

УДК 612.1:616-018:616

© Колектив авторів, 2012.

## МЕХАНІЗМИ ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН І ЇХ КОРЕКЦІЇ У ХВОРИХ ПОХИЛОГО ВІКУ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ

**Б.Ф. Яковлев, Д.В. Ватліцов, К.М. Ігрунова, М.Г. Аніщук**

*Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика, Центральна науково-дослідна лабораторія (керівник – д.м.н. К.М.Ігрунова), м. Київ.*

### MECHANISMS OF PATHOLOGICAL CHANGES AND THEIR CORRECTION IN ELDERLY PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE

**B.F. Yakovlev, D.V. Vatlitsov, K.M. Igrunova, M.G. Anischiuk**

#### SUMMARY

Endogenous intoxication (EI) is among the most common in clinical practice and is observed at different etiologically and pathogenetically non-identical conditions. Immunological studies were carried out biochemical blood of patients before and after treatment. It has been shown that patients developing endotoxycosis, which led to the activation of regenerative systems of the body, which was confirmed by studies of the index of apoptosis induction. The technique, which allows to identify endotoxycosis even without external manifestations and to determine the degree of its severity and to develop individual correction scheme.

### МЕХАНИЗМЫ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ И ИХ КОРРЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

**Б.Ф. Яковлев, Д.В. Ватлицов, К.М. Игрунова, М.Г. Анищук**

#### РЕЗЮМЕ

Эндогенная интоксикация (ЭИ) принадлежит к наиболее распространенным явлениям в клинической практике и наблюдается при различных этиологически и патогенетически нетождественных состояниях. Проводились биохимические иммунологические исследования крови больных до и после лечения. Было показано, что у больных развивался эндотоксикоз, который приводил к активации восстановительных систем организма, что было подтверждено исследованиями индекса индукции апоптоза. Предложена методика, позволяющая выявить эндотоксикоз даже без внешних проявлений и определить степень его тяжести и разрабатывать индивидуальные схемы коррекции.

**Ключові слова:** ендотоксикоз, апоптоз, функціональний резерв, молекули середньої маси.

Стан життєздатності клітин є відображенням співвідношення їх загибелі та відновної проліферації. Відомо, що загибель клітин відбувається шляхом некрозу та апоптозу. Некроз є проявом патологічного ушкодження і незворотної смерті клітини [13]. Апоптоз це регульований, енергозалежний процес генетично запрограмованої загибелі клітини [11], необхідний для нормального функціонування органу, підтримки гомеостазу та видалення ушкоджених або генетично небезпечних клітин, який має свої специфічні морфологічні та біохімічні ознаки.

Існує два сигнальних шляхи активації апоптозу. Зовнішній – через поверхневі рецептори «клітинної смерті» (Fas, TNFR1, DR3, DR4, DR5 та ін), через який непотрібні клітини отримують сигнали смерті від організму, і внутрішній в ослаблених клітинах – через власні мітохондрії. Перший шлях регулюється фізіологічними медіаторами – індукторами апоптозу: цитокіни, гормони, інгібіторами апоптозу – ростовими факторами [2, 3, 6].

Також відомо, що супроводжує ендотоксикоз багато захворювань, наявність ендотоксинів свідчить про запальні процеси, а виходячи з кількості та динаміки можна зробити висновок, щодо важкості та перебігу запальних процесів. Критерієм ендогенної інтоксикації використовують визначення рівня

середньо молекулярних пептидів (молекул середньої маси). Молекули середньої маси (МСМ) це різні за хімічною структурою компоненти, що виділяють з крові з молекулярною масою від 500 до 5000 Да. МСМ це продукти розпаду білка і діють як вторинні ендотоксини. Підвищення рівня МСМ обумовлено порушенням елімінації їх з організму, посиленням утворення в тканинах, або сумарною дією цих двох чинників. Відомо, що ендотоксикоз різного генезу супроводжується збільшенням рівня МСМ, при цьому рівень МСМ корелює з важкістю стану і може слугувати показником важкості ендогенної інтоксикації [1, 7].

Тому метою нашого дослідження було вивчення впливу лікування на показники ендогенної інтоксикації та кінцевого результату - функціонального резерву клітин організму.

#### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводились на крові хворих. Відбір матеріалу (крові) відбувався венопункцією з використанням закритих систем Monovette фірми Sarstedt (Німеччина), з антикоагулянтом К-EDTA.

Рівень молекул середньої маси визначали з використанням трихлороцтової кислоти (ТХО). Вимірювання проводили при довжинах хвиль 280 нм

та 254 нм. Після чого проводили розрахунок індексу розподілу шляхом ділення результатів оптичної густини отриманих при 280 нм на показник оптичної густини при 254 нм. Нормальне значення ІР 1,4 у.о.

Стан клітин організму оцінювали за показниками індексу індукції апоптозу (ІА) та змін мітохондріального мембранного потенціалу мононуклеарних клітин крові. Дослідження рівня індексу індукції апоптозу (ІА) мононуклеарних клітин (МНК) відбувалось в два етапи: перший - це дослідження рівня спонтанного апоптозу, другий – дослідження рівня індукованого апоптозу. Дослідження спонтанного апоптозу дає змогу оцінити вихідний стан організму, індукованого – прихований резерв. Таким чином, це дає змогу виявити внутрішні порушення, які не виявляються стандартними методами, а саме визначити ступінь виснаження або функціонального резерву клітин організму [4, 5, 12].

Дослідження рівня апоптозу анексиновим методом провадили на проточному цитометрі PAS (Partec, Німеччина) з використанням набору для визначення апоптозу Annexin V-FITC Apoptosis detection Kit I (BD Bioscience Pharmingen, США) [8].

Визначення змін мембранного потенціалу мітохондрій (ММП) проводили за загальноприйнятою методикою [9] з родаміном 123 («Fluka»).

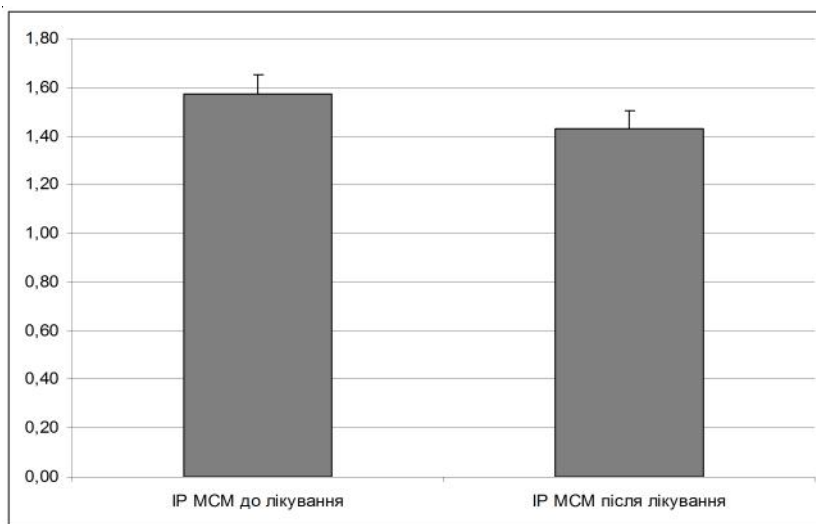
Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistica, використовували t-тест для незалежних варіацій та описову статистику.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження динаміки лікування хворих на ІХС похилого віку, які проходили лікування з використанням препарату «Латрен» виявило зниження рівня фракції МСМ, що містять ароматичні амінокислоти (виявляли при  $\lambda=280$  нм) (МСМ280), після проходження курсу лікування. Було показано, що до лікування рівень МСМ280 дорівнював 0,321 о.о., а після проходження курсу 0,302 о.о. і становив значення нижче за контрольне на 0,020 о.о.

Також було проведено дослідження рівня МСМ, що не містять ароматичних амінокислот (виявляли при  $\lambda=254$  нм) (МСМ254) показало ту ж динаміку змін, що і для МСМ280 проте зміни були більш вираженими і після лікування рівень МСМ254 знижувався до контрольного значення. Так рівень МСМ254 до лікування дорівнював 0,501 о.о., а після лікування 0,432 о.о.

Зміни рівнів МСМ за фракціями вказує на позитивний вплив лікування, що відображається у зниженні кількості ендотоксинів. Для більш адекватної оцінки рівня МСМ було проведено розрахунки індексу розподілу (ІР). Дослідження рівня ІР МСМ показало, що до лікування спостерігався розвиток термінальних станів, що в свою чергу сприяло прогресуванню захворювань, проте використання препарату «Латрен» як лікарського засобу призводило до зниження рівня ІР до контрольного значення. Так рівень ІР до лікування дорівнював 1,57 у.о. і перевищував контрольне значення на 0,56 у.о., а після лікування рівень ІР дорівнював 1,43 у.о. (рис. 1).



**Рис. 1. Рівень ІР МСМ в сироватці крові хворих на ІХС похилого віку, які проходили лікування з використанням препарату «Латрен».**

Результати отримані під час дослідження рівня МСМ свідчать про наявність ендотоксикозу у вихідному стані, проте використання препарату «Латрен» призводило до зниження рівня МСМ в крові.

Оскільки було показано наявність ендотоксикозу як вихідного стану, доцільним було провести дослідження рівня апоптозу МНК. Дослідження кількості апоптичних клітин до та після лікування показали зниження рівня спонтанного апоптозу після лікування.

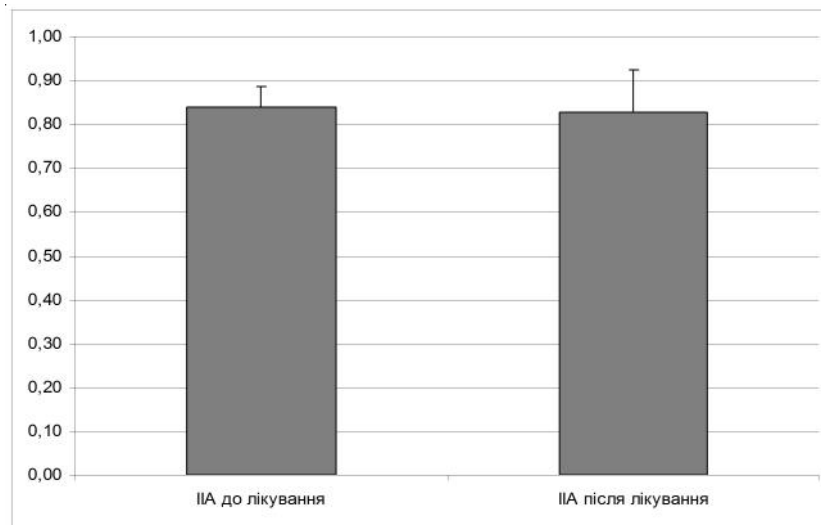
Так, рівень спонтанного апоптозу до лікування дорівнював 24,11% від загальної кількості клітин, а після лікування спостерігалось зниження до 22,00%. Наступним етапом дослідження було визначення рівня індукованого апоптозу МНК. Було показано, що до лікування кількість апоптичних клітин після індукції дорівнювала 32,55 %, а після лікування статистично достовірно ( $p < 0,05$ ) знижувалась до 27,55 %.

Отримані результати, щодо рівня апоптозу клітин свідчать про позитивний вплив лікування, що відобразилося на зниженні показників апоптозу.

Вивчення впливу лікування на стан хворого дає змогу оцінити, як якість лікування, так і за рахунок

чого відбувається покращення стану. Тобто, покращення стану відбувається за рахунок зниження інтоксикації і відновлення резервів клітин організму чи за рахунок внесення факторів, що поліпшують стан ззовні.

Результати отримані під час дослідження впливу лікування хворих на ІХС похилого віку, які проходили лікування з використанням препарату «Латрен» показали, що до лікування спостерігались підвищенні значення ПА і дорівнювали 0,825 у.о. при нормі 0,550-0,700 у.о. Дослідження рівня ПА після лікування з використанням препарату «Латрен» спостерігалось деяке зниження рівня ПА до 0,809 у.о. (рис. 2).



**Рис. 2. Рівень ПА клітин крові хворих на ІХС похилого віку, які проходили лікування з використанням препарату «Латрен».**

Проведеними дослідженнями було показано, що у хворих на ІХС похилого віку, які проходили лікування з використанням препарату «Латрен» перед початком лікування спостерігався ендотоксикоз з розвитком термінальних станів, а лікування спричинило зниження ендогенної інтоксикації та, як наслідок, зниження інтоксикації організму. Тобто, лікування препаратом «Латрен» відбувається не тільки за рахунок внесення активної речовини, а і за рахунок зниження навантаження на відновні системи організму, що в свою чергу дає гарні прогнози, щодо одужання без загрози розвитку побічних ефектів.

Результати отримані під час дослідження апоптозу МНК до та після лікування свідчать про позитивний вплив лікування з використанням препарату «Латрен», що було відображено у зниженні рівня як спонтанного так і індукованого апоптозу. Також були отримані дані, щодо підвищення функціонального резерву клітин організму після лікування, це вказує на те, що покращення стану організму відбувається не за рахунок виснаження внутрішніх резервів, а за рахунок саме лікування і не призведе у подальшому до погіршення стану хворого.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Владыка А.С., Беляков Н.А., Шугаев А.И. и др. // Вестн хирургии. – 1986. – № 8. – С. 126-129.
2. Залесский В.Н., Гавриленко Т.И. Апоптоз при ишемии и реперфузии миокарда // Врач. дело. – 2002. – №1. – С. 8–15.
3. Залесский В.Н., Фильченков А.А. Перспективы патофизиологически обоснованного применения модуляторов апоптоза в качестве нейро-, кардио-, гепато- и нефроцитопротекторов // Совр. пробл. токсикол. – 2002. – №4. – С. 64–70.
4. Ігрунова К.М. Апоптоз мононуклеарних клітин крові у хворих з патологією серцево-судинної системи / К.М. Ігрунова, Моторна М.М., Степанова Т.І. // Лабораторна діагностика. – 2004. - № 1. – С.16-18.
5. Ігрунова К.М. Спосіб оцінки функціонального резерву мононуклеарних клітин крові з використанням принципу «золотого перерізу» // Патент України № 65985 А, 2004р.
6. Пауков В.С., Проценко Д.Д. Рекомбинационные преобразования митохондрий в повреждённых кардиомиоцитах // Бюлл. экспер. биол. и мед., 1998, т. 125, №3, С. 244-250.
7. Тупикова З.А. Влияние молекул средней массы,

выделенных из крови обожженных пациентов, на состояние перекисного окисления липидов в тканях животных. //Вопр. мед. химии.- 1990.- №36. – С. 24-26.

8. Apoptosis: Applied Reagents and Technologies // Instruction Manual. – BD Bioscience. – 1998. - 2nd ed. – 99 p.

9. Darzynkiewicz Z., Juan G., Li X., Gorczyca W., Murakami T. and Traganos F. (1997). Cytometry, 27, 1.

10. Green D.R. Mitochondria and apoptosis / D.R. Green, J.C. Reed // Science-1998. – Vol. 281. – P. 1309-1312.

11. Kerr J.F. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue

kinetics / J.F. Kerr, A.H. Wyllie, Currie A.R. // British Journal of Cancer. – Vol. 26. – P. 239–257.

12. Susin S.A., Zazjani N., Castedo M., Daygas E., Hong-Zang W., Zeley S., Fassy F., Reed J.C., Kroemer Z. The Central Executioner in Apoptosis: Multiple Connections Between Protease Activation and Mitochondria in Fas/APO-1/CD95 – and Ceramide – induced Apoptosis // J. Exp. Med. 1997., V. 186., P. 25.

13. Takemura G., Ohno M., Hayakawa Y. et al. Role of apoptosis in the disappearance of infiltrated and proliferated interstitial cells after myocardial infarction / Circulat. res. - 1998. - V.82. - №11. - P. 1130–1138.