

УДК 616.831:612.014.45:615.03

© А.Г. Белякова, 2012.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ L-ЛИЗИНА ЭСЦИНАТ И КОНТРИКАЛА НА РЕАКТИВНОСТЬ СОСУДОВ И АКТИВНОСТЬ NO-СИНТЕТАЗЫ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ПРИ ОБЩЕЙ ВИБРАЦИИ

А.Г. Белякова*Кафедра фармакологии (зав.кафедрой – проф. И.Д. Сапегин), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского», г. Симферополь.*

A COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE EFFECT OF L-LYSINE AESCINAT AND CONTRYKAL ON VESSEL REACTIVITY AND NO-SYNTHETASE ACTIVITY IN THE BRAIN UNDER CONDITION OF FULL VIBRATION

A.G. Belyakova

SUMMARY

Chronic experiments on conscious rabbits with needle-shaped platinum electrodes implanted into the brain cortex, thalamus and hypothalamus have been made. It has been established by hydrogen clearance method that broadband vibration causes oppression of reactivity of vessels on inhalation of CO₂ and O₂. Contrykal prevents inhibition of vasoconstrictive reactivity in hypothalamus and completely eliminates hypoxia in the brain cortex. L-lysine aescinat caused small oppression of vazodilative reactivity in the thalamus and in the cortex. On the average, Contrykal decreased oppression of vazokonstriktive reactivity by half. In acute experiments with conscious rabbits, L-lysine aescinat and Contrykal effect on the change of activity of NO synthetase has been studied. L-lysine aescinat and Contrykal are interesting for a further study as drugs for prophylaxis of cerebrovascular disorders caused by the whole body vibration and as drugs for treatment of vibration disease.

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ДІЇ L-ЛІЗИНУ ЕСЦИНАТ І КОНТРИКАЛУ НА РЕАКТИВНІСТЬ СУДИН І АКТИВНІСТЬ NO-СИНТЕТАЗИ В ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ПРИ ЗАГАЛЬНІЙ ВІБРАЦІЇ

А.Г. Белякова

РЕЗЮМЕ

У хронічних експериментах на неркатизованих кроликах з імплантованими в кору великих півкуль, таламус і гіпоталамус електродами методом водневого кліренсу встановлено, що загальна широкопasmовна вібрація викликає уповільнення мозкового кровотоку (КТ), пригнічення реакцій судин на інгаляцію CO₂ (КpCO₂) і O₂ (КpO₂). L-лізину есцинат перешкоджає зміні кровотоку в гіпоталамусі, викликає зростання в корі і незначне зниження в таламусі. L-лізину есцинат викликав невелике пригнічення вазодилаторної реактивності в таламусі та в корі, в інших структурах КpCO₂ суттєво не змінювався, впливу на КpO₂ не виявлено. Контрикал перешкоджає пригніченню вазоконстрикторної реактивності в середньому наполовину. В гострих експериментах на ненаркотизованих кроликах вивчено дію L-лізину есцинат та контрикала на зміну активності NO-синтетази. L-лізину есцинат та контрикал не тільки представляють інтерес для подальшого вивчення в якості засобів профілактики цереброваскулярних порушень, викликаних загальною вібрацією, але і мають в цьому напрямку перспективи практичного застосування.

Ключевые слова: вибрация, мозговое кровообращение, L-лизина эсцинат, контрикал, NO-синтетаза.

Среди различных форм профессиональной патологии значительное место занимает вибрационная болезнь, обусловленная воздействием на организм промышленных вибраций – местной и общей. Общая вибрация оказывает воздействие через опорные поверхности. В результате, прежде всего, страдают нижние конечности, а также наблюдаются выраженные изменения функционального состояния вестибулярного аппарата и мозговой гемодинамики [1]. В периферическом звене сосудистой системы по мере увеличения стажа работы в контакте с вибрацией выявлено закономерное снижение интенсивности пульсового кровенаполнения и реактивности сосудов [2]. Предшествующие исследования нашей лабо-

ратории [10] подтвердили недостаточную эффективность сосудорасширяющих средств и выявили усиление ангиоспазма на фоне применения антигипоксантов. Поэтому были предприняты попытки поиска других путей фармакологической коррекции возникающих нарушений. В связи с этим наше внимание привлёк известный ингибитор ферментов протеолиза и ингибитор фибринолиза – контрикал. Его эффективность доказана в клинике при различных видах нарушений мозгового кровообращения [11, 13]. Вторым препаратом был выбран L-лизина эсцинат, в состав которого входит эсцин. Эсцин улучшает эластичность вен, повышает венозное давление [9], также улучшает реологические свойства крови путем

противодействия возникновению стаза в капиллярах путем угнетения активности гиалуронидазы [17].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Общую широкополосную вибрацию (ОШВ) воспроизводили с помощью сконструированного в нашей лаборатории специального стенда [9]. При определении характеристик вибростенда с помощью виброшумомера ВШВ-003-М2 по ГОСТ 12.1.012-90 и 12.1.050-86 выявлено, что шум и вибрация вибростенда являются широкополосными. Уровень шума не превышает предельно допустимый для людей, профессионально не связанных с постоянными источниками шума. Уровень вибрации на средних и высоких частотах (от 8 Гц и выше) превышает предельно допустимый уровень для работников, не связанных с постоянными источниками вибрации, но не превышает предельный уровень для тех, у кого вибрация является профессиональной вредностью.

Для определения реактивности сосудов, напряжения кислорода в структурах мозга коры больших полушарий, таламуса и гипоталамуса использовали игольчатые платиновые электроды. Имплантацию электродов в мозг осуществляли через трепанационные отверстия методом стереотаксиса под этиминал-натриевым наркозом (40 мг/кг внутривенно) за 3 недели до начала исследований. Координаты необходимых структур мозга находили согласно атласу стереотаксических исследований на мозге кролика [15]. Изучение реактивности сосудов осуществляли методом регистрации клиренса водорода [5]. Насыщение мозговой ткани водородом проводили с помощью ингаляции 5% смеси водорода (из электрохимического генератора водорода СГС-2) и воздуха в течение 40-60 сек. через маску, сконструированную в нашей лаборатории. Измерение скорости клиренса водорода осуществляли полярографическим методом с помощью приборов «Физиоблок-01» и светолучевого осциллографа с регистрацией на ультрафиолетовой бумаге; полученные данные вычисляли в мл/минуту•100г ткани по известной формуле [14].

Оценку реактивности сосудов проводили по вазодилаторному и вазоконстрикторному коэффициентам реактивности. Вазодилаторный коэффициент реактивности ($KpCO_2$) определяли как отношение кровотока (КТ) на фоне ингаляции 7% смеси углекислого газа с воздухом к исходному значению КТ на данный период времени. Вазоконстрикторный коэффициент реактивности (KpO_2) получали аналогично с помощью ингаляции чистого кислорода.

Сразу после прекращения 8-часового воздействия животных забивали путем декапитации. Препараты фиксировали в 4% растворе параформалина. Кусочки, содержащие исследуемые структуры (сенсомоторная кора больших полушарий, вентролатеральные отделы таламуса, гипоталамус, ствол на уровне латеральных углов ромбовидной ямки, мозжечок), после обезжизивания и обезжиривания, уда-

ления остатков фиксатора и уплотнения заливали в парафиновые блоки. Гистологические срезы, нарезанные на микротоме МС-2 толщиной до 10мкм, окрашивали гематоксилин-эозином и толуидиновым синим по Нисслю [7, 8]. Все этапы гистохимической окраски для изучения активности NO – синтетазы по прописи Коржевского выполнялись строго в течение суток после получения материалов. Полученные препараты исследовали и фотографировали на цифровом световом микроскопе фирмы Olimpus.

В качестве потенциального церебропротектора изучался препарат L-лизина эсцинат производства Артериум – Украина, 0,1 % раствор которого вводили в краевую вену уха кролика из расчета 0,15 мг/кг непосредственно перед началом действия вибрации, сразу после регистрации контрольных значений. Контрикал фирмы AWD pharma – известный ингибитор ферментов протеолиза – исследовался в дозе 1000 ЕД/кг.

Далее проводили динамическую регистрацию показателей. Статистическую обработку проводили с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Под действием ОШВ $KpCO_2$ без применения препаратов немного, но достоверно уменьшался в гипоталамусе и возрастал в таламусе (рис. 1). Под действием L-лизина эсцинат наблюдалось небольшое угнетение вазодилаторной реактивности в таламусе и в коре, в остальных структурах существенных изменений не выявлено. Контрикал нивелирует изменения показателя, делая их недостоверными. Наиболее выраженными без применения препаратов были изменения KpO_2 , который уменьшался в течение всего эксперимента в коре и гипоталамусе и только через 2 часа в таламусе. L-лизина эсцинат не оказывал однозначного влияния на данный вид реактивности (рис.2) [3, 4]. Контрикал препятствовал угнетению вазоконстрикторной реактивности в среднем наполовину.

Вибрация вызывает угнетение регуляции кровообращения, что проявляется уменьшением преимущественно вазоконстрикторной реактивности KpO_2 во всех исследованных структурах. Одной из причин этого является выявленное нами гистохимически угнетение NO-синтетазы в стенках сосудов и нейронах (рис.3). L-лизина эсцинат лучше контрикала восстанавливал активность NO-синтетазы (рис.3). Однако контрикал проявил большую активность в отношении реактивности сосудов, что можно объяснить более выраженными гемодинамическими и церебропротекторными эффектами.

L-лизина эсцинат лучше восстанавливает сниженный уровень активности NO-синтетазы в нейронах и стенках сосудов.

Эти результаты можно объяснить на основе литературных данных об угнетении L-лизина эсцинатом гиалуронидазы в стенках сосудов [16], защите гликозаминогликанов сосудистой стенки и паренхи-

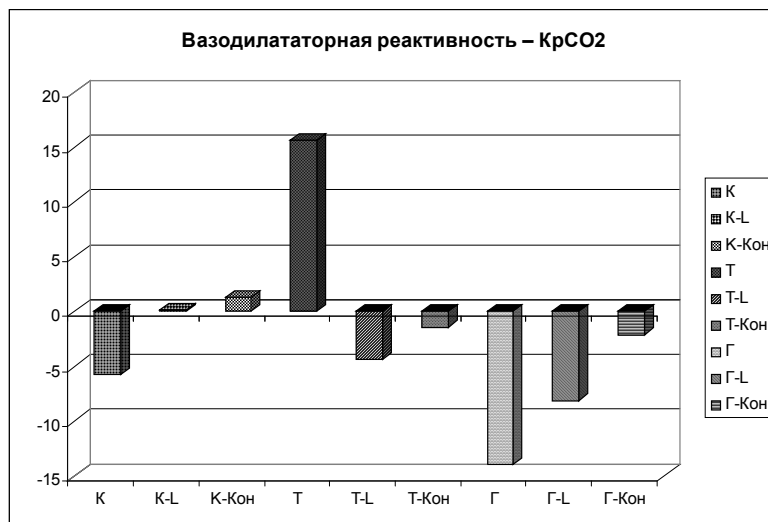


Рис.1. Динамика вазодилаторного (КрСО₂) коэффициента реактивности в коре больших полушарий (К), таламусе (Т) и гипоталамусе (Г) бодрствующих кроликов при действии вибрации без применения препаратов и на фоне действия L-лизина эсцината (L) и контрикала (Кон).

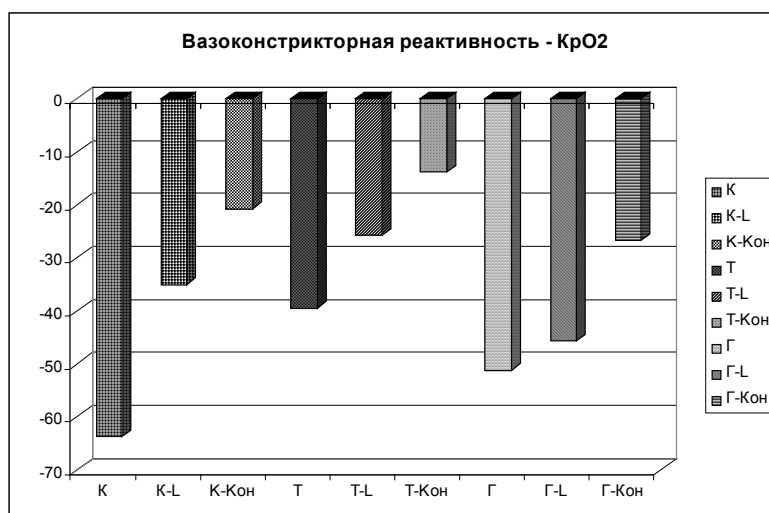
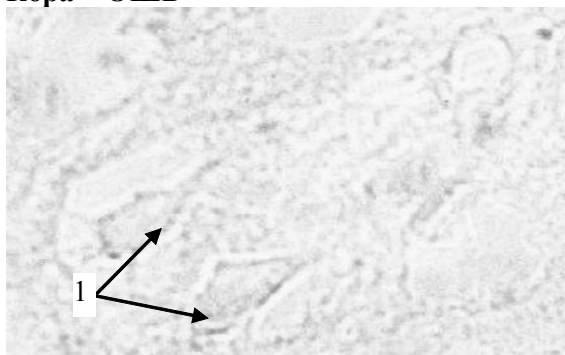


Рис.2. Динамика вазоконстрикторного (КрО₂) коэффициента реактивности в коре больших полушарий (К), таламусе (Т) и гипоталамусе (Г) бодрствующих кроликов при действии вибрации без применения препаратов и на фоне действия L-лизина эсцината (L) и контрикала (Кон).

Кора + ОШВ



Кора + ОШВ + L-лизина эсцинат

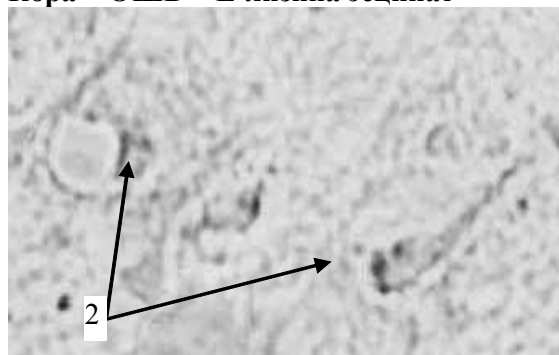


Рис.3. Сенсомоторная кора, общая широкополосная вибрация (ОШВ) без применения препарата и сенсомоторная кора, ОШВ + L-лизина эсцинат: 1 – слабая активность NO-синтетазы в нейронах; 2 – восстановление активности NO-синтетазы в нейронах.

мы тканей от разрушения лизосомальными ферментами [12], увеличении под действием препарата текучести липидного биослоя мембран с нормализацией их проницаемости [6], способности угнетать индуцированную гипоксией активацию эндотелиоцитов и предотвращать усиление адгезии нейтрофилов [17]. Контрикал подавляет активность металлопротеаз, экспрессию молекул адгезии *in vitro* и при церебральной реперфузии [13]. Поэтому его положительное действие на перфузию может быть обусловлено уменьшением эндотелиальной дисфункции, при вибрации, которая является ключевым звеном возникающего ангиоспазма.

ВЫВОДЫ

1. 2-часовое действие общей широкополосной вибрации угнетает констрикторные реакции мозговых сосудов на вдыхание кислорода в коре, таламусе и гипоталамусе. Контрикал лучше уменьшает угнетение констрикторных реакций мозговых сосудов в таламусе и гипоталамусе по сравнению с L-лизина эсцинатом, в коре их эффективность существенно не отличается, однако L-лизина эсцинат в большей степени восстанавливал активность NO-синтазы.

2. L-лизина эсцинат и контрикал не только представляют интерес для дальнейшего изучения в качестве средств профилактики цереброваскулярных нарушений, вызванных общей вибрацией, но и имеют в этом направлении перспективы практического применения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дрогичина Э.А., Метлина Н.Б. К классификации вибрационной болезни // Гигиена труда и профессиональные заболевания. – 1967. – №5. – С.27-31.
2. Кордюков Н.М. Состояние общей и регионарной гемодинамики у лиц, работающих с ручным механизированным инструментом вращательного действия // Шум и вибрация. – 1976. – Т.114. – С.66-67.
3. Белякова, А. Г. Протекторное действие контрикала при нарушениях кровоснабжения и кислородного баланса мозга, вызванных действием общей широкополосной вибрации / А. Г. Белякова, И. Д. Сапегин // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения: Тр. Крым. гос. мед. ун-та им. С.И. Георгиевского, 2008. – Т.144, Ч.III. – С.7-11.
4. Белякова, А. Г. Протекторное действие L-лизина эсцината при нарушениях кровоснабжения и кислородного баланса мозга, вызванных общей широкополосной вибрацией / А. Г. Белякова, И. Д. Сапегин // Медицина сегодня и завтра. – 2008. – №1. – С.11-15.
5. Демченко, И. Т. Кровоснабжение бодрствующего мозга / И. Т. Демченко. – Л.: Наука, 1983. – 173с.
6. Воздействие эсцина на биологические мембраны / Л. В. Иванов, А. И. Хаджай, И. И. Чуева, В. Ю. Васильевский // Хим.-фарм. журнал. – 1988. – Т.22, № 12. – С.1417-1421.
7. Меркулов, Г.А. Курс патогистологической техники / Г. А. Меркулов. – Л.: Медицина, 1969. – 340с.
8. Пирс Э. Гистохимия. Теоретическая и прикладная: Пер. с англ. второго издания / Э. Пирс // Под ред. проф. В.В. Португалова. – М.: Изд-во иностр. лит., 1962. – 518с.
9. Сапегин И. Д. Влияние общей широкополосной вибрации на кровообращение, напряжение кислорода и водно-электролитный баланс в тканях мозга бодрствующих кроликов / И. Д. Сапегин // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения: Тр. Крым. гос. мед. ун-та им. С.И. Георгиевского, 1999. – Т.35, Ч. I. – С.264-271.
10. Сапегин І.Д. Фармакологічна профілактика цереброваскулярних порушень при комбінованій дії загальної вібрації та захитування (експериментальне дослідження): Автореф. дис. докт. мед. наук: 14.03.05 / Київ, 2003. – 35с.
11. Proteolytic enzyme activity in patients with severe head injury and the effect of a proteinase inhibitor / Auer LM, Marth E, Heppner F, Holasek A. // Acta Neurochir (Wien). – 1979. – V.49, №3-4 – P.207-17.
12. Greeske, K. Horse chestnut seed extract-an effective therapy principle in general practice. Drug therapy of chronic venous insufficiency / K. Greeske, B. K. Pohlmann // Fortschr. Med. – 1996. – № 4. – P.196-200.
13. Harmon D., Lan W., Shorten G. The effect of aprotinin on hypoxia-reoxygenation-induced changes in neutrophil and endothelial function // Eur. J. Anaesthesiol. – 2004. – V.21, № 12. – P.973-979.
14. Lassen, N. Blood flow of the cerebral cortex determined by radioactive Krypton-85 / N. Lassen, D. N. Ingvar // Eyperentia. – 1961. – V.17. – P.42-45.
15. Monier, M. Atlas for stereotaxis brain research on the conscious rabbit / M. Monier, M. Gangloff L. Amsterdam. L. Elsevier Publishing Company, 1961. – 145p.
16. Anti-elastase and anti-hyaluronidase activities of saponins and sapogenins from *Hedera helix*, *Aesculus hippocastanum*, and *Ruscus aculeatus*: factors contributing to their efficacy in the treatment of venous insufficiency / R. M. Facino, M. Carini, R. Stefani, G. Aldini, – Saibene. – R. M. – 1995. – V.328, №10. – P. 720-724.
17. Frick R.W. Three treatments for chronic venous insufficiency: escin, hydroxyethylrutin, and Daflon / R. W. Frick // Angiology. – 2000. – V. 51, № 3. – P.197-205.