

В ходе исследования было установлено, что совместное введение кандесартана в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрола в дозах 10 и 50 мг/кг приводит к значительному увеличению числа стволовых клеток по сравнению с контрольной группой ($P < 0,05$). Так, количество клеток CD117 в костном мозге у группы 4 было 208,78 %, у группы 5 — 219,77 %, в то время как в контроле составило 100 %. Подсчет числа стволовых клеток в периферической крови данных животных показал, что введение кандесартана в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрола в дозе 10 мг/кг увеличивает количество клеток с CD117 (245,64 %) по сравнению с контролем (100 %). Число изучаемых клеток в крови мышей группы 5 составило 287,79 % ($P < 0,05$).

Таким образом, при совместном введении мышам кандесартана в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрола в дозах 10 мг/кг и 50 мг/кг происходит значительное увеличение количества стволовых клеток как в костном мозге животных, так и в крови, причем изучаемые показатели соответствуют таковым группы 1, которая получала кандесартан в дозе 3 мг/кг.

Заключение

В результате изучения комплекса кандесартана цилексетила и ресвератрола были получены следующие результаты. Показано, что кандесартан в низкой и высокой дозах приводит к снижению двигательной активности у мышей линии C57Bl/6. При совместном введении кандесартана и ресвератрола отмечено снижение побочного эффекта кандесартана цилексетила на организм.

Изучение количества стволовых клеток в костном мозге и в периферической крови мышей линии C57Bl/6 показало, что кандесартан в высокой дозе стимулирует образование клеток с CD117. Низкая доза сартана, а также его комбинация с ресвератролом в дозе 1 мг/кг не оказывают влияние на изменение числа исследуемых клеток в костном мозге экспериментальных животных. Введение же кандесартана в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрола в дозах 10 и 50 мг/кг привело к значительному увеличению

количества стволовых клеток в костном мозге и периферической крови.

Таким образом, новая комбинация препаратов, в которой снижена доза кандесартана за счет добавления антиоксиданта ресвератрола, эффективна в отношении мобилизации стволовых клеток, а также является более безопасной по сравнению с монопрепаратом кандесартаном цилексетилом.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- ВОЗ. Сердечно-сосудистые заболевания [Электронный ресурс]. — 2012. — Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/ru/index/html>. — Дата доступа: 26.01.2013.
- 19 апреля — День профилактики болезней сердца [Электронный ресурс]. — 2012. — Режим доступа: www.28gp.by/index.php?page=edz12_hd. — Дата доступа: 26.01.2013.
- De Rosa, M. L. Candesartan improves maximal exercise capacity in hypertensives: results of a randomized placebo-controlled crossover trial / M. L. De Rosa, M. Chiariello // *J Clin Hypertens*. — 2009. — Vol. 11, № 4. — P. 192–200.
- Possible mechanism for the anemia induced by candesartan cilexetil (TCV-116), an angiotensin II receptor antagonist, in rats / I. Naeshiro [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* — 1998. — Vol. 354, № 2/3. — P. 179–187.
- Ресвератрол — ресвератрол для сердца [Электронный ресурс]. — 2010. — Режим доступа: http://uvenal.ucoz.ru/index/resveratrol_dlja_serdcia/0-17. — Дата доступа: 16.10.2012.
- Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes / M. Jang [et al.] // *Science*. — 1997. — Vol. 275, № 5297. — P. 218–220.
- Dietary supplementation with resveratrol reduces plaque pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease / S. Karuppagounder [et al.] // *Neurochem. Int.* — 2009. — Vol. 54, № 2. — P. 111–118.
- Wu, J. M. Cardioprotection by resveratrol: a review of effects/targets in cultured cells and animal tissues / J. M. Wu, Tze-chen Hsieh, Z. Wang // *Am J Cardiovasc Dis.* — 2011. — Vol. 1, № 1. — P. 38–47.
- Тимошенко, Е. Ю. Разработка состава модельной смеси для получения препарата с гиполипидемическим действием / Е. Ю. Тимошенко, Д. И. Писарев, О. В. Воронкова // *Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация*. — 2010. — № 22 (93). — С. 32–36.
- Файтельсон, А. В. Фармакологическая коррекция экспериментального остеопороза комбинацией ресвератрола с эналаприлом / А. В. Файтельсон // *Научные ведомости. Серия медицина. Фармация*. — 2012. — № 4 (123). — С. 239–244.
- К вопросу фармакологической коррекции гипострогенизированной эндотелиальной дисфункции / М. В. Корокин [и др.] // *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. — 2008. — № 1. — С. 31–35.
- Effects of *Nigella sativa* supplementation for one month on cardiac reserve in rats / T. Yar [et al.] // *Indian J. Physiol. Pharmacol.* — 2008. — Vol. 52, № 2. — P. 141–148.
- Действие эпигаллокатехин-3-галлата в условиях физической нагрузки у крыс линий WKY и SHR / М. В. Ковалева [и др.] // *Вестні Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біял. навук*. — 2012. — № 4. — С. 66–70.

Поступила 06.02.2013

УДК: 616.839-008-053.6:611.018.74

РОЛЬ ГОМОЦИСТЕИНА И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПАТОГЕНЕЗЕ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У ДЕТЕЙ С ПИЕЛОНЕФРИТАМИ

К. У. Вильчук

Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», г. Минск

У 80 % детей с пиелонефритами ($n = 80$) выявлена дисфункция эндотелия, которая сопровождалась снижением эндотелий-зависимой вазодилатации на фоне повышения уровня гомоцистеина и активности оксидативного стресса.

Ключевые слова: пиелонефрит, дети, дисфункция эндотелия, гомоцистеин, оксидативный стресс.

THE ROLE OF HOMOCYSTEIN AND OXIDATIVE STRESS IN PATHOGENESIS OF THE ENDOTHELIUM DYSFUNCTION IN CHILDREN WITH PYELONEPHRITIS

K. U. Vilchuk

Republican Research Center «Mother and Child», Minsk

80 per cent children with pyelonephritis ($n = 80$) revealed the endothelium dysfunction accompanied by a decrease of the endothelium-dependent vasodilation, associated with an increase in the homocysteine level and oxidative stress.

Kew words: pyelonephritis, children, endothelium dysfunction, homocysteine, oxidative stress.

Введение

Высокая зависимость функционирования почек от кровотока в норме и при патологических процессах (гломерулонефриты, микробно-воспалительные заболевания) определяет актуальность поиска новых факторов, влияющих на состояние эндотелия сосудов у данной категории детей.

В последнее время в научной литературе сохраняется повышенный интерес к изучению роли гомоцистеина и окислительного стресса в патогенезе зависимых от эндотелия системных нарушений гемодинамики при АГ и ИБС [2, 4, 5, 7, 15].

Гомоцистеин образуется при деметилировании метионина. Метионин — незаменимая аминокислота, присутствующая в высоких концентрациях в животных белках. Гомоцистеин в организме человека также образуется в результате биологического преобразования креатинина из креатина, что объясняет повышение его уровня при хронической почечной недостаточности [15]. Причина гипергомоцистеинемии при ХПН объясняется нарушением почечного или внепочечного метаболизма и опосредована ретенцией уремических токсинов.

Что касается последствий высоких уровней гомоцистеина у больных с ХПН, то они многолики и связаны с механизмом токсического действия гомоцистеина.

Полагают, что высокий уровень в плазме гомоцистеина является фактором риска дисфункции эндотелия, атеросклероза и повышенной частоты тромбозов, хотя механизм этих явлений неизвестен [15].

Гомоцистеин находится в плазме в свободной форме и в связи с белком. Нормальная концентрация гомоцистеина в плазме у взрослых здоровых людей составляет 16 мкмоль/л.

Гомоцистеин опасен для клеток, потому что он вызывает оксидативный стресс (посредством продукции реакционно-способных разновидностей кислорода). Он связывается с оксидом азота (NO), образуя гомоцистеинилированные белки, или ведет к аккумуляции своего предшественника S-аденозилгомоцистеина — мощного ингибитора биологического трансметилирования. Макромолекулярное гипометилирование — нередкая особенность при ХПН и уремии с возможными функциональными последствиями [15].

Окислительный (оксидативный) «стресс» в настоящее время отнесен к важным факторам патогенеза хронического гломерулонефрита, пиелонефрита, а также почечной недостаточности и у взрослых [10, 11, 12], и у детей [3, 6, 13]. Это обусловлено как теоретическими предпосылками, обнаружением и идентификацией большого количества клеток, медиаторов

и ферментов, участвующих в ответных реакциях организма на повреждение, так и практической значимостью проблемы.

Предполагается, что на изменение эндотелиальной регуляции сосудистого тонуса у детей с пиелонефритами могут оказывать влияние аминокислота гомоцистеин и продукты окислительного стресса.

Цель работы

Определение роли гомоцистеина и окислительного стресса в патогенезе дисфункции эндотелия у детей с пиелонефритами.

Материалы и методы исследований

Под наблюдением находились 140 детей: 100 детей с пиелонефритами в возрасте от 3 до 18 лет, проходивших стационарное лечение в условиях УЗ «Детская областная клиническая больница», г. Гродно (общая исследуемая группа, основная группа) и 40 практически здоровых детей (контрольная группа, группа сравнения). Основную группу составили 80 детей с пиелонефритами с дисфункцией эндотелия (первая исследуемая группа) и 20 детей с пиелонефритами без дисфункции эндотелия (вторая исследуемая группа). Группы и подгруппы обследованных детей достоверно не различались по возрастному и массо-ростовому показателям.

У всех больных детей в начале и в конце госпитализации осуществлена оценка вазодилатационных свойств эндотелия сосудов в условиях реовазографического исследования пульсового кровотока (ПК) предплечья на «Реоанализаторе 5А-05» (Украина) путем выполнения теста с реактивной гиперемией и пробы с нитроглицерином по общепринятой методике [9] в модификации [1]. Увеличение пульсового кровотока в предплечье менее 10 % трактовали как снижение NO-синтазной активности эндотелия, а увеличение на 19 % и больше после приема нитроглицерина — как сохранение гуанилатциклазного или эндотелий-независимого механизма дилатации сосудов.

У 80 % детей с пиелонефритами на фоне различной активности воспалительного процесса максимальный прирост пульсового кровотока в предплечье после окклюзионной пробы был ниже нормы ($p < 0,001$), что свидетельствует о снижении NO-синтазной активности эндотелиоцитов или дисфункции эндотелия сосудов ($p < 0,001$). Нарушения гуанилатциклазного механизма вазодилатации у этих детей отсутствовали.

У всех обследуемых детей с пиелонефритами, имеющих дисфункцию эндотелия (ДЭ) и без нее, изучены функциональное состояние почек, уровень в крови гомоцистеина и продуктов окислительного стресса.

Уровень гомоцистеина в сыворотке определяли иммуноферментным анализом с использованием диагностических наборов для

его определения на полуавтоматическом иммуноферментном анализаторе «ТЕСАН» [8].

Активность окислительных процессов у детей оценивали по концентрации продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты (АОЗ) в плазме крови.

В качестве маркеров окислительного стресса использовали концентрацию диеновых конъюгатов, оснований Шиффа и α -токоферола в плазме крови путем применения общепринятых методов на спектрофлуориметре «F-4010» фирмы «Hitachi» [14].

Полученные результаты обработаны статистически с использованием методов непараметрической статистики.

Результаты исследований и их обсуждение

По результатам теста с реактивной гиперемией установлено (рисунок 1), что у детей основной группы с пиелонефритами на фоне различной активности воспалительного процесса максимальный прирост пульсового кровотока в предплечье на первых двух минутах после окклюзии был ниже ($7,3 \pm 4,80 \%$), чем у здоровых детей ($19,9 \pm 4,46 \%$, $p < 0,001$), свидетельствуя о дисфункции эндотелия. Прирост пульсового кровотока в предплечье после приема нитроглицерина у детей обеих групп соответствовал нормативным данным.

Показано, что в основной группе 80 % пациентов с пиелонефритами (1-я опытная группа, $n = 80$) имеют патологически низкие значения максимального пульсового кровотока ($5,2 \pm 2,35 \%$), а у 20 % детей (2-я опытная группа, $n = 20$) они оказались выше ($15,4 \pm 3,3\%$, $p < 0,001$) (рисунок 1).

Максимальный прирост пульсового кровотока в предплечье у детей с пиелонефритами 1-й опытной группы был ниже ($p < 0,001$), а во 2-й опытной группе не отличался ($p > 0,05$) от значений в контрольной группе (рисунок 1).

Содержание гомоцистеина в крови у детей с дисфункцией эндотелия составило $10,56 \pm 3,51$ мМ/л, что превышает его значение в контрольной группе ($8,11 \pm 1,60$ мМ/л, $p < 0,01$) и в группе больных без дисфункции эндотелия ($8,25 \pm 2,29$ мМ/л, $p < 0,05$), (рисунок 2).

Уровень гомоцистеина в общей опытной группе также оказался выше, чем в контрольной ($p < 0,001$).

В группе больных с дисфункцией эндотелия выявлена отрицательная корреляционная зависимость (по критерию Spearman Rank) между максимальным пульсовым кровотоком и содержанием гомоцистеина в крови ($R = -0,19$, $p < 0,03$).

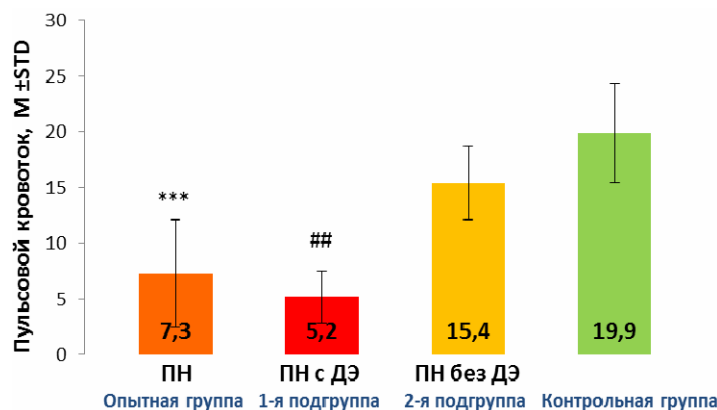


Рисунок 1 — Максимальный прирост пульсового кровотока в предплечье у пациентов с пиелонефритами (ПН) с дисфункцией эндотелия (ДЭ)
 Примечание. *** различия опытной и контрольной групп с вероятностью ошибки $p < 0,001$;
 ## различия 1-й подгруппы с контрольной группой с вероятностью ошибки $p < 0,01$.

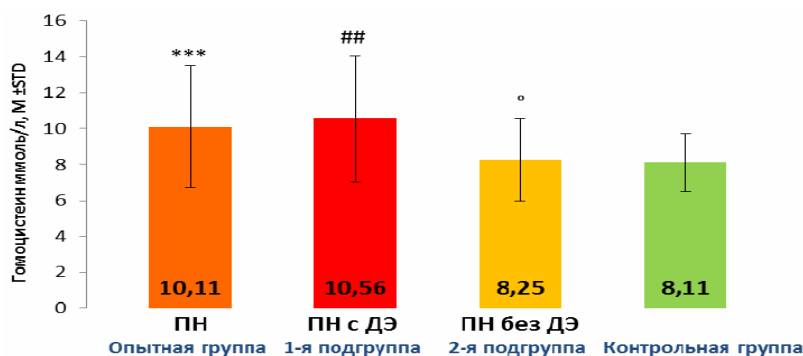


Рисунок 2 — Концентрация гомоцистеина в крови у пациентов с пиелонефритами (ПН) с дисфункцией эндотелия (ДЭ)
 Примечание: см. рисунок 1.

У детей с пиелонефритами, имеющих дисфункцию эндотелия, отмечено увеличение (по сравнению с контролем) в крови уровня ДК до $5,17 \pm 1,66$ нМ/мл ($1,45 \pm 0,64$ нМ/мл, $p < 0,01$) (рисунок 3), ОШ — до $198,4 \pm$

$143,1$ ЕД/мл ($135,0 \pm 16,7$ ЕД/мл, $p < 0,01$) (рисунок 4) и снижение одного из основных факторов антиоксидантной защиты — α -токоферола до $17,7 \pm 2,27$ нМ/л ($21,8 \pm 2,98$ нМ/л, $p < 0,01$) (рисунок 5).

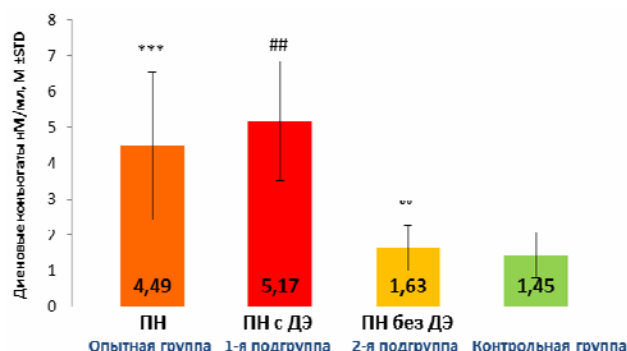


Рисунок 3 — Уровень диеновых конъюгатов в крови у пациентов с пиелонефритами (ПН) с дисфункцией эндотелия (ДЭ)

Примечание: см. рисунок 1

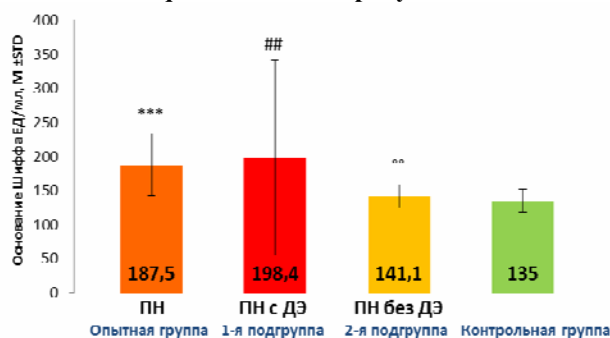


Рисунок 4 — Уровень оснований Шиффа в крови у пациентов с пиелонефритами (ПН) с дисфункцией эндотелия (ДЭ)

Примечание: см. рисунок 1

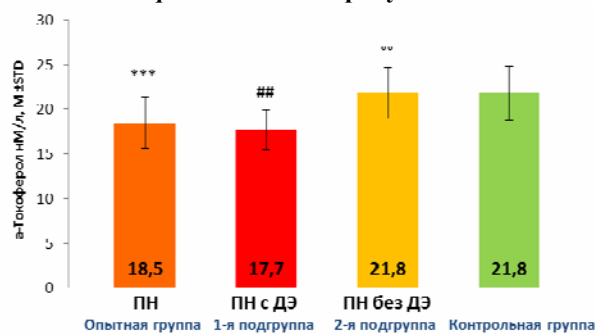


Рисунок 5 — Уровень α -токоферола в крови у пациентов с пиелонефритами (ПН) с дисфункцией эндотелия (ДЭ)

Примечание: смотри рисунок 1

У детей с пиелонефритами без дисфункции эндотелия концентрация продуктов перекисного окисления липидов и α -токоферола не отличалась от значений в контрольной группе ($p > 0,05$).

Кроме этого, в группе больных с дисфункцией эндотелия выявлены корреляционные зависимости (по критерию Spearman Rank) между максимальным пульсовым кровотоком с содержанием диеновых конъюгатов ($R = -0,57$, $p < 0,001$), оснований Шиффа в крови ($R = -0,67$, $p < 0,001$), α -токоферола в крови ($R = 0,75$, $p < 0,001$).

Повышение в крови продуктов перекисного окисления липидов и снижение уровня естественного антиоксиданта α -токоферола отражает наличие окислительного стресса как патогенетического фактора возникновения дисфункции эндотелия сосудов у детей с пиелонефритами.

Полученные данные показывают, что в патогенезе микробно-воспалительных процессов в ткани почек важную роль играют повышенное содержание гомоцистеина и продуктов перекисного окисления липидов, а также снижение

уровня антиоксиданта α -токоферола в плазме крови, что сопровождается повышенной десквамацией эндотелиальных клеток и сниженным образованием в эндотелии оксида азота.

Как известно, источниками образования активных форм кислорода при заболеваниях инфекционно-воспалительной природы являются преимущественно лейкоциты, повышенное скопление которых отмечается в зоне повреждения. Наряду с «дыхательным взрывом» в лейкоцитах возможно повышенное образование активных форм кислорода в реакции образования простагландинов, катехоламинов, а также в результате повышения восстановленности дыхательной цепи митохондрий из-за несоответствия доноров и акцепторов электронов вследствие местных расстройств микроциркуляции в тканях при воспалении. Вследствие активации индуцибельной NO-синтазы в макрофагах и образования в них избыточных количеств NO возникают условия для наработки пероксинитрита — мощного прооксиданта, индуктора нитрозативного стресса.

Таким образом, у преобладающей группы детей с пиелонефритами имеет место снижение образования NO эндотелием. Это приводит к выраженной периферической вазоконстрикции и гипоперфузии тканей и может вносить дополнительный вклад в патогенез нарушений системной и местной гемодинамики при пиелонефритах.

Заключение

Впервые установлено, что в крови у пациентов с пиелонефритами, имеющих дисфункцию эндотелия, увеличена концентрация гомоцистеина ($p < 0,01$), диеновых конъюгатов ($p < 0,01$), оснований Шиффа ($p < 0,01$) и снижено содержание α -токоферола ($p < 0,01$).

Предполагается, что выявленные изменения у детей с пиелонефритами, ослабляют потенциал процессов функциональной и морфологической устойчивости эндотелия сосудов и приводят к декомпенсации механизмов регуляции тонуса сосудов. Это, в свою очередь, приводит к замедлению процессов элиминации микрорфлоры из организма, увеличивает затраты на

лечение и ухудшает качество жизни пациентов. Комплексное изучение причин, приводящих к развитию дисфункции эндотелия, свидетельствует о различной степени выраженности про- и антиоксидантного равновесия и содержания в крови гомоцистеина у детей с пиелонефритами. Это позволяет наметить новые пути профилактики и патогенетической коррекции дисфункции эндотелия при изучаемой патологии.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Вильчук, К. У. Функциональные пробы, применяемые в диагностике дисфункции эндотелия: метод. рекомендации / К. У. Вильчук, Н. А. Максимович, Н. Е. Максимович. — Гродно, 2001. — 19 с.
2. Владимиров, Ю. А. Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю. А. Владимиров // Вестник РАМН. — М., 1998. — № 7. — С. 43–51.
3. Основы нефрологии детского возраста / А. Ф. Возианов [и др.]. — Киев: книга плюс, 2002. — С. 133–135.
4. Мухин, Н. А. Гипергомоцистенемия как фактор развития заболеваний сердечно-сосудистой системы / Н. А. Мухин, С. В. Моисеев, В. В. Фомин. — Клиническая медицина. — 2001. — № 6. — С. 13.
5. Роль гомоцистеина в тромбо- и атерогенезе. Возможности и перспективы витаминной коррекции / Г. И. Сидоренко. — Кардиология. — 2001. — № 3. — С. 56–59.
6. Показатели гомеостаза и функциональное состояние ферментов антиоксидантной защиты при хроническом пиелонефрите / В. Е. Цветчих [и др.] // Урология. — 2000. — № 3. — С. 13–15.
7. Харджан, К. Дж. Новые факторы риска развития ишемической болезни сердца: гипертрофия левого желудочка, повышение в крови уровня гомоцистеина, липопропротеина (А), триглицеридов или фибриногена, окислительный стресс / К. Дж. Харджан // Междунар. журнал медицинской практики. — 2001. — № 4.
8. Hyperhomocysteinemia after an oral methionine load acutely impairs endothelial function in healthy adults / M. F. Bellamy [et al.] // Circulation. — 1998. — Vol. 98. — № 18. — P. 1848–1852.
9. Celermajer, D. S. Noninvasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis / D. S. Celermajer, K. E. Sorensen, V. M. Gooch // Lancet. — 1992. — Vol. 340. — P. 1111–1115.
10. Klahr, S. Oxygen radicals and renal diseases / S. Klahr // Miner. electrolyte metab. — 1997. — Vol. 23(3–6). — P. 140–143.
11. The effects of oxidative stress in urinary tract infection / E. V. Kurutas [et al.] // Mediators Inflamm. — 2005. — Vol. 4. — P. 242–244.
12. Palmer, R. M. J. Synthesis of nitric oxide from L-arginine by neutrophils: release and interaction with superoxide anion / R. M. J. Palmer, S. Moncada // Biochem. J. — 1989. — Vol. 261. — P. 293–296.
13. Pavlova, E. L. Oxidative stress in children with kidney disease / E. L. Pavlova, M. I. Liliva, V. M. Savov // Pediatr. Nephrol. — 2005. — Vol. 20 (11). — P. 1599–1604.
14. Rice-Evans, C. A. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology: techniques in free radical research / C. A. Rice-Evans, A. T. Diplock, M. C. R. Symons // Elsevier. — 1991. — P. 291.
15. Zgraham, I. M. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The Eur. Conc. Act. Rep. / I. M. Zgraham, L. E. Daly, H. M. Refsum // JAMA. — 1997. — Vol. 277. — P. 1775–1781.

Поступила 28.02.2013

УДК [612.017.1:616.2-053.4]:616-076.5:[615.37:616-036.66]-071

ДИНАМИКА ИММУННОГО СТАТУСА ДЕТЕЙ С РЕЦИДИВИРУЮЩИМИ ИНФЕКЦИЯМИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИММУНОРЕАБИЛИТАЦИИ В ПЕРИОДЕ РЕМИССИИ

¹С. В. Зыблева, ²П. Д. Новиков

¹Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель
²Витебский государственный медицинский университет

Цель: оценка иммунного статуса детей из группы часто и длительно болеющих рецидивирующими инфекциями дыхательных путей, имеющих различные ведущие клинические проявления, в динамике на фоне проведения иммунореабилитации.