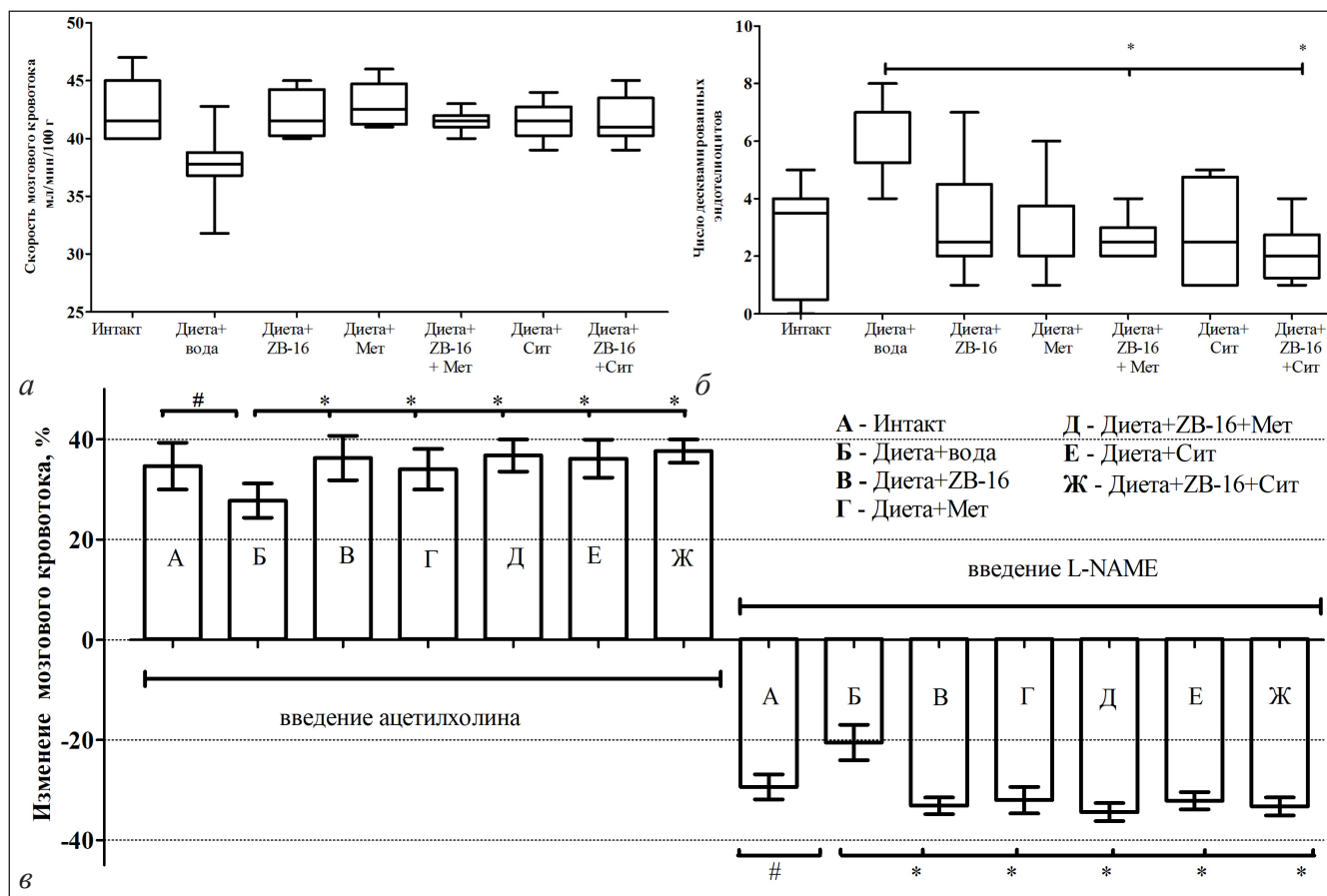


Рис. 2. Мозговой кровоток (а), число десквамированных эндотелиоцитов (б) и изменения мозгового кровотока при введении модификаторов синтеза оксида азота (в) у животных, содержавшихся в условиях высокожировой и калорийной диеты: # – различия достоверны по отношению к группе «Интакт» при $p < 0,05$; * – различия достоверны по отношению к группе «Диета+вода» при $p < 0,05$

Fig. 2. Cerebral blood flow level (a), the number of circulating (desquamated) endotheliocytes (б) and changes in cerebral blood flow after acetylcholine and L-NAME (nitric oxide synthesis modifiers) intravenous injections (в) in rats fed a high-fat diet: # – differences are significant in relation to the «Intact» group at $p < 0.05$; * – differences are significant in relation to the group «Diet+placebo» at $p < 0.05$

Противодиабетические свойства ZB-16 имеют инкретинопосредованную природу. Ранее установлено, что ZB-16 более чем в 2 раза увеличивало базальную и стимулированную введением глюкозы секрецию ГПП-1, что сопровождалось повышением концентрации инсулина и снижением уровня глюкозы у животных с экспериментальным СД [17].

В предыдущем исследовании с использованием высокожировой и калорийной пищи соединение ZB-16 начали вводить после 12 недель диеты, когда масса тела животных повысилась в среднем на 18 %. Введение агониста GPR119 приводило к снижению массы тела и незначительному снижению количества потребляемой пищи [7]. В представленном исследовании терапия начиналась одновременно с переводом животных на диету, и было выявлено, что соединение ZB-16, метформин и, более выраженно, комбинация с ZB-16+метформин предупреждают увеличение массы тела (которая либо не изменилась, либо уменьшилась) и значимо снижают потребление пищи (неопубликованные данные), что, вероятно, связано с характерным для исследуемого соединения и препаратов сравнения влиянием на аппетит и метаболизм углеводов, при этом во всех опытных группах наблюдалась нормализация липидного профиля.

Отсутствие значимых различий между вариантами проводимой терапии может быть следствием нескольких факторов: соединение ZB-16, референтные препараты и их комбинации в данном исследовании были сопоставимы по эффективности при длительности диеты 12 недель, а более продолжительное исследование позволит выявить более эффективный вариант терапии; ZB-16 и референтные препараты, при различных механизмах действия, сопоставимо влияют на липидный профиль и состояние эндотелия у животных в условиях высокожировой и калорийной диеты.

Нарушение эндотелийзависимой вазодилатации у животных контрольной группы позволяет предполагать снижение стимулированной и базальной продукции оксида азота, что может быть следствием уменьшения активности эндотелиальной нитрооксидсинтазы. Учитывая отсутствие статистически значимых различий в скорости локального мозгового кровотока и концентрации циркулирующих эндотелиоцитов в крови у животных интактной и контрольной групп, можно предположить, что содержание молодых животных в условиях высокожировой и калорийной диеты в течение 12 недель не привело к выраженным проявлениям эндотелиальной дисфунк-

ции, признаки которой были выявлены при проведении провокационных проб. При этом у животных всех опытных групп, получавших терапию с началом диеты, уровень мозгового кровотока и выраженность эндотелийзависимых реакций были на сопоставимом с интактной группой уровне.

Заключение

В условиях высокожировой и калорийной диеты увеличение массы тела и нарушение липидного профиля сопровождаются начальными проявлениями эндотелиальной дисфункции. Введение метформина, ZB-16 и его комбинации с метформином и ситаглиптином препятствует набору массы тела. Во всех группах, получавших терапию, наблюдалось снижение выраженности нарушений липидного обмена, а функциональное состояние эндотелия было на сопоставимом уровне с интактной группой.

Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interests.

Литература / References

1. Галстян Г. Р., Каратаева Е. А., Юдович Е. А. Эволюция агонистов рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 в терапии сахарного диабета 2 типа // Сахарный диабет. – 2017. – Т. 20. – № 4. – С. 286–298. doi: 10.14341/dm8804. [Galstyan GR, Karataeva EA, Yudovich EA. Evolution of glucagon-like peptide-1 receptor agonists for type 2 diabetes treatment. *Diabetes mellitus*. 2017;20(4):286-298. (In Russ)].
2. Дегтярь Н. И., Герасименко Н. Д., Расин М. С. Эндотелий и системное воспаление: роль ядерных транскрипционных факторов и терапевтические возможности (обзор литературы) // Артериальная гипертензия. – 2016. – № 4 (48). – С. 21–25. doi: 10.22141/2224-1485.4.48.2016.76991. [Degtyar NI, Gerasimenko ND, Rasin MS. Endothelium and systemic inflammation: role of nuclear transcription factors and therapeutic possibilities (literature review). *Hypertension*. 2016;(4):21-25. (In Russ)].
3. Дедов И. И., Концевая А. В., Шестакова М. В. и др. Экономические затраты на сахарный диабет 2 типа и его основные сердечно-сосудистые осложнения в Российской Федерации // Сахарный диабет. – 2016. – № 6. – С. 518–526. doi: 10.14341/DM8153. [Dedov II, Kontsevaya AV, Shestakova MV. Economic evaluation of type 2 diabetes mellitus burden and its main cardiovascular complications in the Russian Federation. *Diabetes Mellitus*. 2016;19(6):518-527. (In Russ)].
4. Дедов И. И., Шестакова М. В., Майоров А. Ю. и др. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / под ред. И. И. Дедова, М. В. Шестаковой, А. Ю. Майорова. – 8-й вып. // Сахарный диабет. – 2017. – Т. 20. – № 1S. – С. 1–121. [Dedov II, Shestakova MV, Mayorov AY, et al. Standards of specialized diabetes care. Edited by Dedov II, Shestakova MV, Mayorov AY. 8th edition. *Diabetes mellitus*. 2017;20(1S):1-212. (In Russ)]. doi: 10.14341/dm20171s8.
5. Могильницкая Л. А., Маньковский Б. Н. Повышение уровня эндотелиального моноцитактивирующего пептида-II в сыворотке крови больных артериальной гипертензией в сочетании с сахарным диабетом 2-го типа и ожирением // Ожирение и метаболизм. – 2016. – Т. 13. – № 3. – С. 49–53. doi: 10.14341/omet2016349-53. [Mogilynitska LA, Mankovsky

BN. An elevated serum level of endothelial monocyte activating polypeptide-II in patients with arterial hypertension with and without type 2 diabetes and obesity // *Obesity and metabolism*. 2016;13(3):49-53. (In Russ)].

6. Решетняк М. В., Хирмаков В. Н., Зыбина Н. Н. и др. Модель метаболического синдрома, вызванного кормлением фруктозой: патологические взаимосвязи обменных нарушений. // Медицинский академический журнал. – 2011. – Т. 11. – №3 – С. 23–27. [Reshetnyak MV, Khirmanov VN, Zybina NN, et al. Fructose-fed model of the metabolic syndrome: pathogenetic relationships between metabolic disorders. *Meditinskii akademicheskii zhurnal*. 2011;11(3):23-27. (In Russ)].

7. Тюренков И. Н., Куркин Д. В., Бакулин Д. А. и др. Влияние агониста рецептора GPR119 на уровень глюкозы, массу тела и потребление пищи у животных с ожирением, обусловленным высокожировой и углеводной диетой. // Проблемы эндокринологии. – 2016. – Т. 62. – № 1. – С. 44–49. doi: 10.14341/probl201662144-49. [Tiurenkov IN, Kurkin DV, Bakulin DA, et al. The influence of novel GPR119 agonist on body weight, food intake and glucose metabolism in obesity rats provoked high-fat and -carbohydrate diet. *Problemy Endocrinologii*. 2016;62(1):44-49. (In Russ)].

8. Кардиоваскулярные эффекты инкретиномиметиков и их терапевтический потенциал / И. Н. Тюренков, Д. А. Бакулин, Д. В. Куркин, Е. В. Волотова // Вестн. Росс. акад. мед. наук. – 2017. – Т. 72. – № 1. – С. 66–75. doi: 10.15690/vramn732. [Tiurenkov IN, Kurkin DV, Bakulin DA, Volotova EV. Cardiovascular effects of incretin-based therapies and their therapeutic potential. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2017;72(1):66-75. (In Russ)].

9. Тюренков И. Н., Куркин Д. В., Бакулин Д. А. и др. Сравнение гипогликемической активности нового агониста GPR119 и ингибитора ДПП-4 ситаглиптина // Проблемы эндокринологии. – 2016. – Т. 62. – № 1. – С. 38–43. doi: 10.14341/probl201662138-43. [Tiurenkov IN, Kurkin DV, Bakulin DA, et al. Comparing hypoglycemic activity of novel GPR119 agonist and DPP-4 inhibitor sitagliptin. *Problemy Endocrinologii*. 2016;62(1):38-43. (In Russ)].

10. Al-Barazanji K, McNulty J, Binz J et al. Synergistic Effects of a GPR119 Agonist with Metformin on Weight Loss in Diet-Induced Obese Mice. *J Pharmacol Exp Ther*. 2015;353(3):496-504. doi: 10.1124/jpet.115.222828.

11. Ismail TA, Soliman MM, Nassan MA. Molecular and immunohistochemical effects of metformin in a rat model of type 2 diabetes mellitus. *Exp Ther Med*. 2015;9(5):1921-1930. doi: 10.3892/etm.2015.2354.

12. Park YH., Choi HH., Lee DH. et al. YH18421, a novel GPR119 agonist exerts sustained glucose lowering and weight loss in diabetic mouse model. *Arch Pharm Res*. 2017;40(6):772-782. doi: 10.1007/s12272-017-0925-y.

13. Poucher SM, Cheetham S, Francis J et al. Effects of saxagliptin and sitagliptin on glycaemic control and pancreatic beta-cell mass in a streptozotocin-induced mouse model of type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2012;14(10):918-926. doi: 10.1111/j.1463-1326.2012.01619.x.

14. Ritter K, Buning C, Halland N et al. G protein-coupled receptor 119 (GPR119) agonists for the treatment of diabetes: recent progress and prevailing challenges. *J Med Chem*. 2016;59(8):3579-3592. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01198.

15. Shah U, Edmondson S, Szewczyk JW. Recent Advances in the Discovery of GPR119 Agonists. In: Jones RM, editors. *New Therapeutic Strategies for Type 2 Diabetes*. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2012. p. 177–214. doi: 10.1039/9781849735322-00177.

16. Shigiyama F, Kumashiro N, Miyagi M et al. Effectiveness of dapagliflozin on vascular endothelial function and glycemic

control in patients with early-stage type 2 diabetes mellitus: DEFENCE study. *Cardiovasc Diabetol.* 2017;16(1):84. doi: 10.1186/s12933-017-0564-0.

17. Tyurenkov IN, Kurkin DV, Bakulin DA et al. ZB-16, a novel GPR119 agonist, relieves the severity of streptozotocin–nicotinamide induced diabetes in rats. *Frontiers in Endocrinology.* 2017. Vol. 8. № JULY. P. 1-8. doi: 10.3389/fendo.2017.00152.

18. Wu H, Chen H, Hu PC. Circulating endothelial cells and endothelial progenitors as surrogate biomarkers in vascular dysfunction. *Clin Lab.* 2007;53(5-6):285-295.

Информация об авторах

Куркин Денис Владимирович – кандидат фармацевтических наук, старший научный сотрудник лаборатории сердечно-сосудистых средств НИИ фармакологии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», e-mail: strannik986@mail.ru.

Бакулин Дмитрий Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории сердечно-сосудистых средств НИИ Фармакологии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», e-mail: mbfdoc@gmail.com.

Волотова Елена Владимировна – доктор медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и биофармации ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», e-mail: ev.volotova@gmail.com.

Логвинова Екатерина Олеговна – соискатель кафедры фармакологии и биофармации ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», e-mail: life-d@mail.ru.

Авдиенко Ксения Андреевна – студент-исследователь ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», e-mail: avdienko.ksenya@mail.ru.

Тюреньков Иван Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой фармакологии и биофармации ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», e-mail: int1943@mail.ru.

Author information

Kurkin Denis Vladimirovich – PhD, senior scientist, Cardiovascular Laboratory of the Institute of Pharmacology, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; e-mail: strannik986@mail.ru.

Bakulin Dmitry Aleksandrovich – PhD, senior scientist, Cardiovascular Laboratory of the Institute of Pharmacology, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; e-mail: mbfdoc@gmail.com.

Volotova Eelena Vladimirovna – PhD, associate professor, Department for Pharmacology and Biopharmacy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; e-mail: ev.volotova@gmail.com.

Logvinova Ekaterina Olegovna – graduate student, Department for Pharmacology and Biopharmacy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; e-mail: life-d@mail.ru.

Avdienko Kseniia Andreevna – research student, Department for Pharmacology and Biopharmacy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; e-mail: avdienko.ksenya@mail.ru.

Tyurenkov Ivan Nikolaevich – MD, PhD, Professor, head of Department for Pharmacology and Biopharmacy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; e-mail: int1943@mail.ru.

УДК 616-092.9

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-78-83

ЧУМАСОВ Е. И.^{1, 2}, ПЕТРОВА Е. С.¹, КОРЖЕВСКИЙ Д. Э.¹

Структурно-функциональная характеристика эндотелиальных клеток сосудов сердца новорожденной крысы (иммуногистохимическое исследование)

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Россия

196084, Россия, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5

e-mail: iemmorphol@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 26.01.18; принята к печати 28.02.18

Резюме

Цель работы – с помощью гистологических методов и иммуногистохимического маркирования фактора Виллебранда (фВ) изучить состояние эндотелиальных клеток (ЭК) кровеносного русла сердца новорожденных крыс. Иммуногистохимическое исследование проводили на крысах Вистар 1-го дня постнатального развития (n=6). Установлено, что ЭК формирующихся сосудов сердца новорожденной крысы находятся на разных стадиях морфологической и функциональной дифференцировки в зависимости от топографии. Наиболее выраженной фВ-иммунореактивностью в этот срок обладают ЭК интимы восходящего ствола аорты до клапанов, а также коронарных артерий и их ветвей, расположенных в эпикарде и миокарде в области верхней трети желудочков. В то же время в ЭК сосудов микроциркуляторного русла миокарда, а также эндотелия эндокарда ушек и желудочков реакция на фВ в этот срок еще слабо выражена или отсутствует. На светооптическом уровне продемонстрированы морфологические особенности ЭК, вариабельность и размеры фВ⁺-гранул, свидетельствующие о различной зрелости эндотелия сосудов сердца новорожденных животных.

Ключевые слова: эндотелиальные клетки, фактор Виллебранда, сердце, кровеносные сосуды, иммуногистохимия, новорожденные крысы

Для цитирования: Чумасов Е. И., Петрова Е. С., Коржевский Д. Э. Структурно-функциональная характеристика эндотелиальных клеток сосудов сердца новорожденной крысы (иммуногистохимическое исследование). Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(2):80–85. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-78-83

УДК 616-092.9

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-78-83

CHUMASOV E. I.^{1, 2}, PETROVA E. S.¹, KORZHEVSKII D. E.¹

Structural and functional characteristics of endothelial cells of vessels of the heart of newborn rats (immunohistochemical study)

¹ Federal State Budgetary Institution «Institute of Experimental Medicine», Saint-Petersburg, Russia

197376, Russia, Saint-Petersburg, Akademika Pavlova street, 12

² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine»

196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya street, 5

e-mail: iemmorphol@yandex.ru

Received 26.01.18; accepted 28.02.18.

Summary

The study is aimed to investigate the pattern of cytodifferentiation of developing endothelial cells (EC) of microcirculatory bed of the heart of newborn rats using light microscopy and immunohistochemical labeling of von Willebrand factor (vWF). Immunohistochemical study was carried out on Wistar rats on the postnatal day 1 (n=6). For the first time, EC of the developing vessels of the heart of newborn rats were found to be on different stages of cytodifferentiation. Most pronounced structural and functional maturity at this developmental stage was typical for EC of intima of aorta, coronary vessels, middle and small arteries and arterioles of the myocardium in the upper third of the ventricles. Endothelium of these vessels demonstrates strong vWF-immunoreactivity, while in the developing capillaries of the sinusoidal type of the subepicardial region and ventricular endocardium, the vWF-immunoreaction at this time period is still weak or absent. Morphological pattern and variability of sizes of vWF-immunoreactive granules of endothelium has been established. Signs of secretion in the EC were revealed. Synthesis, accumulation, and exocytosis of vWF are suggested to be associated with the degree of cytodifferentiation of EC.

Key words: endothelial cells, von Willebrand factor, heart, blood vessels, immunohistochemistry, newborn rats

For citation: Chumasov E. I., Petrova E. S., Korzhevskii D. E. Structural and functional characteristics of endothelial cells of vessels of the heart of newborn rats (immunohistochemical study). Regional hemodynamics and microcirculation. 2018;17(2):80–85. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-78-83

Введение

Изучению морфологических особенностей и функций эндотелия как одного из важных тканевых компонентов стенки сосудов в последние десятилетия уделяется пристальное внимание [1, 2, 6, 8]. Об актуальности таких исследований свидетельствует тот факт, что в 2017 г. вышло несколько обзоров, касающихся эндотелиоцитов [3, 5, 7]. Они посвящены изучению проблем сердечно-сосудистой патологии в связи с такими широко распространенными заболеваниями, как атеросклероз, диабет, варикозная болезнь вен, сердечная недостаточность и др. Считается, что в основе этих заболеваний лежит эндотелиальная дисфункция, выражающаяся в изменении структурно-функционального состояния эндотелиальных клеток (ЭК). В нормальных физиологических условиях эндотелий постоянно продуцирует необходимое количество биологически активных факторов, которые связаны с регуляцией гомеостаза. К этим факторам относятся тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор Виллебранда (фВ), ангиотензина-II, -IV, фактор-VIII, эндотелин-1, CD63, оксид азота и др. Одним из перспективных маркеров, отражающих состояние эндотелиальных клеток и концентрацию его в крови, используемым в настоящее время в диагностических целях, безусловно, является фактор Виллебранда, который, наряду с другими (P-селектин, CD63), локализуется в тельцах Вейбеля–Паладе – специализированных органеллах цитоплазмы ЭК [9, 10, 14, 17]. Кроме разграничительной и барьерной, эндотелий выполняет множество других функций. Он участвует в регуляции гемостаза, выполняет протромбогенную и антитромбогенную, вазоконстрикторную и вазодилататорную функции, участвует в стимуляции и ингибировании роста сосудов. Наиболее важной функцией эндотелия следует считать секреторную [13, 20].

Имеется ряд работ, посвященных проблеме экзотоза фВ эндотелиальными клетками артериальных и венозных сосудов [12, 18, 20]. В исследованиях, выполненных *in vitro* и в экспериментах на изолированных сосудах, были изучены последовательные стадии экзотоза как при нормальном физиологическом состоянии ЭК, так и при различных эндогенных и экзогенных воздействиях [13, 15, 18, 19]. Хотя эти работы выполнены на достаточно высоком методическом уровне – с использованием иммуногистохимических методик, сканирующей, электронной и конфокальной микроскопии, ряд вопросов, касающихся гистогенеза эндотелия и цитодифференцировки его ЭК, в связи с их секреторной деятельностью, в развивающемся сердце до сих пор остаются недостаточно изученными.

Цель работы – с помощью гистологических методов и иммуногистохимического маркирования фактора Виллебранда изучить состояние эндотелиальных клеток кровеносного русла сердца новорожденных крыс.

Материал и методы исследования

Работа выполнена на крысах Вистар 1-го дня постнатального развития (n=6). При содержании и

умерщвлении животных руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12 августа 1977 г.). У новорожденных крысят выделяли сердце и фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида [4]. После соответствующей обработки материал заливали в парафин. На парафиновых срезах толщиной 5 мкм для выявления эндотелиоцитов выполняли иммуногистохимическую реакцию на фактор Виллебранда [5]. Использовали поликлональные кроличьи антитела в разведении 1:250 (*Dako*, Дания). В качестве вторичных антител применяли реагенты из набора Reveal Polyvalent HRP/DAB Detection System kit (*SpringBioscience*, США). Для визуализации продукта иммуноцитохимической реакции (ИГХ) использовали хромоген DAB+ (*Dako*, Дания). Часть срезов окрашивали гематоксилином-эозином, часть докрашивали толуидиновым синим. Препараты исследовали под микроскопом Leica DM750, фотосъемку выполняли с помощью фотокамеры ICC50 (*Leica*, Германия).

Результаты исследования и их обсуждение

С помощью окраски толуидиновым синим и иммуногистохимического выявления фВ установлено, что у новорожденных крыс, которые, как известно, относятся к слепорождаемым млекопитающим, в субэпикардиальной области, в миокарде предсердий и желудочков еще продолжается процесс образования кровеносных сосудов. Об этом свидетельствуют наличие в описанных областях сердца сосудов с широкими просветами, выстланных однослойным эндотелием, и присутствие митотически делящихся ЭК. Такие сосуды имеют форму уплощенных цистерн, эллипсоидов, крупных образований сферической формы. По морфологии они сходны с венозными эмбриональными капиллярами. Просвет части таких сосудов заполнен однородным слабоокрашенным гомогенным содержимым, у других сосудов в просвете обнаруживаются эритроциты (рис. 1, а, б). Такой тип сосудов преобладает в сердце новорожденной крысы. Чаще всего они наблюдаются в субэпикардиальной области и прослеживаются вдоль всего периметра эпикарда, окружающего желудочки сердца.

Прежде чем перейти к дальнейшему анализу материала, следует отметить одну важную особенность. С помощью используемого ИГХ-маркера на данной стадии развития крысы хорошо визуализируется эндотелий только в части развивающихся сосудов сердца. Их ЭК избирательно выявляются с помощью ИГХ-реакции на фВ (фВ⁺), а продукт реакции окрашивается в черно-коричневый цвет. В то же время ЭК других сосудов иммунонегативны (фВ⁻). Благодаря этой разнице реакций и окрашивания удастся четко определить топографию распространения эндотелия сосудов в разных частях миокарда, морфологию ЭК и степень их функциональной активности.

Установлены следующие закономерности развития эндотелия в зависимости от локализации сосудов. В субэпикардиальной области и поверхностных слоях миокарда, где отмечается интенсивное формирование сосудов, иммуногистохимическая реакция на фВ

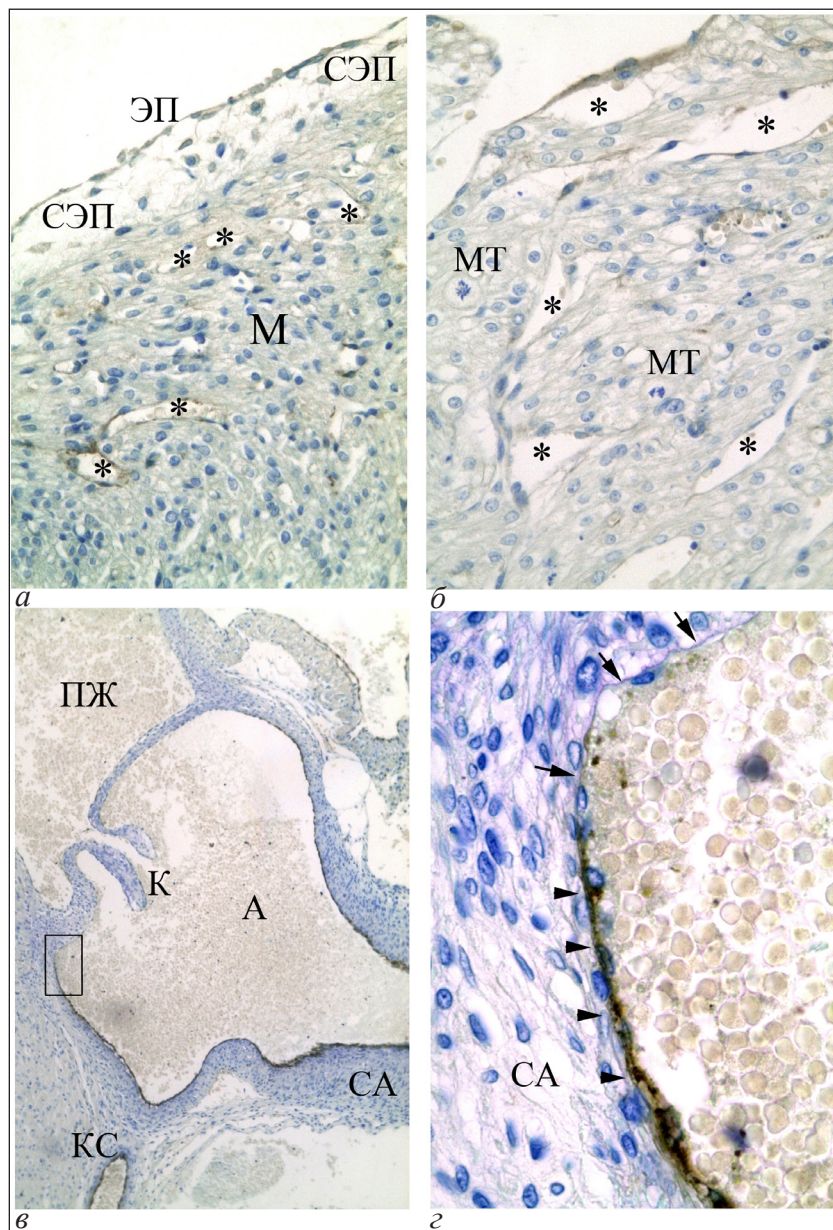


Рис. 1. Иммуногистохимическая реакция на фактор Виллебранда в эндотелии сосудов из разных отделов сердца новорожденной крысы: а – синусоидные сосуды в субэпикардиальной области; б – сосуды в миокарде желудочка (звездочки); в – область перехода эндотелия аорты в эндотелий эндокарда (выделено); г – фрагмент зоны перехода; ЭП – эпикард; СЭП – субэпикард; М – миокард; А – просвет аорты; ПЖ – просвет желудочка; КС – коронарный сосуд; МТ – митозы; СА – стенка аорты; К – клапаны.

Ув.: $\times 100$ (в); $\times 400$ (а, б); $\times 1000$ (г)

Fig. 1. Immunohistochemical reaction to von Willebrand factor in the vascular endothelium of different parts of the heart of a newborn rat: а – sinusoid vessels in the subepicardial region; б – vessels in the myocardium of the ventricle (asterisks); в – region of the transition of the endothelium of the aorta to the endothelium of the endocardium (noted); г – the fragment of the transition zone; ЭП – epicardium; СЭП – subepicardium; М – myocardium; А – aorta; ПЖ – ventricle; КС – coronary vessel; МТ – mitosis; СА – aortic wall; К – valves.

$\times 100$ (в); $\times 400$ (а, б); $\times 1000$ (г)

в ЭК еще слабо выражена или отсутствует (рис. 1, а). Такая же слабая реакция характерна для синусоидных капилляров, встречающихся в миокарде правого и левого желудочков, а также в ушках (рис. 1, б). Наиболее четко выраженной ИГХ-реакцией на фВ

обладает эндотелий, выстилающий стенку восходящего ствола аорты. Выстилка, состоящая из фВ⁺ ЭК прослеживается на всем протяжении интимы восходящего ствола аорты. Эндотелий поверхностной и нижней стороны части клапанов сердца крысы на данном сроке постнатального развития иммунонегативен (фВ⁻). В некоторых случаях наблюдается слабо выраженная реакция в области перехода эндотелия аорты в эндотелий эндокарда желудочка (рис. 1, в). Среди эндотелиальных клеток эндокарда, выстилающего полости желудочков, межпредсердную перегородку, сосочковые мышцы, встречаются как фВ⁺, так и фВ⁻ ЭК. Эти факты свидетельствуют, по-видимому, о разной функциональной степени зрелости ЭК эндокарда и кровеносных сосудов. Эндотелий аорты и коронарных артерий, а также их ветвей разного диаметра (средних и мелких артерий), и части синусоидных капилляров, встречающихся в верхней трети миокарда правого и левого желудочков, имеют уже положительную реакцию на фВ (рис. 2, а).

С помощью световой микроскопии при большом увеличении (при увеличении $\times 1000$) нами установлен ряд морфологических отличий между фВ⁺- и фВ⁻-клетками эндотелия сосудов. На препаратах, подкрашенных толудиновым синим, видно, что фВ⁻ЭК, как правило, имеют сильно уплощенную форму ядра и цитоплазмы. Тогда как ЭК с фВ⁺-реакцией имеют явно гипертрофированный вид: веретенообразную форму, хорошо выраженное ядро и цитоплазму. Ядра округлой или овальной формы, некоторые из них выпячиваются в просвет сосуда. Обращает на себя внимание, что в эндотелии аорты они располагаются чаще, чем в эндотелии эндокарда (рис. 2, а, в).

Характерной особенностью этих ЭК служит наличие в цитоплазме многочисленных иммунопозитивных гранул, в которых содержится фВ (рис. 2). Гранулы располагаются по всей цитоплазме ЭК, в некоторых случаях (в зависимости от расположения клетки в пределах среза) они настолько плотно заполняют клетку, что маскируют ее ядро. Ядра клеток иммунонегативны и хорошо окрашиваются толудиновым синим. Такие клеточные элементы выглядят как зернистые (секреторные) клетки (рис. 1, г; рис. 2, б-г).

Гранулы таких ЭК-клеток имеют чаще всего округлую, шаровидную или вытянутую форму и их разме-

ры сильно варьируют – от 0,5 мкм до пылевидных частиц, находящихся на границе разрешающей способности световой микроскопии. Интересно отметить, что часть фВ⁺-гранул обнаруживается не только в цитоплазме ЭК, но и за ее пределами. Они могут располагаться как по отдельности, так и в виде мелких групп, некоторые способны слипаться, образуя крупные (от 2 до 5 мкм) гранулярные внеклеточные структуры. Часто можно было видеть, как эти гранулярные структуры, прилежит к аблюминальной поверхности гранулярных ЭК (рис. 2). Иногда наблюдались отходящие от поверхности цитоплазмы, довольно длинные (до 300 и более мкм) цепочечно-гранулярные тяжи, состоящие из мелких пылевидных, средних и крупных частиц, заключенные в гомогенный субстрат, вероятно, фибрин (рис. 2, б). Бóльшее или меньшее количество различных размеров фВ⁺-гранул нередко встречалось в участках скопления эритроцитов в просвете сосудов и в полостях желудочков. Следует отметить, что, наряду со специфическими цитоплазматическими гранулами, в крови новорожденных крыс с помощью данного ИГХ-метода окрашивались и тромбоциты (рис. 2, з).

По данным литературы известно, что в процессе васкулогенеза в сердце птиц и млекопитающих первыми сосудами, появляющимися в эмбриогенезе и неонатальном периоде, являются венозные синусоидные капилляры с широкими просветами, выстланные однослойным эндотелием [1, 6, 11]. Источником ЭК сердца является проэпикард – прогениторный орган, из которого в дальнейшем в результате миграции клеток-предшественников в глубокие слои миокарда образуются все известные разновидности клеток стенки коронарных сосудов (капилляров и артериол, мелких и средних артерий), а также системы сосудов синусоидного типа, связанных непосредственно с кровью желудочков, выполняющих дренажную или депонирующую функции [6]. Нами показано, что ЭК формирующихся сосудов сердца – синусоидных капилляров субэпикардиальной области, миокарда предсердий и желудочков, в стенке аорты и коронарных артерий новорожденной крысы – находятся на разных стадиях цитодифференцировки и функциональной активности. Об этом свидетельствуют приведенные нами факты и иллюстративные материалы гистологического и иммуногистохимического анализа перечисленных исследованных сосудов.

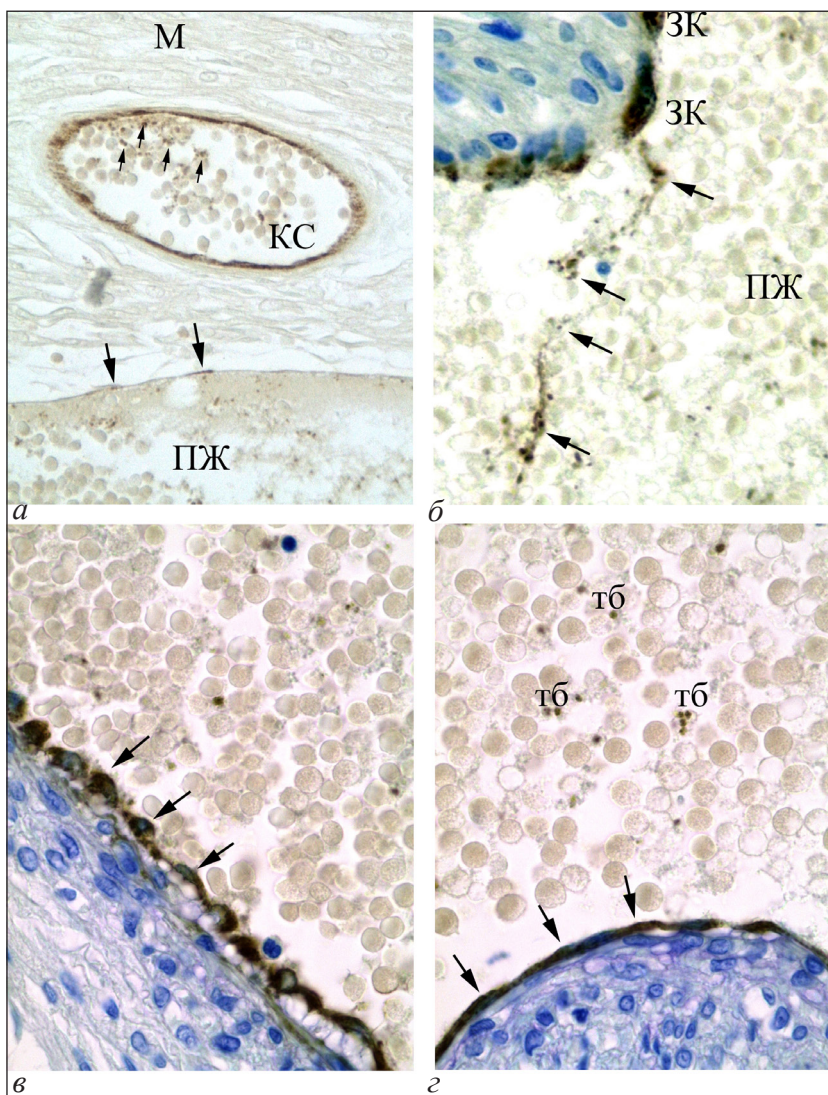


Рис. 2. Гранулярные элементы фактора Виллебранда, отражающие признаки экзоцитоза: а – фВ⁺ гранулы в крови, просвет коронарного сосуда и желудочка; б – фВ⁺-зернистые эндотелиальные клетки и гранулярный тяж в полости просвета аорты; в, з – фВ⁺-зернистые эндотелиальные клетки и гранулы в крови, просвет аорты; КС – коронарный сосуд, эндотелий желудочка (длинные стрелки); ПЖ – просвет желудочка; ЗК – зернистые клетки, гранулярный тяж (короткие стрелки); тб – тромбоциты. Иммуногистохимическая реакция на фактор Виллебранда. Ув.: ×400 (а); ×1000 (б–з)

Fig. 2. Granular elements of Willebrand factor, reflecting the signs of exocytosis: а – vWF⁺ granules in the blood, lumen of the coronary vessel and ventricle; б – vWF⁺ granular endothelial cells and granular cord in the aortic lumen; в, з – vWF⁺ granular endothelial cells, and granules in the blood, aortic lumen; КС – coronary vessel, endothelium of the ventricle (long arrows); ПЖ – ventricular lumen; ЗК – grained cells, granular cord (short arrows); тб – platelets. Immunohistochemical reaction to von Willebrand factor. ×400 (а); ×1000 (б–з)

Значительным достижением в ангиологии последних лет стала разработка высокоэффективного иммуногистохимического метода определения фВ-белка, синтезируемого ЭК [3, 5, 7]. Учитывая большое его значение в регуляции гемостаза, изменении реологических свойств крови, этот маркер приобретает все бóльшую известность и применяется в экспериментальных исследованиях и клинической практике [5, 7]. Ценность метода, по нашему мнению, состоит и в том, что он может использоваться не толь-

ко в морфологических целях, но и для функциональной оценки активности эндотелия. Он обладает также большой прогностической ценностью в отношении предсказания исходов широко распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы [5].

Имеется ряд работ, посвященных проблеме изучения экзоцитоза фВ ЭК артериальных и венозных сосудов в нормальных и экспериментальных условиях, выяснению сложного субмикроскопического строения и функциональной роли их специализированных органелл – телец Вейбеля–Паладе, содержащих фактор Виллебранда [14, 18]. С помощью трансмиссионной, сканирующей, электронной томографии, лазерной конфокальной микроскопии и цейтраферной съемки были изучены последовательные стадии экзоцитоза – выделения специфических белков и различного вида гранул из ЭК в окружающую среду, как при нормальном физиологическом состоянии ЭК, так и при различных эндогенных и экзогенных воздействиях [13, 15, 18, 19]. Большинство этих исследований выполнено *in vitro* или в экспериментах на изолированных сосудах. Лишь немногочисленные работы выполнены непосредственно на лабораторных животных. Определенный интерес представляет работа, посвященная морфологическим изменениям в ЭК, которые были изучены с помощью выявления фВ, после воздействия тромбина *in vivo* [16]. Работа проведена на крысах, объектом исследований служил эндотелий аорты и легочной артерии. Были использованы антитела к фВ, конъюгированные с 10 нм коллоидным золотом. Показано, что после введения тромбина через 15 мин, 1 ч и 24 ч статистически значимое увеличение частиц и телец фВ⁺ сначала наблюдалось в цитоплазме клетки, а затем уменьшалось и регистрировалось в плазме просвета сосудов. Уменьшение числа гранул и телец сопровождалось образованием больших цитоплазматических вакуолей, которые открывались в просвет. Причем многие тельца палочковидной формы слипались друг с другом, образуя агрегаты. Описаны два способа экзоцитоза фВ – конститутивный и регуляторный [16].

В настоящей работе на светооптическом уровне нами установлен ряд морфологических различий в строении эндотелия сосудов. Оказалось, что не все ЭК в сердце новорожденной крысы являются фВ⁺. Степень плотности расположения секреторных гранул и их размеры в разных ЭК развивающихся сосудов также различаются. Предположительно, эти различия связаны со степенью функциональной активности или зрелостью ЭК. Можно предположить, что дифференцировка ЭК зависит от их взаимоотношений с форменными элементами крови (эритроцитами, лейкоцитами, тромбоцитами). Возможно также, что перечисленные различия связаны с началом активного кровотока по сосудам. В отдельных формирующихся венозных капиллярах, расположенных в субэпикардиальной области, в миокарде желудочков и предсердий, у которых в просвете отсутствовали эритроциты, клетки эндотелия были фВ-негативны. ЭК, в цитоплазме которых присутствовали многочисленные фВ⁺-гранулы и наблюдались признаки экзоцитоза, можно считать «функционально актив-

ными», или секреторными ЭК. Наиболее выраженной структурной и функциональной зрелостью в этот срок обладают клетки эндотелия интимы аорты, коронарных сосудов, средних и мелких артерий и артериол миокарда предсердий в области верхней трети желудочков.

Таким образом, в настоящей работе впервые на светооптическом уровне изучены эндотелиальные клетки сосудов в различных отделах сердца у новорожденной крысы с использованием иммуногистохимического выявления фактора Виллебранда. Установлено, что ЭК находятся на разных стадиях цитодифференцировки. ЭК интимы аорты, коронарных сосудов, средних и мелких артерий и артериол миокарда в области верхней трети желудочков обладают ярко выраженной иммуноположительной реакцией на фВ и характеризуются наиболее выраженной структурной и функциональной зрелостью. В то время как в развивающихся капиллярах микроциркуляторного русла миокарда и эндокарда предсердий и желудочков реакция на фВ выражена слабо или отсутствует. Полученные результаты открывают новые методологические перспективы для проведения полномасштабных сравнительно-онтогенетических исследований гистогенеза эндотелия кровеносных сосудов внутренних органов млекопитающих и человека, которые должны установить его функциональные особенности и взаимодействие с другими тканевыми элементами в развивающемся организме.

Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interests.

Литература / References

1. Афанасьев Ю. И., Горячкина В. Г. Сердечно-сосудистая система: рук-во по гистологии. Т. 2 / под ред. Р. К. Данилова. – 2-е изд. – СПб.: СпецЛит, 2011. – С. 241–296. [Afanasyev Yu.I., Goryachkina V.G. Cardiovascular system. R.K. Danilov, editor. Textbook on histology. 2nd ed. St. Petersburg: SpecLit; 2011. V. 2: 241–296. (In Russ)].
2. Банин В. В. Роль внеклеточного матрикса в регуляции ангиогенеза // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2006. – Т. 5. – № 1. – С. 13–19. [Banin VV. The role of extracellular matrix in the regulation of angiogenesis. Regional blood circulation and microcirculation. 2006;5(1):13–19. (In Russ)].
3. Васина Л. В., Власов Т. Д., Петрищев Н. Н. Функциональная гетерогенность эндотелия (обзор) // Артериальная гипертензия. – 2017. – Т. 23. – № 2. – С. 88–102. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-2-88-102. [Vasina LV, Vlasov TD, Petrishchev NN. Functional heterogeneity of the endothelium (review). Arterial hypertension. 2017;23(2):88–102. (In Russ)].
4. Коржевский Д. Э., Кирик О. В., Петрова Е. С. и др. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии / под ред Д. Э. Коржевского. – 2-е изд., испр. и доп. – СПб., 2014. [Korzhevsky DE, Kirik OV, Petrova ES et al. Theoretical bases and practical application of methods of immunohistochemistry. D.E. Korzhevsky, editor. St. Petersburg: SpecLit; 2014, (2nd edition, revised and enlarged). (In Russ)].
5. Коржевский Д. Э., Кирик О. В., Сухорукова Е. Г. и др. Фактор Виллебранда эндотелиоцитов кровеносных

сосудов и его использование в иммуноморфологических исследованиях // Мед. академ. журн. – 2017. – Т. 17. – № 1. – С. 34–40. [Korzhevsky DE, Kirik OV, Sukhorukova EG. et al. The von Willebrand factor of blood vessel endothelial cells and its use in immunomorphological studies. *Medical Academic Journal*. 2017;17(1):34-40. (In Russ)].

6. Чумасов Е. И., Петрова Е. С., Коржевский Д. Э. Изучение строения развивающегося эпикарда и особенностей васкуляризации в сердце новорожденных крыс // Актуальные вопросы ветеринар. биол. – 2017. – Т. 34. – № 2. – С. 12–18. [Chumasov EI, Petrova ES, Korzhevsky DE. A study of the structure of the developing epicardium and features of vascularization in the heart of newborn rats. *Actual questions of veterinary biology*. 2017;34(2):12-18. (In Russ)].

7. Шабров А. В., Апресян А. Г., Добкес А. Л. и др. Роль и методы оценки эндотелиальной дисфункции в практической медицине // Мед. академ. журн. – 2017. – Т. 17. – № 1. – С. 7–23. [Shabrov AV, Apresyan AG, Dobkes AL et al. The role and methods of assessing endothelial dysfunction in practical medicine. *Medical Academic Journal*. 2017;17(1):7-23. (In Russ)].

8. Шайдakov Е. В., Евлахов В. И. Роль эндотелия в патогенезе хронической постэмболической лёгочной гипертензии // Ангиол. и сосуд. хир. – 2016. – Т. 22. – № 1. – С. 22–27. [Shaidakov EV, Evlakhov VI. The role of endothelium in the pathogenesis of chronic postembolic pulmonary hypertension. *Angiology and vascular surgery*. 2016;22(1):22-27. (In Russ)].

9. Babich V, Knipe L, Hewlett L et al. Differential effect of extracellular acidosis on the release and dispersal of soluble and membrane proteins secreted from the Weibel–Palade body. *J Biol Chem*. 2009;284(18):12459-12468. doi: 10.1074/jbc.M809235200.

10. Boneu B, Abbal M, Plante J, Bierme R. Letter: Factor–VIII complex and endothelial damage. *Lancet*. 1975;1(7922):1430.

11. Dettman RW, Denetclaw W, Ordahl CP, Bristow J. Common epicardial origin of coronary vascular smooth muscle, perivascular fibroblasts, and intermyocardial fibroblasts in the avian heart. *Dev. Biol*. 1998;193(2):169-181. doi: 10.1006/dbio.1997.8801.

12. Fujimoto S. Degranulation of endothelial specific granules of the toad aorta after treatment with compound 48/80. *Anat Rec*. 1982;203(2):197-204. doi: 10.1002/ar.1092030202.

13. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288(5789):373-376.

14. Huang RH, Wang Y, Roth R et al. Assembly of Weibel–Palade body-like tubules from N-terminal domains of von Willebrand factor. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2008;105(2):482-487. doi: 10.1073/pnas.0710079105.

15. Kumar RA, Moake JL, Nolasco L. et al. Enhanced platelet adhesion and aggregation by endothelial cell-derived unusually large multimers of von Willebrand factor. *Biorheology*. 2006;43(5):681-691.

16. Richardson M, Tinlin S, De Reske M. Morphological alterations in endothelial cells associated with the release of von Willebrand factor after thrombin generation in vivo. *Arterioscler Thromb*. 1994;14(6):990-999.

17. Savage B, Sixma JJ, Ruggeri ZM. Functional self-association of von Willebrand factor during platelet adhesion under flow. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(1):425-430. doi: 10.1073/pnas.012459599.

18. Valentijn KM, van Driel LF, Mourik MJ. Multigranular exocytosis of Weibel–Palade bodies in vascular endothelial cells. *Blood*. 2010;116(10):1807-1816. doi: 10.1182/blood-2010-03-274209.

19. Wagner DD, Bonfanti R. von Willebrand factor and the endothelium. *Mayo Clin Proc*. 1991;66(6):621-627.

20. Weibel ER, Palade GE. New cytoplasmic components in arterial endothelia. *J. Cell Biol*. 1964;23:101-112.

Информация об авторах

Чумасов Евгений Иванович – доктор биологических наук, профессор, старший научный сотрудник Лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», профессор кафедры биологии, экологии и гистологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», e-mail: iemmorphol@yandex.ru.

Петрова Елена Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», e-mail: iemmorphol@yandex.ru.

Коржевский Дмитрий Эдуардович – доктор медицинских наук, профессор РАН, заведующий Лабораторией функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», e-mail: iemmorphol@yandex.ru.

Author information

Chumasov Evgeny I. – professor, senior researcher, Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special morphology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, professor of the Department of Biology, Ecology and Histology, St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, e-mail: iemmorphol@yandex.ru.

Petrova Elena S. – senior researcher, Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special morphology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, e-mail: iemmorphol@yandex.ru.

Korzhevskii Dmitrii Eduardovich – Doctor of Medicine (MD) in Histology and Cytology; Professor of the Russian Academy of Sciences, Chef of the Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special morphology, Institute of Experimental Medicine, e-mail: iemmorphol@yandex.ru.

УДК 116.423

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-84-91

ПАПАЯН Г. В.^{1, 2}, АКОПОВ А. Л.^{1, 3}, АНТОНЯН П. А.³,
ИЛЬИН А. А.¹, ПЕТРИЩЕВ Н. Н.^{1, 2}

Инфракрасная флуоресцентная лимфография в экспериментальных и клинических условиях

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр
им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
195067, Россия, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47
e-mail: akopovand@mail.ru

Статья поступила в редакцию 25.02.18; принята к печати 15.03.18

Резюме

Введение. Флуоресцентная диагностика в ближней инфракрасной области (БИК) перспективна благодаря более глубокому проникновению этого излучения в биологические ткани.

Материал и методы. В экспериментах на кроликах и в клинических условиях изучены возможности исследования лимфатической системы с помощью приборного комплекса FLUM-808.

Результаты. Для визуализации лимфатических сосудов кожи оптимальным является интрадермальное введение индоцианина зеленого (ИЦЗ), растворенного в 20 %-м альбумине в концентрации порядка 0,02 мг/мл. Перитуморальное введение ИЦЗ позволяет с помощью системы FLUM-808 интраоперационно визуализировать сторожевые лимфоузлы у больных раком легкого.

Выводы. Разработанная система БИК-флуоресцентной диагностики FLUM-808 позволяет визуализировать в реальном времени и с высоким разрешением лимфатические сосуды и лимфатические узлы.

Ключевые слова: лимфография, интраоперационная, флуоресцентная диагностика, ближняя инфракрасная область, индоцианин зеленый

Для цитирования: Папаян Г. В., Акопов А. Л., Антонян П. А., Ильин А. А., Петрищев Н. Н. Инфракрасная флуоресцентная лимфография в экспериментальных и клинических условиях. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018; 17(2):86–93. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-84-91

UDC 116.423

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-84-91

PAPAYAN G. V.^{1, 2}, AKOPOV A. L.^{1, 3}, ANTONYAN P. A.³,
ILIN A. A.¹, PETRISHCHEV N. N.^{1, 2}

Infrared fluorescence lymphography in experimental and clinical practice

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Pavlov First Saint Petersburg State Medical University»
St. Petersburg, Russia

197022, Russia, Saint Petersburg, L'va Tolstogo street, 6-8

² Federal State Budgetary Institution «Almazov National Medical Research Centre» of the Ministry of Health
of the Russian Federation

197341, Russia, Saint Petersburg, Akkuratova street, 2

³ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «North-Western State Medical University
named after I. I. Mechnikov», St. Petersburg, Russia

195067, Russia, St. Petersburg, Piskarevskii street, 47

e-mail: akopovand@mail.ru

Received 25.02.18; accepted 15.03.18.

Summary

Introduction. Near infrared (NIR) fluorescent diagnostics is promising due to a deeper penetration into biological tissues.

Material and methods. In experiments on rabbits and in clinical studies evaluation the lymphatic system with the use of the instrument complex FLUM-808 was analysed.

Results. For visualization of the lymphatic vessels of the skin, the intradermal administration of ICG, dissolved in 20 % albumin in the order of 0.02 mg/ml, is optimal. Peritumoral injection of ICG allows visualizing sentinel lymph nodes in patients with lung cancer.

Conclusions. The developed NIR fluorescence diagnostic system FLUM-808 allows to real time visualization of lymphatic vessels and lymph nodes.

Keywords: lymphography, intraoperative, fluorescent imaging, near-infrared, indocyanine green

For citation: Papayan G. V., Akopov A. L., Antonyan P. A., Ilin A. A., Petrishchev N. N. *Infrared fluorescence lymphography in experimental and clinical practice. Regional hemodynamics and microcirculation.* 2018;17(2):86–93. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-84-91

Введение

Лимфатическая система представляет собой сложную сеть из лимфатических сосудов, протоков и лимфатических узлов. Визуализация особенностей ее строения и функционирования вызывает значительный интерес как при проведении научных исследований, так и в клинической практике. Для этих целей применяются различные методы, в том числе отличающиеся физическим принципом, используемой аппаратурой и контрастирующими агентами: лимфосцинтиграфия, магнитно-резонансная лимфография, ультразвуковое исследование (УЗИ) с контрастным усилением, позитронно-эмиссионная томография 18F-фтордезоксиглюкозой в сочетании с компьютерной томографией и т. д. В последние годы все большее внимание привлекают оптические методы, основанные на флуоресценции. Они не требуют дорогостоящего и громоздкого оборудования, обладают высоким пространственным и временным разрешением, позволяющим проводить исследование *in vivo* в режиме реального времени, и абсолютно безвредны для пациентов и персонала [8, 12]. Относительным их недостатком является низкая проникающая способность света по сравнению с ионизирующими излучениями или УЗИ. В методе флуоресцентной микролимфангиографии (FML), которая проводится в видимой области спектра, в качестве флуоресцентного красителя используется флуоресцеин изотиоцианат-декстран (FITC-dextran) [8]. Этот метод отличается наиболее высоким пространственным разрешением (около 50 мкм), позволяющим визуализировать лимфатические капилляры на глубине, впрочем, не превышающей 100–150 мкм. Этот недостаток преодолевается переходом к визуализации в ближнюю инфракрасную (БИК) область спектра (>750 нм), где глубина проникновения в биологическую ткань существенно увеличивается благодаря меньшему поглощению гемоглобином и меланином и ослаблению потерь, обусловленных рассеянием света внутри ткани. При этом в качестве флуоресцирующего красителя используется разрешенный для клинического использования препарат – индоцианин зеленый (ИЦЗ). Флуоресценция ИЦЗ возбуждается при 750–800 нм, а эмиссия регистрируется на длинах волн выше 800 нм [7]. Кроме большей глубины, которая может достигать до 3–4 см [12], переход в БИК-область дает еще два важных для практики преимущества: более высокий контраст в связи с отсутствием в этой области автофлуоресценции, а также слабое влияние окружающего света, что особенно ценно при выполнении

открытых операций. Успешному решению аппаратных проблем регистрации БИК-флуоресценции способствует наличие в этой области спектра ярких источников и чувствительных приемников излучения.

Для визуализации флуоресценции в БИК-области требуется специальная аппаратура. Компания *Perkin Elmer* (США) выпускает мультиспектральную флуоресцентную систему IVIS ImagingSestem, предназначенную для работы с мелкими животными. Спектральная селекция в ней осуществляется набором переключаемых полосовых светофильтров, среди которых имеется фильтр и для работы с ИЦЗ. Относительно небольшая яркость используемой в этом приборе галогенной лампы приводит к необходимости длительных экспозиций при фотографировании, что неприемлемо для клиники. Условиям клинического использования отвечает ряд систем. Наиболее распространенной для мониторинга открытых операций является система SPY (*Novadaq Tech*, Канада), которая монтируется на мобильном штативе, позволяющем устанавливать головку прибора непосредственно над исследуемым участком операционного поля. Возбуждение в ней производится матрицей лазерных диодов (806 нм). Для приема изображения используется черно-белая камера (480×750 пикс), с помощью которой во время операции записываются видеоролики длительностью от 0,5 до 4,5 мин, которые хирург периодически просматривает для принятия оперативного решения. Также для наружных исследований компанией *Hamamatsu Photonics* (Япония) выпускается компактный ручной прибор Photodynamic Eye (PDE) со встроенным осветителем на светодиодах. Для эндовидеохирургических операций фирма *KARL STORZ* (Германия) производит систему, в которой возбуждение БИК-флуоресценции осуществляется ксеноновым осветителем (D-LIGHT), оснащенным переключаемым БИК-фильтром, позволяющим последовательно визуализировать объект либо обычным образом в белом свете, либо в свете БИК-флуоресценции. Для улучшения прозрачности в БИК-области спектра вместо оптоволоконного кабеля используется жидкостный световод. Изображение формируется специализированным лапароскопом со встроенным эмиссионным фильтром для БИК-области. Комбинация из стандартного ксенонового осветителя и цветной ТВ-камеры с переключаемыми БИК-фильтрами используется также в специализированных операционных микроскопах Leica FL800 и ZEISS OPMI PENTERO 800, предназначенных для проведения ИЦЗ-флуоресцентной ангиографии в нейрохирургии.

Указанные приборы позволяют видеть флуоресцентные и обычные изображения только порознь, что затрудняет определение местонахождения флуоресцирующей структуры. Этого недостатка лишена разработанная в Центре лазерной медицины ПСПбГМУ им. И. П. Павлова с участием Российского научного центра в Сеуле (Республика Корея) и компании «ВОЛО» (Санкт-Петербург, Россия) система для мультиспектральной флуоресцентной визуализации FLUM-808, которая предназначена для решения широкого круга биомедицинских задач, в том числе методами флуоресцентной диагностики в БИК-области. С ее помощью можно проводить исследования как на животных моделях, так и в клинике при выполнении открытых и эндоскопических операций [3].

Целью статьи является описание методических особенностей ИЦЗ-флуоресцентной лимфографии и ее возможностей в экспериментальной и клинической практике.

Материал и методы исследования

Эксперименты выполнялись на кроликах-самцах породы Шиншилла (питомник Рапполово) весом $3 \pm 0,1$ кг. Работа с животными была одобрена Этическим комитетом ПСПбГМУ и проводилась в соответствии с [11]. Эксперименты проводились под общей анестезией (тиопентал натрия, 40 мг/кг внутривенно). Перед исследованием подкожных лимфатических сосудов в зоне интереса проводили эпиляцию.

Клинические исследования проводились в отделе торакальной хирургии НИИ хирургии и неотложной медицины ПСПбГМУ с одобрения Этического комитета ПСПбГМУ. Все пациенты, участвующие в исследовании, подписали информированное согласие.

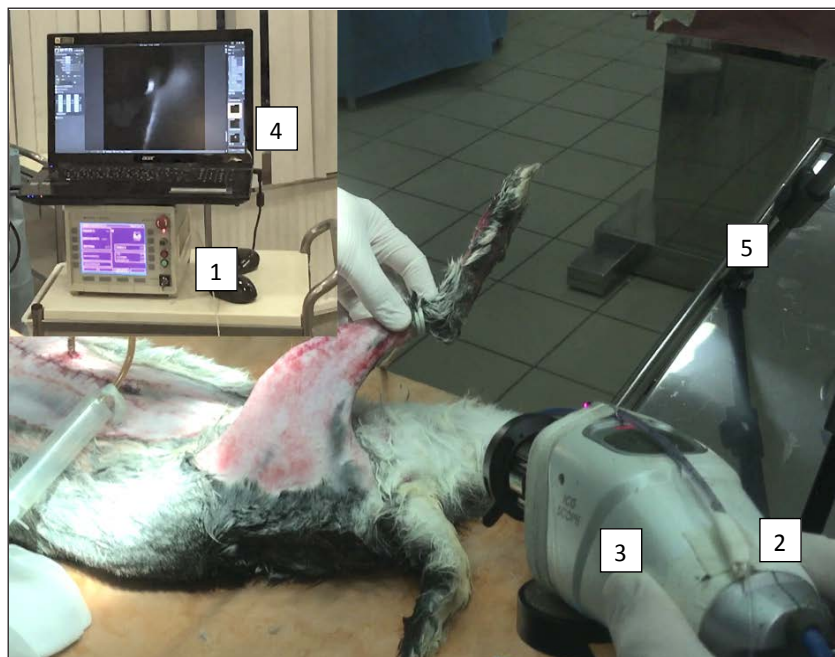


Рис 1. Система FLUM-808 при проведении лимфографических исследований в эксперименте на кролике: 1 – лазерный аппарат «Лахта-Милон 808/9»; 2 – световод; 3 – ТВ-камера ICG-Skope; 4 – ноутбук; 5 – штатив
Fig. 1. System FLUM-808 for carrying out lymphographic studies in a rabbit experiment: 1 – laser «Lahta-Milon 808/9»; 2 – light guide; 3 – TV camera ICG-Skope; 4 – laptop; 5 – tripod

В работе использовали лиофилизат индоцианина зеленого (Pulsion medical systems, AG, Германия). Препарат растворяли в дистиллированной воде и смешивали с 20 %-м альбумином человека (АЧ) в пропорции, обеспечивавшей соотношение масс АЧ/ИЦЗ не менее 90, что по соотношению числа молекул соответствует 1:1 [5].

Исследования компонентов лимфатической системы проводили с помощью системы FLUM-808 как в клинических условиях, так и в эксперименте (рис. 1) [3]. В качестве источника возбуждения БИК-флуоресценции использовался медицинский диодный лазер «ЛАХТА-МИЛОН» (1); длина волны – 808 нм, максимальная выходная мощность – 9 Вт. Доставка излучения производится через кварцевое моноволокно (2). По сравнению с ламповыми и светодиодными осветителями, применение лазерного источника позволяет увеличить плотность мощности возбуждения, облегчает задачу подавления возбуждающего излучения в системе регистрации изображения и способствует созданию систем различного целевого назначения, в том числе для открытых операций. К преимуществам FLUM-808 также относится возможность количественной оценки яркости флуоресценции объекта и возможность одновременной работы с несколькими флуоресцентными красителями БИК и видимого диапазонов. Задача регистрации решается с помощью телевизионно-компьютерной системы, включающей мультиспектральную ТВ-камеру ICG-Skope (960×960 пикс) (3) и ноутбук ACER V3-772G (4). Камера оснащена объективом ($f=24$ мм), обеспечивающим поле зрения размером от 28×28 до 46×46 мм, при вариации дистанции до объекта от 225 до 350 мм. В зависимости от особенности

исследования камерная головка либо устанавливалась на штативе (5), либо как показано на рис. 1, находилась в руках оператора. Наблюдение флуоресцентных и обычных белых картин в реальном масштабе времени проводили для удобства на экране двух мониторов разных размеров – ноутбука (17,3") и подключенного к нему телевизора SAMSUNG UEJ6390 (40"). Параллельно производилась видео- и фотосъемка. Кадры БИК и белый могут отображаться либо рядом, либо накладываться друг на друга. Пример получаемых изображений показан на рис. 2.

Результаты исследования и их обсуждение

Оптимизация концентрации растворов ИЦЗ для лимфографии. В представленных ниже экспериментах *in vitro* устанавливалась зависимость интенсивности флуоресценции ИЦЗ от концентрации в различных белковых средах. Измерения выполнялись путем добавления фиксированного количества ИЦЗ (от 0,001 до 0,6 мг)

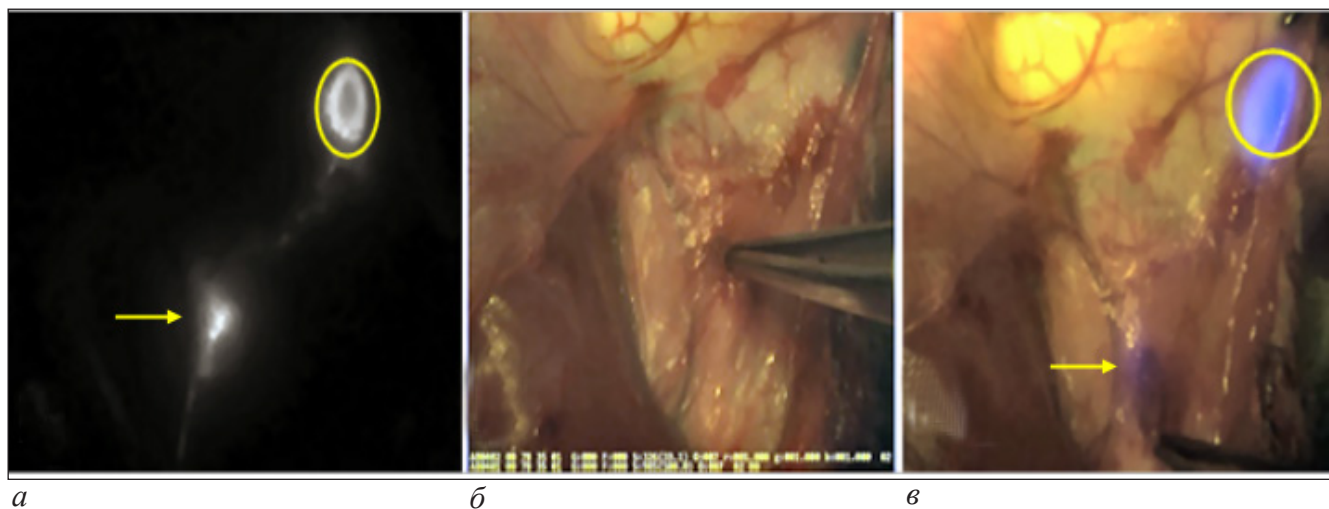


Рис. 2. Изображение одного и того же участка с лимфоузлом, сформированное системой FLUM-808: *а* – БИК-флуоресценция; *б* – белый свет; *в* – совмещенное (комбинированное) изображение.

Стрелкой показано место вкола препарата ИЦЗ, кружком – место расположения лимфоузла

Fig. 2. The image of the same site with the lymph node formed by the FLUM-808 system: *a* – near infrared fluorescence; *b* – white light; *v* – combined image. The arrow shows the injection site of the ICZ preparation, the circle – the location of the lymph node

в 0,5 мл 20 %-го раствора альбумин или в плазму крови. Из показанных на рис. 3 графиков видно, что интенсивность флуоресценции ИЦЗ в указанных средах при увеличении концентрации сначала растет и, достигнув максимума в районе 0,01–0,02 мг/мл, при дальнейшем увеличении концентрации падает (при 0,5 мг/мл примерно в 3 раза). Объясняется это перекрытием спектров поглощения и флуоресцентной эмиссии ИЦЗ, в результате чего происходит самопоглощение флуоресцентного излучения. При сравнении двух кривых между собой обращает на себя внимание почти вдвое более высокая интенсивность флуоресценции в плазме по сравнению с раствором альбумина. Это обстоятельство указывает на то, что другие белки плазмы, несмотря на их относительно небольшое количество, способны заметно увеличить суммарную интенсивность флуоресценции ИЦЗ. Какому из этих компонентов принадлежит лидирующая роль в усилении свечения, пока не ясно.

Из представленных данных о влиянии концентрации ИЦЗ на флуоресценцию следует, что при интерстициальном введении использование препарата в тех же высоких концентрациях, что и при системном вводе, не только бесполезно, но и нежелательно, поскольку способно ухудшить визуализацию структур лимфатической системы. Оптимальной концентрацией ИЦЗ, обеспечивающей наибольший контраст при наблюдении этих структур при местном введении, является величина около 0,01–0,02 мг/мл.

На рис. 4 показаны спектры поглощения и флуоресценции, измеренные

при концентрации 0,012 мг/мл, при которой минимально влияние самопоглощения.

Визуализация лимфатических сосудов кожи уха кролика. Флуоресцентная лимфография проводилась путем пошагового с временным интервалом 0,5–23 мин введения альбуминового раствора ИЦЗ (0,01–0,02 мл, 0,025 мг/мл) в эпидермальный слой кожи в верхней трети уха. Во время инъекции препарата с помощью системы FLUM-808 проводилась фото- и видео-съемка. Одна из фотографий, получен-

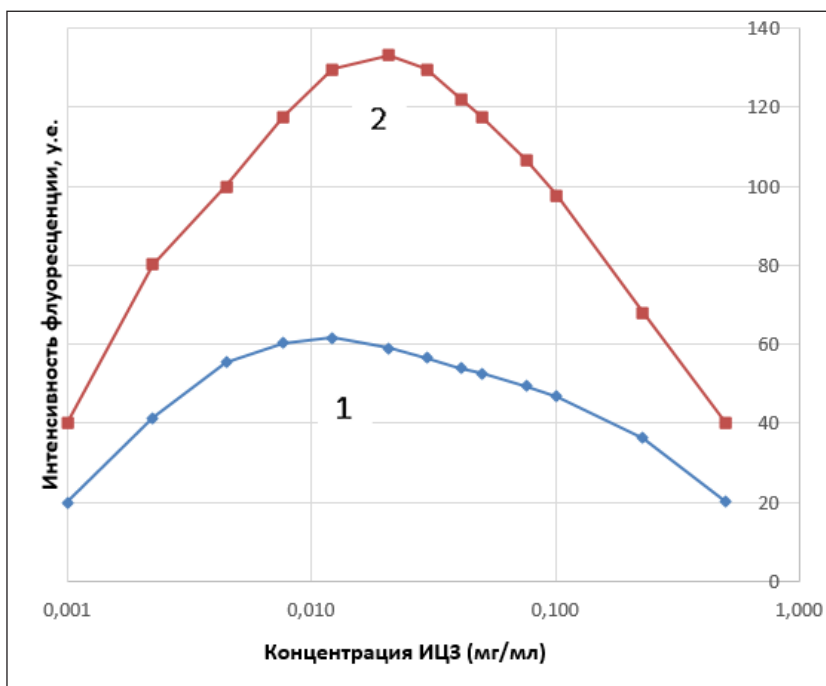
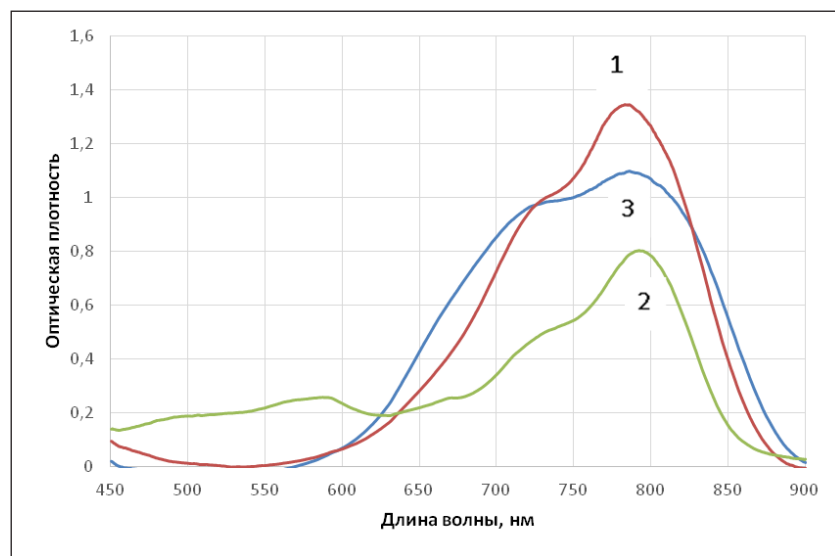
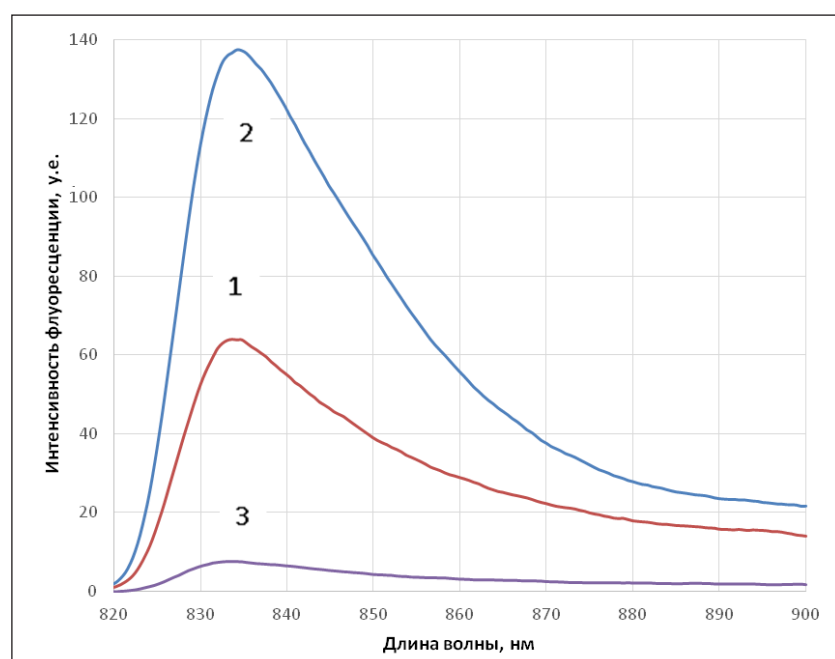


Рис. 3. Зависимость интенсивности флуоресценции раствора ИЦЗ от его концентрации в растворе альбумина (1) и в плазме крови (2), измерено с помощью прибора FLUM-808

Fig. 3. Dependence of the fluorescence intensity of the ICG solution on its concentration in the albumin solution (1) and in the blood plasma (2), measured with the FLUM-808 instrument



а



б

Рис. 4. Спектры поглощения (а) и флуоресценции (б) растворов ИЦЗ с концентраций 0,012 мг/мл в альбумине (1), плазме крови (2), воде (3).

Спектры измерены в кювете толщиной 5,5 мм с помощью многоволнового спектрометра «FOS-M» [4]

Fig. 4. Absorption spectrum (a) and fluorescence (б) of ICG solutions at concentrations of 0.012 mg/ml in albumin (1), blood plasma (2), water (3).

The spectrum were measured in a 5.5 mm thick cuvette using a multi-wavelength spectrometer «FOS-M» [4]

ная через 55 мин после начала серии микроуколов, показана на рис. 5.

После введения препарата в точку № 1 за счет абсорбции ИЦЗ в течение нескольких секунд визуализировались лимфатические сосуды диаметром 0,3–1,0 мм (преколлекторы и коллектор) в виде четко оконтуренных светящихся дорожек и выявлялось направление тока лимфы (стрелка). После следующих инъекций стала доступной для наблюдения сеть преколлекторов. Таким образом, лимфатическая система в конце процесса визуализации стала напоминать рисунок листа дерева. За динамикой этого процесса

можно наблюдать с помощью прилагаемого видео (видеоролик см. по адресу: <http://www.microcirculation.ru/content/view/94/9/lang,russian/>), полученного путем объединения фрагментов видеороликов, снятых при каждой инъекции.

Интраоперационное исследование лимфатической системы в легком человека. Визуализация лимфатических узлов, в том числе в легких, наиболее актуальна в онкологии, для идентификации так называемых «сторожевых» лимфатических узлов (СЛУ). Они являются первыми на пути оттока лимфы от злокачественных опухолей и эффективным фильтром для опухолевых клеток.

У больных сразу после торакотомии или торакоскопии, выполняемых стандартным образом, раствор ИЦЗ с 20 %-м АЧ в количестве 2 мл и концентрации 0,1 мг/мл вводился перитуморально в 3–4 точки. Затем в реальном времени оценивалась ИЦЗ-флуоресценция поверхности корня легкого и средостения с помощью FLUM-808.

Регистрация флуоресцентных изображений проводилась каждые 5 мин после введения ИЦЗ до появления признаков распространения ИЦЗ и визуализации первых лимфатических узлов. Выделение элементов корня легкого, пересечение путей лимфооттока в средостение, начиналось через 5 мин после инъекции ИЦЗ, затем проводилась стандартная резекция легкого в необходимом объеме и полная прикорневая и медиастинальная ипсилатеральная лимфодиссекция (рис. 6). После удаления препарата, перед ушиванием раны проводилась заключительная съемка флуоресцентного изображения в плевральной полости и средостении. Удаленные лимфатические узлы, как флуоресцирующие, так и нет, маркировались и подвергались плановому патоморфологическому исследованию. В операционной,

сразу же после удаления препарата, проводилась тщательная оценка флуоресценции зоны первичной опухоли, легочной паренхимы, всех удаленных лимфатических узлов и жировой клетчатки. Все лимфатические узлы, которые флуоресцировали, расценивались как «сторожевые». С помощью флуоресцентного метода СЛУ были обнаружены у 46 из 50 пациентов (92 %), при этом в 45 % из 137 таких лимфоузлов гистологически подтверждено наличие метастазов. При этом метастатическое поражение других лимфатических узлов ни разу не выявлено при отсутствии метастазов в СЛУ. Таким

образом, точность определения значимости СЛУ в оценке лимфогенного метастазирования составила 100 %.

Оптические свойства растворов ИЦЗ существенно зависят от среды, концентрации, длительности и условий хранения. Рекомендуется применять свежеприготовленные препараты. Главным фактором нестабильности является склонность ИЦЗ к агрегации, которая приводит к почти полному тушению флуоресценции в водном растворе. Благодаря своему амфифильному характеру, ИЦЗ может взаимодействовать как с липофильными, так и гидрофильными молекулами. В плазме крови ИЦЗ практически полностью (98 %) связывается с белками [9]. Спектр поглощения представляет собой комбинацию двух перекрывающихся полос, соответствующих димерам и мономерам. Максимум поглощения мономерной формы, обладающей наибольшей флуоресценцией, находится в области 780–790 нм. Максимум флуоресцентной эмиссии изменяется во времени – в первый момент он находится на 835 нм, а затем в течение часа постепенно снижается до 826 нм [9]. Эта динамика объясняется процессом связывания ИЦЗ с белками плазмы, что требует определенного времени.

Концентрация раствора ИЦЗ при внутривенном введении препарата для флуоресцентной ангиографии составляет 5 мг/мл [6]. Вопрос об оптимальной концентрации при лимфографических исследованиях, производимых при интерстициальном вводе, остается открытым [10].

Клиническое применение флуоресцентной лимфографии востребовано при различной патологии лимфатической системы. В этом аспекте применение БИК-флуоресцентной технологии открывает новые перспективы. Расширение возможностей этой технологии связано с совершенствованием регистрирующей аппаратуры и выбором оптимальных форм и способов введения ИЦЗ.

По данным М. А. Soto-Miranda et al. [13], внутрикожное введение водного раствора ИЦЗ (0,5 мг/мл) обеспечивает визуализацию лимфатических сосудов и узлов, регистрируемых с помощью прибора PDE (Япония). Исходя из наших данных, полученных *in vitro*, мы вводили ИЦЗ в 20 %-м растворе альбумина в значительно меньшей концентрации. При проведении регистрации с помощью разработанной нами высокочувствительной системы с лазерным источником возбуждения, можно было мониторировать в реальном масштабе времени распространение ИЦЗ по лимфатическому сосуду и дифференцировать отдельные лимфатические сосуды диаметром начиная от 0,3 мм и выше (рис. 5).

Такой методический подход был применен и в клинических условиях. ИЦЗ в 20 %-м альбумине вводился в ткань легкого по периферии опухоли, и с помощью FLUM-808 удавалось зарегистрировать как лимфатические сосуды, так и сторожевые лимфоузлы, что имеет большое практическое значение. Теоретически, если в СЛУ метастазов нет, то их не должно быть и в других, более удаленных от первичной опухоли, лимфатических узлах. В этом случае можно обойтись без тотального удаления регионарного лимфатического аппарата.

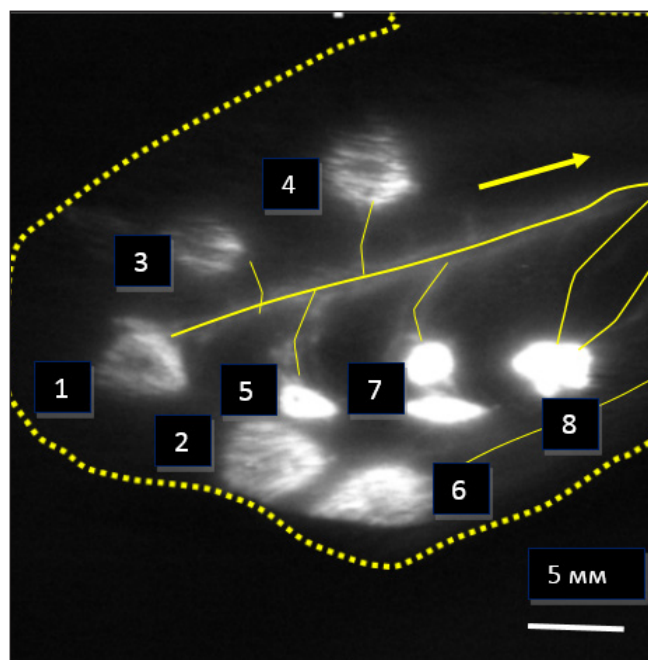


Рис. 5. Картина в свете ИЦЗ-флуоресценции, полученная на ухе кролика в результате ввода микродоз препарата. Цифрами обозначены место и последовательность вколов. Пунктирная линия – край уха; сплошные линии – лимфатические сосуды; стрелкой показано направление тока лимфы
Fig 5. A picture in the light of the NIR fluorescence obtained on the rabbit ear as a result of injecting microdoses of the preparation. Numbers indicate the place and sequence of the injections. Dotted line – edge of ear; solid lines – lymphatic vessels; arrow shows direction of lymph current



Рис. 6. Интраоперационное флуоресцентное картирование СЛУ после перитуморальной инъекции ИЦЗ у больного раком легкого

Fig. 6. Intraoperative fluorescence mapping of sentinel lymph node after peritumoral injection of indocyanin green in a patient with lung cancer

Методика ИК-флуоресцентного выявления СЛУ позволила также установить некоторые закономерности тока лимфы в зависимости от локализации первичной опухоли. Например, при локализации первичной опухоли в верхней доле правого легкого в качестве СЛУ наиболее часто идентифицированы

трахеобронхиальные лимфоузлы (у 87 % больных), затем прикорневые и бифуркационные лимфоузлы (75 %). При локализации опухоли в верхней доле левого легкого в качестве СЛУ наиболее часто определялись прикорневые лимфоузлы (75 %) и бифуркационные (50 %). Никаким другим методом прижизненно определить направление тока лимфы от легких во внутригрудные лимфатические узлы не представляется возможным. Обнаружение интраоперационным путем с помощью ИЦЗ флуоресценции СЛУ может быть полезно для предупреждения неоправданной лимфодиссекции у больных раком легкого [1, 2].

Выводы

Разработанная система БИК-флуоресцентной диагностики FLUM-808 позволяет визуализировать в реальном времени и с высоким разрешением лимфатические сосуды и лимфатические узлы, что должно стимулировать экспериментальное и клиническое исследование лимфатической системы с помощью инфракрасной флуоресценции. Для визуализации лимфатических сосудов кожи оптимальным является интрадермальное введение ИЦЗ, растворенного в 20 %-м альбумине в концентрации порядка 0,02 мг/мл. Перитуморальное введение ИЦЗ позволяет с помощью системы FLUM-808 интраоперационно визуализировать сторожевые лимфоузлы у больных раком легкого.

Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interests.

Литература / References

1. Акопов А. Л., Папаян Г. В., Чистяков И. В. и др. Интраоперационное определение сигнальных лимфатических узлов при помощи системы инфракрасной визуализации при местнораспространенном немелкоклеточном раке легкого // *Вестн. хир. им. И. И. Грекова*. – 2015. – № 4. – С. 13–17. Doi: 10.24884/0042-4625-2015-174-4-13-17 [Akopov A., Papayan G., Chistiakov I. i dr. Intraoperacionnoe opredelenie signalnkh lymphaticheskix uzlov pri pomoschi systemi infrakrasnoi fluorecencii pri mestnorasprostranennom nemelkokletochnom rake legkogo. *Vestnik khirurgii im Grekova*. 2015;4:13-17. (In Russ)].
2. Акопов А. Л., Папаян Г. В., Чистяков И. В. Интраоперационное определение «сторожевых» лимфатических узлов при раке легкого // *Вестн. хир. им. И. И. Грекова*. – 2015. – № 1. – С. 96–102. doi: 10.24884/0042-4625-2015-174-1-96-102. [Akopov A., Papayan G., Chistiakov I. Intraoperacionnoe opredelenie storozevikh lymphaticheskix uzlov pri rake legkogo. *Vestnik khirurgii im Grekova*. 2015;1:96-102. (In Russ)].
3. Папаян Г. В., Акопов А. Л. Флуоресцентная диагностика в ближнем инфракрасном диапазоне; аппаратура, применение // *Опт. журн.* – 2016. – Т. 63. – № 9. – С. 33–42. doi.org/10.1364/JOT.83.000536. [Papayan G. V., Akopov A. L. Fluorescence diagnostics in the near-IR: apparatus, application. *Journal of Optical Technology*. 2016;83(9):536-542. (In Russ)].
4. Папаян Г. В., Журба В. М., Кишалов А. А., Галагудза М. М. Волоконный флуоресцентно-отражательный спектрометр с многоволновым возбуждением // *Опт.*

журн. – 2014. – № 81 (1). – С. 45–50. doi.org/10.1364/JOT.81.000334. [Papayan G. V., Zhurba V. M., Kishalov A. A., Galagudza M. M. Optical-fiber spectrometer system for carrying out intraoperation studies. *J. Opt. Technol.* 2014;81(6):334-337. (In Russ)].

5. Папаян Г. В., Чефу С. Г., Петрищев Н. Н. др. Возможность использования конъюгата индоцианина зеленого с альбумином для инфракрасной флуоресцентной диагностики патологических процессов в эксперименте // *Вопр. онкол.* – 2016. – № 6. – С. 839–844. [Papayan G. V., Chifu S. G., Petrishchev N. N. et al. Vozmozhnost ispolzovaniya konyugata indocianina zelenogo s albuminom dlya infrakrasnoi fluorscentnoi diagnostiki patologicheskikh processov v eksperimente. *Voprosi onkologii*. 2016;6:839-844. (In Russ)].

6. Пасечникова Н. В., Гут Ю., Гут И. Основные принципы и клиническое использование индоцианина зеленой ангиографии в диагностике патологии глазного дна // *Офтальмолог. журн.* – 2008. – № 2. – С. 63–67. [Pasechnikova N. V., Gut Yu., Gut I. Osnovnie principii ispolzovaniya indocianina zelenogo v diagnostike patologii glaznogo dna. *Oftalmologicheskyy zhurnal*. 2008.2:63-67 (In Russ)].

7. Alander JT, Kaartinen I, Laakso A et al. Review of Indocyanine Green Fluorescent Imaging in Surgery. *Inter. J. Biomed. Imaging*. 2012;940585. doi: 10.1155/2012/940585.

8. Bollinger A, Amann-Vesti BR. Fluorescence microlymphography: diagnostic potential in lymphedema and basis for the measurement of lymphatic pressure and flow velocity. *Lymphology*. 2007;40(2):52-62.

9. Desmettre T, Devoisselle JM, Morton S. Fluorescence Properties and Metabolic Features of Indocyanine Green (ICG) as Related to Angiography. *Survey of ophthalmology*. 2000 45(1):15-27 doi: 10.1016/S0039-6257(00)00123-5.

10. Marshall MV, Rasmussen JC, Tan IC et al. Near-Infrared Fluorescence Imaging in Humans with Indocyanine Green: A Review and Update. *Open Surg. Oncol. J.* 2012. 2(2):12-235. doi: 10.2174/1876504101002010012.

11. National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th Edition. Washington, DC: National Academies Press; 2011.

12. Sevic-Muraca E.M., Swoon, J.C. Rasmussen. Emerging lymphatic imaging technologies for mouse and man. *J. Clin. Invest.* 2014;124(3):905–914. doi:10.1172/JCI71612.

13. Soto-Miranda MA, Suami H, Chang DW. Mapping superficial lymphatic territories in the rabbit. *Anat. Rec.* 2013;296(6):965-970. doi: 10.1002/ar.22699.

Информация об авторах

Папаян Гарри Вазгенович – кандидат технических наук, старший научный сотрудник центра лазерной медицины ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, старший научный сотрудник НИЛ микроциркуляции ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» МЗ РФ, e-mail: pgarry@mail.ru.

Акопов Андрей Леонидович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела торакальной хирургии НИИ хирургии и неотложной медицины ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: Akopovand@mail.ru.

Антонян Паруйр Арменович – аспирант кафедры пластической хирургии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» МЗ РФ, e-mail: paruyrant@gmail.com.

Ильин Андрей Андреевич – аспирант кафедры клинической анатомии и оперативной хирургии им. М. Г. Привеса ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: Andrewilyin@icloud.com.

Петришев Николай Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, руководитель Центра лазерной медицины ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: lasmed@yandex.ru.

Author information

Papayan Garry V. – PhD, Pavlov First State Medical University, Almazov National Medical Research Centre, e-mail: pgarry@mail.ru.

Akopov Andrey L. – MD, professor, Head of the Department of thoracic surgery, Research Institute for Surgery and Emergency

Medicine Pavlov First State Medical University, e-mail: Akopovand@mail.ru.

Antonyan Paruyr A. – postgraduate at the Department of plastic and reconstructive surgery Mechnikov North-Western State Medical University, e-mail: paruyrant@gmail.com.

Ilin Andrey A. – postgraduate at the Department of clinical anatomy and operative surgery named after M. Prives Pavlov First State Medical University, e-mail: Andrewilyin@icloud.com.

Petrishchev Nikolay N. – MD, professor Pavlov First State Medical University, e-mail: lasmed@yandex.ru.

УДК 616-092.9

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-92-96

КОЛПАКОВА М. Э.¹, ФИЛЬЧЕНКО И. А.¹,
ТРАЙКОВСКИЙ А.¹, ЦЫБА Д. Л.¹, КИРИК О. В.², ХАН А.¹,
ЛЯЙПЕРТ А.¹, КОРЖЕВСКИЙ Д. Э.², ВЛАСОВ Т. Д.¹

Особенности поведения в восьмирукавном лабиринте на фоне изменений активности микроглии полосатого тела после моделирования фокальной транзиторной ишемии головного мозга у крыс

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12
e-mail: patho@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 30.01.18; принята к печати 02.03.18

Резюме

Когнитивные расстройства при церебральной ишемии-реперфузии связаны с гибелью нейронов, на фоне которого развивается воспаление. Участие в этом процессе клеток микроглии активно исследуется. Целью работы являлось изучение активности микроглиоцитов у крыс с когнитивными расстройствами после моделирования фокальной транзиторной ишемии головного мозга. В эксперименте использовали половозрелых самцов массой 200–250 г (n=15). Ишемия головного мозга воспроизводилась под хлоралгидратным наркозом (внутрибрюшинно, 450 мг/кг). Микрохирургическое введение филамента в левую среднюю мозговую артерию (СМА) производили по J. Koizumi. Время окклюзии СМА составляло 30 мин с последующим реперфузионным периодом. Тестирование в восьмирукавном лабиринте проводилось двукратно в течение 7 дней с 2-дневным интервалом, во время которого каждое животное выполняло 5-минутную сессию 3 раза с 3-минутным интервалом. Для идентификации микроглиоцитов использовали поликлональные козьи антитела к антигену Iba1. При оценке поведения в восьмирукавном лабиринте после перенесенной фокальной транзиторной ишемии головного мозга было выявлено значительное количество ошибок оперативной памяти, а также увеличение времени выполнения задания. Когнитивные нарушения, возможно, служат индикатором нейровоспаления при церебральной ишемии. Выявленные изменения поведения и морфологии нервной ткани на поздних сроках постишемического периода дают представление о возможных механизмах компенсации снижения когнитивных функций за счет активации микроглии.

Ключевые слова: ишемия, восьмирукавный лабиринт, микроглия, головной мозг

Для цитирования: Колпакова М. Э., Фильченко И. А., Трайковский А., Цыба Д. Л., Кирик О. В., Хан А., Ляйперт А., Коржевский Д. Э., Власов Т. Д. Особенности поведения в восьмирукавном лабиринте на фоне изменений активности микроглии полосатого тела после моделирования фокальной транзиторной ишемии головного мозга у крыс. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(2):94–98. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-92-96

UDC 616-092.9

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-92-96

KOLPAKOVA M. E.¹, FILCHENKO I. A.¹, TRAJKOVSKI A.¹,
TSYBA D. L.¹, KIRIK O. V.², ARIEB A. KHAN¹, LEIPERT A.¹,
KORZHEVSKII D. E.², VLASOV T. D.¹

Rat's behaviour in eight-arms maze after modeling of focal transient cerebral ischemia with subsequent activation of striatal microglia

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Pavlov First Saint Petersburg State Medical University», Saint-Petersburg, Russia

197022, Russia, Saint-Petersburg, L'va Tolstogo street, 6-8

² Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of Experimental Medicine», Saint-Petersburg, Russia

197376, Russia, Saint-Petersburg, Akademica Pavlova street, 12

e-mail: patho@yandex.ru

Received 30.01.18; accepted 02.03.18.

Summary

It is well known that cognitive disorders at cerebral ischemia-reperfusion are followed by neuronal death. The inflammation of nervous tissue occurs, but the role of microgliaocytes in neuroprotection is poorly understood. The aim of our work was to study microgliaocytes in rats with cognitive disorders in delayed postischemic period after focal transient cerebral ischemia. In an experiment we used male rats ($n=15$), weighing 200–250. The model of focal brain ischemia was performed in anaesthetized rats (intraperitoneally, chloralhydrate 450 mg/kg). Microsurgical introduction monofilament to the left middle cerebral artery was made by J. Koizumi technique. Time of middle cerebral artery (MCA) occlusion was 30 minutes with the subsequent reperfusion period. Testing in eight-arm maze was performed within seven days twice with a two-day interval during which each animal carried out a 5-minute session 3 times with a 3-minute interval. For identification of microgliaocytes used polyclonal goat antibodies to Iba1 antigen. At behavior assessment in an eight-arm maze there were errors of working memory revealed and prolongation of time of task performance. Cognitive disorders at cerebral ischemia, perhaps, serve as the neuroinflammation indicator. Microglia is likely involved in mechanisms of neuroprotection and compensation for cognitive disorders.

Key words: ischemia, eight-arm maze, microglia, brain

For citation: Kolpakova M. E., Filchenko I. A., Trajkovski A., Tsyba D. L., Kirik O. V., Ariebe A. Khan, Leipert A., Korzhhevskii D. E., Vlasov T. D. Rat's behaviour an eight-arms maze after modeling of focal transient cerebral ischemia with subsequent activation of striatal microglia. *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2018;17(2):94–98. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-92-96

Введение

Острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), или ишемический инсульт, чаще возникает в бассейне средней мозговой артерии. Известно, что когнитивные расстройства при церебральной ишемии-реперфузии связаны с гибелью нейронов коры, базальных ядер, поэтому в последнее время отдается предпочтение модели фокальной церебральной ишемии с односторонней или двусторонней окклюзией средних мозговых артерий (МКАО). Однако роль изменений микроглии остается недостаточно изученной.

Целью работы являлось изучение изменения поведения крыс Wistar в восьмирукавном лабиринте на фоне перенесенной фокальной транзиторной ишемии головного мозга, а также структуры и распределения микроглиоцитов в головном мозге крысы в отдаленные сроки после транзиторной фокальной ишемии.

Материал и методы исследования

Все эксперименты были проведены в соответствии с рекомендациями Этического комитета ПСПбГМУ им. И. П. Павлова и в соответствии с требованиями постановления главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 29 августа 2014 г. № 51 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». В постановке опытов руководствовались требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных.

В эксперименте использовали половозрелых самцов массой 200–250 г ($n=15$). Опыты проводили после недельного периода акклиматизации животных. Все животные содержались в индивидуальных клетках при постоянной комнатной температуре 22 °C со сменой циклов света и темноты по 12 ч, со свободным доступом к еде и воде, соблюдая принципы гуманного обращения с животными, регламентированные

требованиями Европейской конвенции (Страсбург, 1986 г.) по содержанию, кормлению и уходу за подопытными животными.

Уход за животными проводился в период с 8 ч утра до 8 ч вечера. Животных, которые не различались по показателям обучения, тренировали находить пищу в рукавах радиального лабиринта, после чего животные были поделены на группы: интактные (контрольные) и животные после 30-минутной ишемии головного мозга и последующим реперфузионным периодом до 50 дней.

Модель фокальной транзиторной ишемии головного мозга воспроизводилась под хлоралгидратным наркозом (внутрибрюшинно, 450 мг/кг). Температура тела животных поддерживалась на уровне 36,5–37,5 °C с помощью нагревательного столика и контролировалась с помощью ректального датчика. Микрохирургическое введение филамента в левую среднюю мозговую артерию (СМА) производили по методике J. Koizumi (1986) под операционным микроскопом (*Carl Zeiss, Jena, Germany*). Время окклюзии СМА составляло 30 мин с последующим реперфузионным периодом.

Исследование поведения в восьмирукавном радиальном лабиринте (РВЛ). Тренировочное и экспериментальное тестирование проводили согласно стандартам проведения экспериментов в восьмирукавном радиальном лабиринте. Период адаптации длился пять дней, в течение которого контролировалась масса тела и животные привыкали к рукам экспериментатора. Вес животных литмировали до 85 % от исходного для повышения их мотивации к поиску пищи в рукавах лабиринта.

Затем в течение следующих 5 дней во время подготовительного периода каждую из крыс поочередно помещали в центральную часть арены лабиринта при открытых входах в рукава лабиринта с приманкой, подсчитывая общее время, затраченное на его поведение, время, потраченное на посещение каждого из рукавов, число ошибок. При этом пространственную

характеристику среды вокруг лабиринта не меняли (рис. 1, 2).

Тестирование проводилось в течение 7 дней с 2-дневным интервалом, во время которого каждое животное выполняло 5-минутную сессию 3 раза с 3-минутным интервалом. Затем через 2-дневный интервал проводили повторное тестирование в тех же условиях, подсчитывали число ошибок, т. е. повторных заходов в уже посещенные в течение этого сеанса рукава.

Морфологическое исследование

Материал фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде [2], обезживали и заливали парафин по общепринятой методике. Для идентификации микроглиоцитов использовали поликлональные козы антитела к антигену Iba1 (*AbCam*, Великобритания, по каталогу – ab5076) в соответствии с ранее опубликованным протоколом [3]. На препаратах у всех исследованных животных измеряли диаметр ядросодержащей части микроглиоцитов, а также (при увеличении $\times 400$) определяли относительную площадь среза, занимаемую микроглиоцитами, как их телами, так и отростками, с использованием компьютерной программы «ImageJ» (США). Для каждого случая вычисляли различия между показателями, характеризующими правое и левое полушарие. Сравнение наблюдений производили с помощью t-критерия (Стьюдента). Различия считали значимыми при $< 0,05$.

Статистическая обработка данных РВЛ. В конце исследования была выполнена статистическая обработка результатов для оценки разницы между контрольной, ложно оперированной и группой животных с окклюзией СМА. Данные об оперативной памяти животных обрабатывали с помощью дисперсионного анализа, реализованного в пакете программ «Statistica for Windows».

Результаты исследования и их обсуждение

В начале эксперимента у контрольных животных и у животных с ишемией отмечается значительное количество ошибок по выбору рукава, т. е. количество

повторных входов в рукав лабиринта. Однако к концу первого тестирования количество ошибок животных контрольной группы значительно уменьшается, в то время как количество ошибок у животных с перенесенной фокальной ишемией остается достаточно высоким.

К концу всего периода наблюдения за животными контрольная группа животных выполняет задание в полном объеме, не допуская ошибок. Напротив, в группе с ишемией количество ошибок лишь уменьшается, однако отсутствует стопроцентное выполнение задания.

Кроме того, крысы контрольной группы характеризуются стратегией, отличной от животных с ишемией. Для их поведения характерно динамичное посещение всех рукавов, в которых находится приманка, при этом отмечается четкая последовательность посещения рукавов, а выполнение задания в конце периода тестирования стопроцентное. В поведении крыс на ранних сроках после фокальной транзиторной ишемии головного мозга прослеживается определенная тактика, а именно – в процессе тестирования животное с ишемией предпочитает многократно посещать один и тот же рукав лабиринта. При этом время выполнения задания по поиску пищи значительно увеличивается.

Морфологически в ипсилатеральном полушарии через 50 суток вокруг очагов незначительного повреждения стриатума тела микроглиоцитов выглядели увеличенными. Немногочисленные отростки клеток были короткими и утолщенными. В самом очаге деструкции микроглиоциты также имели укрупненную ядросодержащую часть и по 1–2 неветвящихся толстых отростка. В других структурах мозга количество микроглиоцитов было увеличено, но их структура не отличалась от таковой у микроглиоцитов контрольных животных. После перенесенного ишемического инсульта в ипсилатеральном полушарии непосредственно в пограничной области встречались многочисленные микроглиоциты амeboидной формы с цитоплазматическими выростами. В области инфаркта мозга, помимо микроглиоцитов, обнаруживались типичные



Рис. 1. Восьмирукавный радиальный лабиринт.
Тренировочная фаза
Fig. 1. Eight-arm maze. Training phase

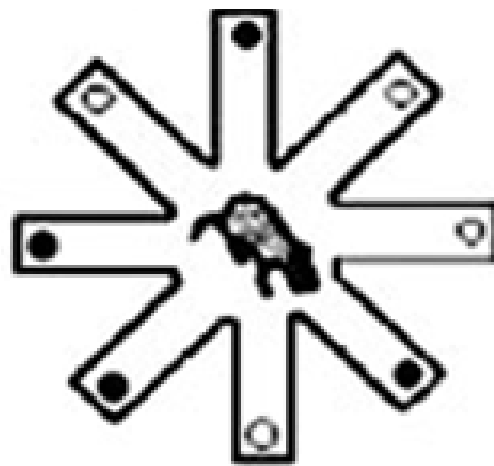


Рис. 2. Восьмирукавный радиальный лабиринт.
Тестовая фаза
Fig. 2. Eight-arm maze. Testing phase

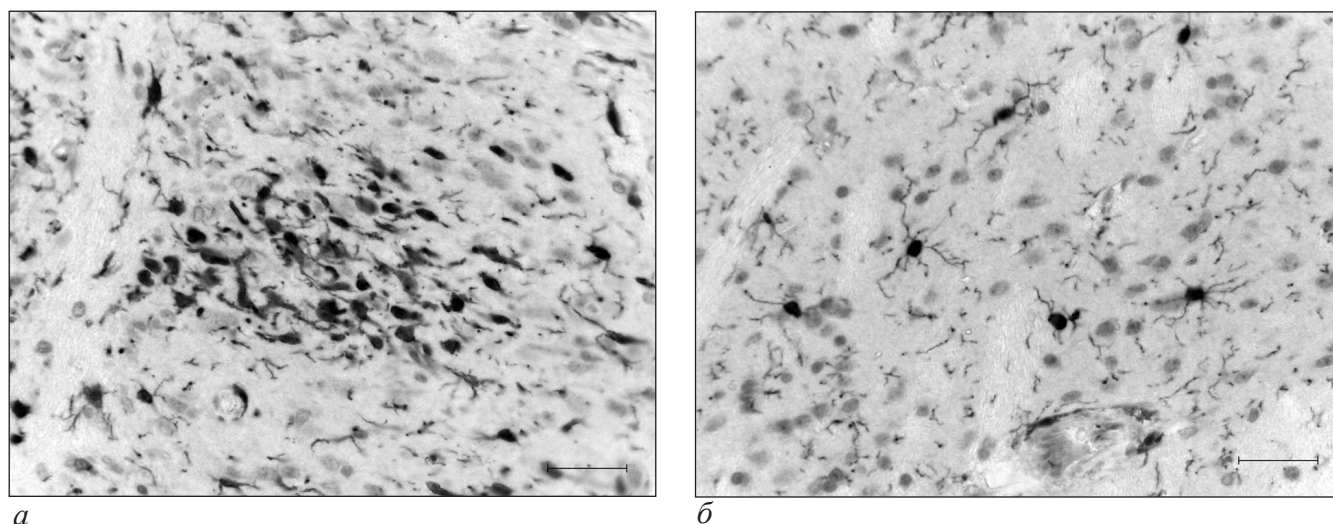


Рис. 3. Оценка морфофункциональных изменений микроглии в полосатом теле: *а* – ипсилатеральное полушарие; *б* – контрлатеральное полушарие

Fig. 3. Assessment of microglia morphofunctional changes in corpus striatum: *a* – ipsilateral hemisphere; *б* – contralateral hemisphere

Iba1-иммунопозитивные макрофаги (рис. 3, *а*).

В сером веществе стриатума контрлатерального полушария присутствуют многочисленные тонкие отростки Iba1-иммунопозитивных (Iba1+) клеток, тела которых редко попадают в плоскость среза. Рядом с капиллярами встречаются палочковидные формы этих клеток, вытянутые вдоль проходящего капилляра. Белое вещество пронизано немногочисленными отростками этих клеток, преимущественно ориентированными вдоль хода нервных волокон, ядросодержащие части клеток встречаются редко. В субэпендимной зоне Iba1+-клетки с тонкими, разветвленными отростками располагаются непосредственно под эпендимоцитами. Во всех случаях в контрлатеральном полушарии мозга форма и характер распределения микроглиоцитов не отличались от таковых у контрольных животных (рис. 3, *б*).

В модели фокальной транзиторной ишемии головного мозга в бассейне средней мозговой артерии ишемическое повреждение затрагивает кору и базальные ганглии большого мозга. На основании ранее проведенного исследования [1] установлено, что 30-минутная ишемия мозга приводит к значимому уменьшению популяции нейронов верхнемедиальной зоны стриатума. Эта область мозга участвует в способности запоминать точное месторасположение объектов, т. е. за навигацию. Основными механизмами, приводящими к гибели нейронов при ишемии, считают воспаление и оксидативный стресс. Снижение АТФ в нейронах при гипоксии нервной ткани влияет на процесс хранения и воспроизведения информации [4]. Микроглия является ключевым элементом воспалительного процесса, развивающегося в нервной ткани в ответ на ишемию. Дезорганизация межнейронных связей на фоне воспаления сопровождается снижением функциональной активности

Количество повторных входов в рукав на разных сроках после ишемии

The number of reentry the arm on different terms				
День				Время выполнения задания, мин
1-й	2-й	3-й	4-й	
Контроль				
7,0±0,1	2,0±0,5	0,8±0,4	0,5±0,1	115,0±13,0
Ишемия				
8,0±0,2	6,1*±0,1	3,0*±0,2	1,5*±0,3	189,0*±15,0

Примечание: * – $p < 0,05$.

нейронов поврежденной области [5]. Микроглия же участвует в регуляции процесса синаптической организации в нервной ткани, ее восстановления после повреждения. Восстановление утраченных функций в постинсультном периоде происходит за счет перинфарктной области пораженного полушария.

При оценке поведения в восьмирукавном лабиринте после перенесенной фокальной транзиторной ишемии головного мозга было выявлено значительное количество ошибок оперативной памяти (количество повторных входов в рукав лабиринта), что оказывало влияние на общее время выполнения задания поиска пищи (таблица). Когнитивные нарушения, возможно, служат индикатором нейровоспаления при церебральной ишемии.

Выявленные изменения поведения и морфологии нервной ткани на поздних сроках постишемического периода дают представление о возможных механизмах компенсации снижения когнитивных функций за счет активации микроглии.

Учитывая, что основной мишенью для восстановительного лечения после инсульта служат эндогенные механизмы нейропластичности, определение вышеперечисленных компонентов нервной ткани необходимо для разработки новых способов для эффективной таргетной восстановительной терапии инсульта.

Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interests.

Литература / References

1. Коржевский Д. Э., Власов Т. Д., Кирик О. В., Сухорукова Е. Г. Селективная гибель нейронов стриатума крысы после // *Морфология*. – 2009. – № 2. – С. 80–82. [Korzhevsky DE, Vlasov TD, Kirik OV, Sukhorukova EG. Selective death of the striatum neurons in rats after the transient occlusion of the middle cerebral artery. *Morfologiya*. 2009;2:80–82. (In Russ)].
2. Коржевский Д. Э., Григорьев И. П., Отеллин В. А. Применение обезвоживающих фиксаторов, содержащих соли цинка, в нейрогистологических исследованиях // *Морфология*. – 2006. – Т. 129. – Вып. 1. – С. 85–87. [Korzhevsky DE., Grigoriev IP. and Otellin VA. Application of the dehydrating clamps containing Zincum salts in neurohistologic researches. *Morphology*. 2006;129(1):85–87. (In Russ)].
3. Сухорукова Е. Г., Кирик О. В., Коржевский Д. Э. Применение иммуногистохимического метода для выявления микроглии головного мозга в парафиновых срезах // *Бюлл. эксперимент. биол.* – 2010. – Т. 149. – № 6. – С. 709–712. [Sukhorukova E.G., Kirik O.V., Korzhevsky D. E. The use of immunohistochemical method for detection of brain microglia in paraffin sections // *Bull exp boil med*. 2010;149(6):709–712. (In Russ)].
4. Denes A, Thornton P, Rothwell N, Allan S. Inflammation and brain injury: acute cerebral ischaemia, peripheral and central inflammation *Brain Behav Immun*. 2010; 24:708–723. *Doi: 10.1016/j.bbi.2009.09.010*.
5. Jin R, Yang G, Li G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells. *J Leukoc Biol*. 2010;87:779–789. *doi: 10.1189/jlb.1109766*.

Информация об авторах

Власов Тимур Дмитриевич – профессор, заведующий кафедрой патофизиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: tvlasov@yandex.ru.

Коржевский Дмитрий Эдуардович – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», e-mail: dek2@yandex.ru.

Колпакова Мария Эдуардовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: patho@yandex.ru.

Кирик Ольга Викторовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», e-mail: olga_kirik@mail.ru.

Фищенко Ирина Александровна – студентка 6 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: iriina6994@gmail.com.

Трайковский Александр – студент 4 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: aleksandartrajkovski12@gmail.com.

Цыба Дарья Леонидовна – студентка 3 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: dariasnow97@gmail.com.

Хан Ариб – ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ

Лайперт Антония – ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, Klinikum Landkreis Erding, Germany, e-mail: antonialeipert@hotmail.com.

Author information

Vlasov Timur D. – professor, Head of Pathophysiology Department First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, e-mail: tvlasov@yandex.ru.

Korzhevskii Dmitry E. – PhD, Head of Laboratory of Pathomorphology, Institute of Experimental Medicine, e-mail: dek2@yandex.ru.

Kolpakova Mariya E. – associate Professor Pathophysiology Department, First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, e-mail: patho@yandex.ru.

Kirik Olga V. – PhD, Laboratory of Pathomorphology Institute of Experimental Medicine, e-mail: olga_kirik@mail.ru.

Filchenko Irina A. – 6-th year student, Faculty of Medicine First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, e-mail: iriina6994@gmail.com.

Trajkovski Alexandr – First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, e-mail: aleksandartrajkovski12@gmail.com.

Tsyba Darya L. – 3-th year medical student, Medical faculty First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, e-mail: dariasnow97@gmail.com.

Arieb A. Khan – First Pavlov State Medical University of St. Petersburg.

Leipert Antonia – First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Klinikum Landkreis Erding, Germany, e-mail: antonialeipert@hotmail.com.

СИМПОЗИУМ
«МИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ И ЕЕ ЗНАЧЕНИЕ
В КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ»

4–6 октября 2018 г.
Санкт-Петербург, Россия

Уважаемые коллеги!

В рамках Объединенного конгресса «Open Issues in Thrombosis and Hemostasis совместно с 9-й Всероссийской конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии» 4–6 октября 2018 г. в Санкт-Петербурге состоится специальный симпозиум **«Микроциркуляция и ее значение в клинических исследованиях»** (модераторы: профессор Т. Д. Власов, профессор А. И. Крупаткин, профессор Н. Н. Петришев).

К рассмотрению запланированы следующие вопросы:

- выбор метода оценки микроциркуляции применительно к конкретным задачам;
- роль эндотелия в нарушениях микроциркуляции;
- оценка микроциркуляции как метода мониторинга течения заболевания.

Приглашаем посетить симпозиум **«Микроциркуляция и ее значение в клинических исследованиях»**.

Чтобы зарегистрироваться на Конгресс, а также ознакомиться с Предварительной программой и другими материалами мероприятия, приглашаем посетить сайт Конгресса:
www.coith2018.com



IX Всероссийская Конференция по клинической гемостазиологии и гемореологии

Дорогие друзья и коллеги!

Мы рады пригласить Вас к участию в объединенном конгрессе «Open Issues in Thrombosis and Hemostasis» совместно с IX Всероссийской конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии, которая пройдет в Санкт-Петербурге с 4 по 6 октября 2018 года.

Конференция по клинической гемостазиологии стала замечательной традицией отечественной медицины. Особенностью нашего мероприятия является его мультидисциплинарность, позволяющая объединить исследователей, клиницистов, фармакологов, специалистов по лабораторной медицине, жизнь и работа которых связана с изучением системы гемостаза.

Это мероприятие - совместный проект двух команд – Российской и международной, чья совместная работа даст возможность подготовить уникальную научную программу на основе лекций, презентаций и обсуждений. Главная цель нашей работы - способствовать развитию новых форм сотрудничества в дружественной атмосфере и непринужденной обстановке.

Программа Конференции охватит широкий круг вопросов тромботических и геморрагических осложнений, трансфузионной тактики, анти тромботической и гемостатической терапии на основании современных представлений и последних достижений клинической и фармакологической науки.

Не пропустите возможность увидеться с друзьями и коллегами в прекрасном городе Санкт-Петербурге – городе, полном истории, мистики, литературных героев и современных событий, прекрасном и величественном!

Ждем Вас!



**Вавилова
Татьяна
Владимировна**

д.м.н., профессор,
Председатель 9-ой
Всероссийской Конференции
по клинической
гемостазиологии
и гемореологии

КЛЮЧЕВЫЕ ТЕМАТИКИ

- Тромбоз и гемостаз при раке
- Тромбоз и гемостаз у женщин
- Тромбоз и гемостаз в педиатрии
- Тромбоз и гемостаз при трансплантации органов и стволовых клеток
- Тромбоз и гемостаз у пациентов с коморбидностью
- Тромбоз и гемостаз в неврологии
- Тромбоциты и их мониторинг
- Артериальные тромбозы
- Венозные тромбоэмболические осложнения
- Тромбогеморрагические синдромы
- Геморрагические заболевания, Кровотечения и Patient Blood Management
- Фибринолиз, протеолиз и микрочастицы
- Клиническая гемореология и микроциркуляция

CONGRESS ON OPEN ISSUES IN THROMBOSIS & HEMOSTASIS

Зарубежные спикеры конгресса

P.Mannucci	M.Levi	P.Prandoni	P.Verhamme	C.van Ommen
D.Varon	F.Rodeghiero	M.Colucci	C.Becattini	P.Coppo
G.Kenet	S.Coccheri	R.Lijnen	J.-F.Brun	A.Lubetsky
B.Brenner	L.Badimon	U.Nowak-Gottl	N.Antonova	E.Lev
F.Rosendaal	T.Padro	C.Patrono	U.Windberger	R.Ljung



**Международная
инициатива**

«Open Issues in
Thrombosis and
Hemostasis»

Одобрено



Под эгидой



Под эгидой



При поддержке



Организатор

National Association of experts on thromboses, clinical hemostatology and hemorheology

www.coith2018.com

Правила для авторов

Общие требования

- Общими критериями работ, принимаемых для публикации в журнале, является актуальность, новизна материала и его ценность в теоретическом и/или прикладном аспектах. Принимаются материалы, которые еще не были опубликованы в других периодических изданиях. Статьи, имеющие приоритетный характер, публикуются в первую очередь.
- К статье должно прилагаться сопроводительное письмо – направление от всех учреждений, где выполнялось данное исследование.
- К статье должен прилагаться лицензионный договор в двух экземплярах о передаче издателю авторского права на публикацию работы. Текст договора находится на сайте журнала www.microcirculation.ru
- В конце статьи должны быть собственноручные подписи всех авторов,
- К статье прилагается полный список авторов в формате: ФИО (полностью), ученая степень (полностью), ученое звание, должность в учреждении, e-mail. *Пример: Петров Вадим Викторович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник кафедры патофизиологии Первого государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова, lasmed@ya.ru.*
- Редакция обеспечивает экспертную оценку (рецензирование) рукописей, привлекая для этого независимых рецензентов. На основании письменных рецензий и заключения редколлегии рукопись принимается к печати, отклоняется или высылается автору (авторам) на доработку.
- Редакция оставляет за собой право публиковать принятые к печати статьи в том номере и в такой последовательности, которые представляются оптимальными для журнала.

Оформление рукописи

• Статья должна быть четко структурирована и состоять из следующих разделов: «Введение», «Материал и методы исследования», «Результаты исследования», «Обсуждение результатов», «Литература». В начале статьи указываются УДК, название статьи, фамилии и инициалы авторов, место выполнения работы с указанием почтового адреса, краткое резюме статьи на русском и английском языках (в английском варианте обязателен перевод заглавия, фамилий авторов, места выполнения работы, адреса и ключевых слов), адрес электронной почты автора, с которым следует вести переписку.

• Текст статьи должен быть тщательно выверен. Сокращение слов и названий допускается только с первоначальным указанием полного названия. В тексте статьи должна быть использована система единиц СИ.

• Литература приводится в виде алфавитного списка. Не допускаются ссылки на неопубликованные работы, на авторефераты диссертаций. В тексте в квадратных скобках дается ссылка на порядковый номер из списка. Для журнальных статей приводится название журнала, год, том, номер и страницы, на которых опубликована статья; для книг – название, место и год издания. В случае ссылок на Интернет-источники, обязательно указывается номер электронного документа (DOI).

Примеры: Енькина Т. Н., Лукичев Б. Г., Енькин А. А., Гринев К. М. Влияние шунтового кровотока по артериовенозной фистуле на развитие сердечной недостаточности у больных с хронической почечной недостаточностью, скорректированной программным гемодиализом // Нефрология. 2000. Т. 4. № 1. С. 48–52.

Neunhäuserer D., Zebedin M., Obermoser M. et al. Human skeletal muscle: transition between fast and slow fibre types // Pflugers Arch. 2011. Vol. 461. № 5. P. 537–543. doi: 10.1007/s00424-011-0943-4.

• Если количество авторов превышает 4, то указываются только первые три автора, после чего пишется «и др.» или «et al.»

• Крайне нежелательны ссылки на учебные пособия и руководства, справочные издания, ГОСТы и стандарты – в научных статьях это неуместно.

• Для оригинальной статьи суммарный объем, включая пронумерованный список литературы, не должен превышать 15 страниц (формат А4) материалов, напечатанных в двух экземплярах через двойной интервал, 12 кегль, с полями 25 мм слева, сверху, справа и снизу. Объем и оформление других видов работ (обзоры, лекции или иное) согласуются с Редакцией заранее.

• Графические и иные иллюстративные материалы, формулы представляются в отдельных файлах в формате tiff или jpeg, а в тексте указывается их место. Количество иллюстраций должно быть безусловно необходимым. Фотографии должны быть контрастными, рисунки четкими. В названии файла указывается фамилия автора и номер рисунка, например: Иванов_рис1. Микрофотографии должны иметь масштабную отметку, а в подписи – увеличение.

• Рукописи, оформленные не по Правилам, к рассмотрению не принимаются.

• К статье необходимо приложить резюме (на русском и английском языках). Общий объем резюме должен быть 200–250 слов. Резюме должно включать: Введение и цель работы; Материалы и методы; Основные результаты и их обсуждение; Выводы.

Разное

• Редакция просит возвращать исправленные после рецензирования и перепечатанные заново рукописи не позднее двух месяцев от времени их получения. Превышение этих сроков замедлит публикацию рукописи.

• Авторский гонорар и оплата труда по рецензированию рукописей не предусмотрены.

• Рукописи, не принятые к печати, авторам не возвращаются.

• Корректурa высылается авторам для исправления на 1 неделю. В случае, если авторы не возвращают корректуру статьи, она будет опубликована в том виде, в каком была отправлена авторам.

• Оформленные в соответствии с настоящими Правилами рукописи и заполненную форму договора следует направлять по адресу: Санкт-Петербург 197022, ул. Льва Толстого, 6-8, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, кафедра патофизиологии, проф. Власову Тимуру Дмитриевичу. Тел.: (812) 499-7035. Тел./факс: (812) 499-7069.

Электронная версия

В конверт с рукописью (в 2-х экземплярах) следует вложить CD-диск с текстом статьи в редакторе Word. Рисунки и фотографии должны быть представлены отдельными файлами в форматах TIF или JPG. Допускается прием статьи по электронной почте. В этом случае к текстовому файлу должны быть приложены файлы рисунков, а также сканы подписей авторов и направлений учреждения. E-mail: microcirculation@yandex.ru

Телефон (812) 499–70–35
Тел/факс (812) 499–70–69
e-mail: tvlasov@yandex.ru

15371 – индекс в каталоге «Роспечать»
42410 – индекс в каталоге «Пресса России»

Главный редактор – профессор *Н. Н. Петрищев*
Зам. главного редактора – д-р мед. наук *Т. Д. Власов*
Ответственный секретарь – д-р мед. наук *С. Н. Тульцева*
Переписка с авторами – e-mail: tultceva@yandex.ru

Верстка – А. А. Чиркова
Корректор – В. А. Черникова
Адрес редакции: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8