

ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

*Смоленской государственной
медицинской академии*

Том 16, №1

2017



УДК 612.111.6:616.831-005-08

КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ СОДЕРЖАНИЯ И СООТНОШЕНИЯ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ В МЕМБРАНЕ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ЗАБОЛЕВАНИЯ

© Суняйкина О.А., Шульгинова А.А., Быстрова Н.А., Хорлякова О.В.

Курский государственный медицинский университет, Россия, 305041, Курск, ул. К. Маркса, 3

Резюме: цель исследования – установление клинико-лабораторной эффективности Глутоксима в коррекции нарушений содержания белково-липидного спектра эритроцитов при I и II стадии дисциркуляторной энцефалопатии на фоне гипертонической болезни II стадии. При обследовании 48 пациентов, поровну разделенных на 4 группы, изучены параметры структурно-функциональных свойств эритроцитов до и после базовой фармакотерапии, включавшей Эналаприл, Кавинтон, Актовегин и Церетон. Пациенты 2-й и 4-й групп дополнительно получали иммуномодулятор Глутоксим.

Установлены значительные изменения содержания и соотношения белков и липидов мембраны эритроцитов, ответственных за структурообразование, архитектуру, стабилизацию, формообразование и гибкость мембраны, внутриклеточный метаболизм, что привело к нарушению функциональных свойств эритроцитов уже на ранней стадии развития заболевания. Использование в лечении Глутоксима оказалось более эффективным по сравнению с базовой фармакологической терапией.

У пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией I и II стадии до начала лечения установлено нарушение соответственно 84,1% и 93,2% лабораторных параметров структурно-функциональных свойств эритроцитов, из которых 65,9% показателей у больных с обеими стадиями заболевания оказались одинаковыми по величине и по направленности изменений, еще 19,5% идентичны по направленности. Использование в лечении дисциркуляторной энцефалопатии I и II стадии базовой фармакотерапии нормализует и корригирует соответственно 83,8% и 65,9% измененных до лечения показателей функционально-структурных свойств эритроцитов. Включение Глутоксима более эффективно, так как увеличивает эти параметры до 91,9% и 92,7%.

Ключевые слова: дисциркуляторная энцефалопатия, коррекция нарушений структурно-функциональных свойств эритроцитов

CORRECTION OF MAINTENANCE AND CORRELATION DISORDERS OF PROTEINS AND LIPIDS IN ERYTHROCYTE'S MEMBRANE DURING DYSCIRCULATORY ENCEPHALOPATHY ON DIFFERENT STAGES OF DISEASE

Sunyakina O.A., Shulginova A.A., Bystrova N.A., Horlyakova O.V.

Kursk State Medical University, Russia, 305004, Kursk, K. Marx St., 3

Summary: the aim of the study was to establish clinical and laboratory effectiveness of Glutoxim in the correction of protein-lipid maintenance disorders of erythrocytes on I and II stages of dyscirculatory encephalopathy on the background of II stage hypertonic disease. During a checkup of 48 patients, equally separated into 4 groups, were studied the parameters of structural-functional properties of erythrocytes before and after basic pharmacotherapy, what included Enalapril, Cavintonum, Actovegin and Cereton. Patients from 2 and 4 groups were additionally administered immunomodulator Glutoxim.

Significant changes of maintenance and correlation of proteins and lipids in erythrocyte membrane, responsible for structure formation, architectonics, stabilization, shaping and flexibility of membrane, intercellular metabolism were established that led to disorders of functional properties of erythrocytes on early stage of the disease. Glutoxim proved to be more effective in comparison with basic pharmacological therapy.

In patients with I and II stages of dyscirculatory encephalopathy before beginning of treatment we established disorders of accordingly 84.1% and 92.1% laboratory structural and functional parameters of erythrocyte properties, from which 65.9% of indices were identical in the quantity and direction of changes in the patients with both stages of the disease and in 19.5% of patients they were identical in direction. The use of basic pharmacotherapy in the treatment of I and II stages of dyscirculatory encephalopathy normalizes and correlates accordingly 83.8% and 65.9% of changed indices of structural and functional properties of erythrocytes before treatment. Inclusion of Glutoxim is more effective, because it increases these parameters up to 91.9% and 92.7%

Key words: dyscirculatory encephalopathy, correction of erythrocyte's structural-functional disorders

Введение

Дисциркуляторная энцефалопатия (ДЭП; син., хроническая ишемия головного мозга, хроническое цереброваскулярное заболевание, хроническая недостаточность мозгового кровообращения и др.) является одной из самых распространенных патологий среди взрослых в неврологической практике, в связи с чем совершенствование представлений о патогенезе ДЭП имеет большое значение для выбора приоритетных направлений фармакологической коррекции нарушений [2, 3].

Если в патогенезе данного заболевания ведущую роль играют артериальная гипертензия и атеросклероз, а в свою очередь в их формировании, развитии и разрешении не последнюю роль играют иммунные нарушения, то, кроме устранения возникновения микроангиопатий, как проявления артериальной гипертонии, коррекции эндотелиальной дисфункции, оксидантного стресса, обеспечения нейропротекции, на повестку дня выступает применение иммуномодуляторов для устранения иммунных нарушений, в первую очередь на ранних стадиях заболевания [1-4, 8].

Кроме того, с учетом немногочисленных литературных данных, определенную роль при развитии ДЭП играют нарушения структурно-функциональных свойств эритроцитов, что связано с тем, что эритроцит в процессе своей жизнедеятельности выполняет множество функций, основными из которых являются: газотранспортная, буферная, транспортная, питательная, защитная, гуморальная, гомеостатическая, иммунная, участие в метаболизме катехоламинов, ацетилхолина, ряда лекарственных средств, регуляция сосудистого тонуса, дезинтоксикационная [5, 13].

В литературе недостаточно освещены вопросы о патогенетической роли эритроцитов в возникновении и развитии ДЭП и не изучена возможность фармакологической коррекции этих нарушений на разных стадиях заболевания.

Цель исследования – установление клинико-лабораторной эффективности иммуномодулятора глутоксима в коррекции нарушений содержания белково-липидного спектра эритроцитов при ДЭП I и II стадиях.

Методика

Обследовано 34 пациентов женского пола и 14 мужского, составивших основную 2-ю группу, в неврологическом отделении БМУ «Курская областная клиническая больница» с ДЭП на фоне гипертонической болезни II стадии по 24 пациента с I и II стадиями ДЭП в возрасте 50 ± 5 лет. Кроме того, изучены лабораторные показатели в эритроцитах 15 здоровых доноров (52 ± 2 года), сформировавших контрольную группу; полученные результаты приняты как условная норма.

Пациенты основной группы после разделения методом случайной рандомизации на 4 подгруппы по 12 человек получали комплексную базовую фармакологическую терапию (БФТ): ингибитор ангиотензин-превращающего фермента эналаприла малеат (Берлиприл, BERLIN-CHEMIE AG (MENARINI GROUP), Германия) по 10 мг в сутки внутрь; 2) этиловый эфир аповинкаминной кислоты (Бравинтон, Винпоцетин, Винцетин, Кавинтон ОАО «Гедеон Рихтер», Венгрия) по 10 мг в 200,0 мл 0,9% раствора хлорида натрия внутривенно, капельно; 200 мг Актовегина («Никомед Австрия ГмбХ», Австрия) в виде 5 мл, содержащей 200 мг актовегина, внутривенно, струйно и 1000 мг холина альфосцерата (Церетон; «Сотекс Фармфирма», Россия) внутривенно капельно в 200,0 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Пациенты 2-й и 4-й подгрупп дополнительно получали препарат иммуномодулирующего действия Глутоксим (ФАРМА ВАМ, Россия) 30 мг в виде 3% раствора 1 мл, внутримышечно. Все препараты больные получали в течение 14 дней. Лечение соответствовало принципам доказательной медицины, все пациенты находились на безнитратной диете.

Критерии включения в основные подгруппы: равномерное распределение по группам пациентов мужского и женского пола, наличие ДЭП на фоне гипертонической болезни II стадии, диагностированной 5 и более лет в соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения и Международного общества по артериальной гипертензии (МОГ, 1999). Критерии исключения: гемодинамически значимые нарушения ритма сердечной деятельности и проводимости; пороки сердца; инфаркт миокарда, постинфарктный кардиосклероз и прогрессирующая стенокардия или наличие указаний на них в анамнезе; симптоматическая артериальная гипертензия; хроническая сердечная недостаточность более II ФК в соответствии с классификацией Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA); сахарный диабет или нарушенная толерантность к глюкозе.

Всем пациентам проводили комплексное клинико-инструментальное обследование по общепринятым стандартам, при этом во всех случаях имела место верификация диагноза ДЭП I и II стадиями. Оценка клинико-лабораторных данных в основной и контрольной группах осуществляли в начале лечения и через 2 нед. после его окончания.

Эритроциты получали из 10 мл гепаринизированной крови, для чего ее отстаивали дважды в 10 мМ Na-фосфатном буфере (рН=7,4), содержащем 0,9% хлорида натрия и 3% декстрана Т-500, в течение 30 минут при температуре 37°C. После этого кровь центрифугировали, после отделения плазмы, эритроцитарную массу подвергали дополнительной очистке на хроматографической колонке через HBS-целлюлозу, после чего определяли сорбционную способность эритроцитов (ССЭ) [10] и сорбционную емкость их гликокаликса (СЕГ) [11]. Мембраны эритроцитов выделяли методом G.T. Dodge (1963), липиды мембран определяли методом тонкослойной хроматографии [6]. Электрофорез белков проводили в присутствии додецилсульфата натрия в вертикальных пластинах полиакриламидного геля по методу U.K. Laemmli (1970), белки окрашивали Кумаси голубым R-250.

Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали общепринятыми методами по содержанию в эритроцитах продуктов деградации полиненасыщенных жирных кислот – производных тиобарбитуровой кислоты (малонового диальдегида – МДА и ацилгидроперекисей – АГП). Для оценки состояния антиоксидантной системы определяли методом прямого/конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с детекцией продуктов реакции в диапазоне длины волны 405-630 с применением готовых коммерческих наборов: активность супероксиддисмутазы (СОД) «Bender Medsystems» (Австрия), каталазы «Cayman Chemical» (США). Общую антиокислительную активность (ОАА), определяли методом, основанным на степени ингибирования аскорбат – и ферроиндуцированного окисления твина-80 до МДА. Концентрацию стабильных метаболитов оксида азота (Total NO, CM_{ON}) выявляли с использованием двух аналитических операций: измерение эндогенного нитрита и превращение нитрата в нитрит с использованием нитрит-редуктазы с последующим измерением общего нитрита по абсорбции азокрасителя в реакции Грисса при длине волны 540 нм с применением набора для ИФА фирмы «R&D» (Англия). Регистрация всех результатов ИФА осуществлялась при помощи микропланшетного фотометра «Sunrise», Tecan (Австрия).

Статистическую обработку результатов исследования проводили по общепринятым критериям вариационно-статистического анализа с вычислением средних величин (M), ошибки средней арифметической (m) с помощью пакета компьютерных программ Microsoft Excel, 2010. Существенность различий оценивали по U-критерию. Статистически значимыми считали различия с $p < 0,05$.

Результаты исследования

При ДЭП I стадии до лечения установлено снижение в эритроцитарной мембране уровня α - и β -спектрина соответственно на 10,7 и 9,0%, анкирина на 25,2%, паллидина на 22,7%, белка полосы 4.5 на 36,4%, дематина на 26,7%, глицеральальдегид-3-фосфатдегидрогеназы (Г-3-ФД) на 9,6% при повышении содержания анионтранспортного белка (АТБ) на 9,9%, актина на 17,0%, тропомиозина на 37,7% при нормальном уровне белка полосы 4.1 и глутатион-S-трансферазы (Г-S-T). Проведенная БФТ не влияет на представительность в мембране эритроцитов паллидина и дематина, корректирует, но не до показателей здоровых доноров, содержание актина и нормализует уровень остальных исследованных эритроцитарных белков. Включение Глутоксима в фармакологическую терапию дополнительно нормализует представительность актина и корректирует содержание паллидина и дематина.

У больных со II стадией ДЭП до лечения установлено снижение содержания α - и β -спектрина соответственно на 14,5 и 9,1%, анкирина на 25,4%, белка полосы 4.1 на 18,6%, паллидина на 25,0%, белка полосы 4.5 на 42,7%, дематина на 26,7%, Г-3-ФД на 18,4% и Г-S-T на 18,8%, повышение уровня АТБ на 13,4%, актина на 17,0% и тропомиозина на 40,9%. Проведенная БФТ нормализовала представительность в мембране эритроцитов анкирина, АТБ, белка 4.1, дематина, актина, Г-3-ФД и Г-S-T, изменяла в сторону значений здоровых доноров содержание остальных мембранных белков. Использование Глутоксима дополнительно нормализует содержание α -спектрина и тропомиозина (табл. 1).

При поступлении в клинику у больных ДЭП I стадии выявлено снижение в эритроцитарной мембране содержания фосфатидилхолина (ФХ) на 27,1%, фосфатидилэтанолamina (ФЭ) на 18,8%, фосфатидилинозитола (ФИ) на 23,5%, глицерофосфолипидов (ГФЛ – сумма ЛФХ, ФХ, ФЭ, ФС и ФИ) на 9,4%, сфингомиелина (СМ) на 34,6%, фосфолипидов (ФЛ – сумма ГФЛ и СМ) на 12,5%, эфиров холестерина (ЭХ) на 16,3%, холестерина (ХС – сумма холестерина и его эфиров) на 7%, повышение уровня лизофосфатидилхолина (ЛФХ) на 39,0%, триацилглицеролов (ТАГ) на 34,7%, неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) на 24,4%, при нормальном содержании фосфатидилсерина (ФС), холестерина (Х) и моно- и диацилглицеролов (МАГ, ДАГ).

Таблица 1. Белки эритроцитов у пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией (ДЭП) I и II стадии до и после лечения (M±m)

Показатели	1	2	3	4	5	6	7	
	Здоровые	ДЭП-1				ДЭП-2		
		До лечения	После лечения		До лечения	После лечения		
		Церетон+ Актовегин	Церетон+ Актовегин+ Глутоксим			Церетон+ Актовегин	Церетон+ Актовегин+ Глутоксим	
α-спектрин	110,8±2,4	98,9±1,9 ^{*1}	109,7±3,5 ^{*2}	114,8±4,1 ^{*2}	94,7±2,4 ^{*1}	96,1±2,3 ^{*1,5}	112,5±2,2 ^{*5,6}	
β-спектрин	106,1±2,0	96,6±2,7 ^{*1}	107,5±2,5 ^{*2}	106,3±2,1 ^{*2}	93,3±2,6 ^{*1}	100,2±2,8 ^{*1,5}	101,3±1,9 ^{*1,5}	
Анкирин	100,5±1,6	75,2±1,9 ^{*1}	101,1±3,3 ^{*2}	104,5±2,9 ^{*2}	74,9±2,3 ^{*1}	96,5±2,9 ^{*5}	98,7±2,4 ^{*5}	
АТБ	153,8±3,6	170,7±4,3 ^{*1}	151,4±4,5 ^{*2}	158,8±4,2 ^{*2}	177,6±3,4 ^{*1}	150,7±3,1 ^{*5}	154,3±4,8 ^{*5}	
4.1.	72,4±1,6	72,2±1,9	77,6±3,5	73,1±2,2	88,9±1,9 ^{*1,2}	75,1±4,0 ^{*5}	74,1±2,3 ^{*5}	
Паллидин	116,1±2,3	89,8±2,5 ^{*1}	85,4±2,2 ^{*1}	92,7±2,8 ^{*1-3}	87,1±2,3 ^{*1}	95,2±2,5 ^{*1,5}	97,3±2,7 ^{*1,5}	
4.5.	96,9±1,5	61,6±2,1 ^{*1}	87,2±1,7 ^{*1,2}	86,5±1,4 ^{*1,2}	55,5±2,3 ^{*1,2}	80,3±2,4 ^{*1,5}	84,2±3,0 ^{*1,5}	
Дематин	85,1±2,0	62,4±1,7 ^{*1}	64,9±2,9 ^{*1}	74,5±1,9 ^{*1-3}	62,4±2,6 ^{*1}	84,9±2,8 ^{*5}	86,9±2,3 ^{*5}	
Актин	94,0±1,5	113,2±2,2 ^{*1}	85,2±3,2 ^{*1,2}	92,5±1,7 ^{*2,3}	113,3±2,9 ^{*1}	95,1±2,7 ^{*5}	93,9±2,0 ^{*5}	
Г-3-ФД	45,0±1,0	40,7±1,5 ^{*1}	46,0±1,4 ^{*2}	47,4±2,1 ^{*2}	36,7±1,4 ^{*1,2}	44,8±1,3 ^{*5}	46,1±1,8 ^{*5}	
Тропомоизин	65,6±1,4	105,3±1,89 ^{*1}	67,6±2,1 ^{*2}	68,4±3,0 ^{*2}	111,0±2,7 ^{*1,2}	75,8±2,5 ^{*1,5}	68,7±3,1 ^{*5,6}	
Г-S-T	67,4±1,3	66,0±1,6	67,3±1,5	68,2±2,3	54,7±1,5 ^{*1,2}	65,2±1,8 ^{*5}	66,9±1,7 ^{*5}	

Примечание: на этой и таблицах 2 и 3 звездочкой отмечены достоверные отличия средних арифметических ($p < 0,05$); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы даны отличия. В этой и таблице 2 единицы измерения показателей – мг%

Использование БФТ нормализует содержание ФЭ, ФИ, ГФЛ, ХС, корректирует, за исключением ТАГ, уровень остальных представителей липидов мембраны эритроцитов, но не до уровня контроля. Применение Глутоксима дополнительно корректирует представительность ТАГ и нормализует содержание всех остальных исследованных липидов (табл. 2).

Таблица 2. Липиды мембраны эритроцитов у пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией (ДЭП) I и II стадии до и после лечения (M±m)

Показатели	1	2	3	4	5	6	7	
	Здоровые	ДЭП-1				ДЭП-2		
		До лечения	После лечения		До лечения	После лечения		
		Церетон+ Актовегин	Церетон+ Актовегин+ Глутоксим			Церетон+ Актовегин	Церетон+ Актовегин+ Глутоксим	
ФХ	20,7±1,0	15,1±0,2 ^{*1}	18,3±0,5 ^{*1,2}	21,4±0,9 ^{*2,3}	15,9±0,4 ^{*1}	16,7±0,5 ^{*1}	18,0±0,6 ^{*1,5,6}	
ЛФХ	6,4±0,4	10,5±0,4 ^{*1}	7,9±0,4 ^{*1,2}	6,9±0,5 ^{*2,3}	10,0±0,4 ^{*1}	8,4±0,2 ^{*1,5}	7,1±0,3 ^{*5,6}	
ФЭ	32,5±0,9	26,4±0,5 ^{*1}	31,1±0,6 ^{*2}	33,4±1,4 ^{*2}	25,5±0,9 ^{*1}	26,3±0,8 ^{*1}	29,4±1,0 ^{*1,5,6}	
ФС	29,0±0,5	28,7±0,5	28,3±0,3	30,1±1,2	24,1±0,6 ^{*1,2}	26,1±0,5 ^{*1,5}	30,2±1,3 ^{*5,6}	
ФИ	4,4±0,1	3,6±0,1 ^{*1}	4,4±0,1 ^{*2}	4,6±0,2 ^{*2}	3,5±0,2 ^{*1}	3,9±0,2 ^{*1}	3,8±0,1 ^{*1}	
ГФЛ	93,0±1,1	84,3±1,3 ^{*1}	91,0±1,3 ^{*2}	96,4±2,3 ^{*2,3}	79,0±1,2 ^{*1,2}	81,4±1,4 ^{*1}	88,5±1,9 ^{*1,5,6}	
СМ	13,3±0,4	8,7±0,3 ^{*1}	11,1±0,4 ^{*1,2}	13,5±0,4 ^{*2,3}	8,5±0,2 ^{*1}	9,8±0,3 ^{*1,5}	11,4±0,5 ^{*1,5,6}	
ФЛ	106,3±1,8	93,0±1,3 ^{*1}	102,1±1,3 ^{*1,2}	109,9±2,1 ^{*2,3}	82,5±0,9 ^{*1,2}	91,2±1,1 ^{*1,5}	99,9±2,0 ^{*1,5,6}	
Х	31,8±1,1	32,1±0,6	31,8±0,5	33,2±1,9	40,8±1,2 ^{*1,2}	39,5±1,1 ^{*1}	34,9±1,7 ^{*1,5,6}	
ЭХ	27,1±0,7	22,7±0,8 ^{*1}	24,1±0,6 ^{*1,2}	26,9±1,1 ^{*2,3}	23,2±0,4 ^{*1}	24,5±0,8 ^{*1}	26,4±0,5 ^{*5,6}	
ХС	58,9±1,4	54,8±1,2 ^{*1}	55,9±1,7	60,1±1,5 ^{*2,3}	64,0±1,7 ^{*1,2}	64,0±1,6 ^{*1}	61,3±2,1	
ТАГ	13,0±0,8	19,9±0,6 ^{*1}	18,5±0,6 ^{*1}	15,7±0,7 ^{*1-3}	20,0±0,6 ^{*1}	17,5±0,5 ^{*1,5}	15,1±0,4 ^{*1,5,6}	
ДАГ+МАГ	11,5±0,7	11,4±0,3	9,9±0,9	10,4±0,7	11,0±0,3	11,4±0,7	10,9±0,6	
НЭЖК	3,4±0,1	4,5±0,1 ^{*1}	3,9±0,2 ^{*1,2}	3,5±0,06 ^{*2,3}	4,3±0,2 ^{*1}	3,9±0,2 ^{*1,5}	3,5±0,04 ^{*5,6}	
Соотношение фракций липидов								
ЛФХ/ФХ	0,31±0,02	0,7±0,04 ^{*1}	0,41±0,03 ^{*1,2}	0,32±0,01 ^{*2,3}	0,63±0,06 ^{*1}	0,5±0,02 ^{*1,5}	0,39±0,03 ^{*1,5,6}	
СМ/ФХ	0,64±0,02	0,58±0,03 ^{*1}	0,58±0,02 ^{*1}	0,61±0,03	0,53±0,03 ^{*1}	0,6±0,02 ^{*5}	0,63±0,02 ^{*5}	
СМ/ФС	0,46±0,02	0,3±0,02 ^{*1}	0,39±0,02 ^{*1,2}	0,45±0,01 ^{*2,3}	0,35±0,02 ^{*1}	0,38±0,02 ^{*1}	0,38±0,01 ^{*1}	
СМ/ФИ	3,0±0,09	2,4±0,1 ^{*1}	2,5±0,04 ^{*1}	2,9±0,04 ^{*2,3}	3,4±0,2 ^{*1,2}	2,5±0,1 ^{*1,5}	3,0±0,2 ^{*6}	
СМ/ГФЛ	0,14±0,01	0,1±0,01 ^{*1}	0,12±0,01	0,14±0,01 ^{*2}	0,11±0,01 ^{*1}	0,12±0,01	0,13±0,02	
ФХ/ФЭ	0,64±0,04	0,57±0,03	0,62±0,03	0,64±0,04	0,62±0,02	0,63±0,05	0,61±0,03	
ФХ/ФС	0,71±0,02	0,53±0,03 ^{*1}	0,68±0,03 ^{*2}	0,71±0,03 ^{*2}	0,66±0,02 ^{*1,2}	0,64±0,02 ^{*1}	0,62±0,02 ^{*1}	
ФХ/ФИ	4,7±0,2	4,2±0,2	4,4±0,2	4,7±0,1 ^{*2}	4,5±0,2	4,3±0,3	4,7±0,2	
ХС/ФЛ	0,55±0,01	0,59±0,01 ^{*1}	0,55±0,01 ^{*2}	0,55±0,02 ^{*2}	0,78±0,03 ^{*1,2}	0,7±0,02 ^{*1,5}	0,61±0,02 ^{*1,5,6}	
Х/ЭХ	1,17±0,2	1,41±0,1 ^{*1}	1,32±0,07 ^{*1}	1,23±0,05 ^{*2}	1,76±0,2 ^{*1,2}	1,61±0,1 ^{*1}	1,32±0,1 ^{*5,6}	

До лечения у больных ДЭП II стадии выявлено снижение содержания ФХ, ФЭ, ФС, ФИ, ГФЛ, СМ, ФЛ и ЭХ соответственно на 23,2; 21,5; 16,9; 20,5; 15,1; 36,1; 22,4 и 14,4%, повышение уровня ЛФХ, Х, ХС, ТАГ и НЭЖК соответственно на 36,0; 22,1; 8,0; 35,0 и 20,9%, при нормальном содержании суммы МАГ и ДАГ. Применение БФТ корректирует в сторону контроля содержание ЛФХ, ФС, СМ, ФЛ, ТАГ и НЭЖК, не влияя на предстательность остальных исследованных липидов мембраны эритроцитов. Включение в фармакологическую терапию Глутоксима дополнительно нормализует уровень ЛФХ, ФС, ЭХ, ХС и НЭЖК и корректирует содержание остальных липидов, не влияя на уровень ФИ (табл. 2).

При анализе соотношения изученных липидных фракций мембраны эритроцитов выявлено, что до лечения при ДЭП I стадии повышается соотношение ЛФХ/ФХ, ХС/ФЛ и Х/ЭХ, но снижается отношение СМ/ФХ, СМ/ФС, СМ/ФИ, СМ/ГФЛ и ФХ/ФС. После БФТ нормализуется соотношение СМ/ГФЛ, ФХ/ФС, ФХ/ФИ, ХС/ФЛ и корректируется в сторону контрольных показателей отношение ЛФХ/ФХ и СМ/ФС. Применение Глутоксима дополнительно нормализует соотношение ЛФХ/ФХ, СМ/ФХ, СМ/ФС, СМ/ФИ и Х/ЭХ (табл. 2).

При ДЭП II стадии установлено повышение соотношение ЛФХ/ФХ, СМ/ФИ, ХС/ФЛ, Х/ЭХ и снижение СМ/ФХ, СМ/ФС, СМ/ГФЛ. После базовой фармакотерапии нормализуется соотношение СМ/ФХ и СМ/ГФЛ, корректируется в сторону контрольных показателей ЛФХ/ФХ, ХС/ФЛ, снижается ниже нормы соотношение СМ/ФИ. Применение Глутоксима дополнительно нормализует соотношение СМ/ФИ, Х/ЭХ и корректирует ЛФХ/ФХ и ХС/ФЛ (табл. 2).

У больных ДЭП I стадии до начала лечения в эритроцитах установлена активация процессов пероксидации (повышение концентрации МДА и АГП в 4,8 и 4,7 раз), снижение факторов антиоксидантной защиты: ОАА, активности СОД и каталазы соответственно в 1,3; 1,5 и 2,0 раз. Кроме этого, установлено повышение уровня СМ_{ОН} в 2,1 раза и снижение сорбционной способности мембраны эритроцитов (снижение СЕГ и ССЭ в 1,6 и 1,7 раз). Проведенная БФТ корректировала в сторону показателей здоровых доноров ССЭ, концентрацию продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и нормализовала остальные исследованные показатели метаболической активности эритроцитов. Включение в фармакологическую терапию Глутоксима дополнительно корректировало уровень МДА (табл. 3).

Таблица 3. Метаболические показатели эритроцитов при дисциркуляторной энцефалопатией (ДЭП) I и II стадии до и после лечения (M±m)

Показатели	1	2	3	4	5	6	7
	Здоровые	ДЭП-1			ДЭП-2		
		До лечения	После лечения		До лечения	После лечения	
			Церегон+ Актовегин	Церегон+ Актовегин+ Глутоксим		Церегон+ Актовегин	Церегон+ Актовегин+ Глутоксим
МДА, ммоль/л	0,31±0,02	1,5±0,07* ¹	0,77±0,06* ^{1,2}	0,61±0,04* ¹⁻³	1,7±0,1* ¹	1,1±0,2* ^{1,5}	0,74±0,09* ^{1,5,6}
АГП, усл. ед.	0,18±0,01	0,84±0,06* ¹	0,5±0,04* ^{1,2}	0,6±0,07* ^{1,2}	0,9±0,03* ¹	0,7±0,04* ^{1,5}	0,44±0,03* ^{1,5,6}
ОАА, %	31,1±0,8	23,7±0,8* ¹	32,0±1,1* ²	33,4±1,8* ²	24,8±0,8* ¹	30,7±0,7* ⁵	32,5±2,4* ⁵
СОД, усл. ед.	19,2±0,7	13,2±0,5* ¹	19,0±0,9* ²	21,5±1,4* ²	13,4±0,5* ¹	15,2±0,4* ^{1,5}	19,7±0,9* ⁵
Каталаза, мкат/л	9,6±0,3	4,8±0,2* ¹	9,3±0,3* ²	9,9±0,3* ²	4,9±0,2* ¹	7,4±0,2* ^{1,5}	9,2±0,3* ⁵
СМ _{НО} , ммоль/л	2,3±0,2	4,9±0,2* ¹	2,2±0,2* ²	2,4±0,1* ²	4,8±0,2* ¹	5,1±0,2* ¹	4,5±0,2* ^{1,5,6}
СЕГ, 10 ⁻¹² г/эр.	1,6±0,1	1,0±0,05* ¹	1,8±0,1* ²	1,9±0,2* ²	1,0±0,04* ¹	1,1±0,07* ¹	1,3±0,04* ^{1,5,6}
ССЭ, %	32,6±0,8	19,6±0,6* ¹	24,2±0,9* ^{1,2}	25,3±1,1* ^{1,2}	19,4±0,5* ¹	20,8±0,2* ¹	25,8±2,2* ^{1,5,6}

На момент поступления пациентов со II стадией ДЭП в клинику в эритроцитах установлено повышение концентрации МДА и АГП в 5,5 и 5,0 раз, снижение ОАА, активности СОД и каталазы соответственно в 1,3; 1,4 и 2,0 раз, повышение уровня СМ_{ОН} в 2,1 раза и снижение СЕГ и ССЭ в 1,7 раз. Применение БФТ нормализовало ОАА, корректировало в сторону уровня здоровых доноров параметры ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов, при этом сорбционные показатели и содержание СМ_{ОН} остались без изменения. Использование Глутоксима

дополнительно нормализовало активность каталазы и СОД и корригировало остальные исследованные параметры метаболизма эритроцитов (табл. 3).

Резюмируя полученные данные можно констатировать, что из 33 исследованных параметров структурно-функциональных свойств эритроцитов у пациентов с I и II стадией ДЭП до начала лечения оказались измененными от значений здоровых доноров соответственно 84,1% и 93,2% показателей, из которых 65,9% параметров у больных с обеими стадиями ДЭП оказались одинаковыми по величине и по направленности изменений, еще 19,5% идентичны по направленности. Следует отметить, что при ДЭП II стадии содержание белков полосы 4.1, Г-S-T, липидной фракции (ФС) оказалось сниженным, а X повышенным, при их нормальном уровне при заболевании I стадии. Кроме этого, разнонаправленным оказалось содержание ХС и соотношение СМ/ФИ, сниженным на ранней стадии ДЭП и повышенным при более поздней (табл. 4).

Таблица 4. Фармакологическая эффективность различных сочетаний препаратов при дисциркуляторной энцефалопатией (ДЭП) I и II стадии

№ п/п	Схемы фармакологической терапии	Измененные показатели структурно-функциональных свойств эритроцитов до лечения, %	Из них после проведения коррекции, %		
			нормализованы	корригированы	не изменены
ДЭП I стадии					
1	Церетон, Актовегин	84,1	48,6	35,2	16,2
2	Церетон, Актовегин, Глутоксим		64,9	27,0	8,1
ДЭП II стадии					
1	Церетон, Актовегин	93,2	22,0	43,9	34,1
2	Церетон, Актовегин, Глутоксим		51,2	41,5	7,3

Обсуждение результатов исследования

Полученные данные свидетельствуют о значительных изменениях со стороны белков, ответственных за структурообразование и стабилизацию мембраны эритроцитов (α - и β -спектрин, дематин – основные белки цитоскелета, анкирин, белок полосы 4.1, паллидин), формообразование и гибкость мембраны (актин, тропомиозин), внутриклеточный метаболизм (Г-3-ФД, Г-S-T, белок полосы 4.5). Изменение содержания и соотношения липидного спектра, в первую очередь, снижение содержания мембранных ГФЛ и СМ, составляющих основу двойного липидного каркаса клеточной мембраны и играющих основную роль в упорядочивании белковых макромолекул и нормальном метаболизме эритроцитов [12] наряду с изменением архитектоники белков приводит к серьезным нарушениям в функциональных свойствах эритроцитов периферической крови уже на ранних стадиях развития ДЭП, о чем свидетельствует снижение сорбционных свойств мембраны эритроцитов, повышение процессов ПОЛ содержания стабильных метаболитов оксида азота, являющихся косвенным показателем уровня NO. Все это, вместе взятое с фактом значительного снижения ключевых ферментов антиоксидантной защиты (СОД и каталазы) может свидетельствовать о развитии внутриэритроцитарного окислительного стресса.

Применение БФТ при ДЭП I стадии нормализует 48,6% измененных на момент поступления в клинику пациентов лабораторных эритроцитарных параметров, корригирует 35,2% и не влияет на 16,2% показателей. Более эффективным оказалось включение в комплексную фармакотерапию Глутоксима, так как нормализованы оказались 64,9%, корригированы – 27,0% и остались без изменения – 8,1% показателей. БФТ при II стадии ДЭП нормализует 22,0% эритроцитарных параметров, измененных до лечения, корригирует 43,9% и не изменяет 34,1%. Более эффективным, как и при I стадии заболевания, оказалось дополнение фармакологической терапии Глутоксимом, так как нормализованы оказались 51,2%, корригированы – 41,5% и не изменены – 7,3% показателей структурно-функциональных свойств эритроцитов (табл. 4).

В исследование были включены пациенты ДЭП на фоне гипертонической болезни II стадии, следовательно, имеющаяся у них церебральная гипоперфузия связана с микроангиопатиями, обусловленными АГ. Возникающая при этом гипоксия приводит к развитию воспалительной реакции, носящей метаболический характер и формирующий «цитокинный каскад» с увеличением на локальном уровне и в системной циркуляции содержания провоспалительных цитокинов и хемокинов (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17, IL-18), одновременно развивается окислительный стресс, эндотелиальная дисфункция, активируются процессы пероксидации [1, 2,

4, 8]. По-видимому, такие же процессы развиваются и на уровне красных кровяных клеток, усугубляя при этом церебральную гипоксию.

Установленные в ходе исследования корригирующие эффекты Кавинтона, Церетона и Актовегина в отношении нарушений структурно-функциональных свойств эритроцитов, в первую очередь, можно объяснить их прямым воздействием на ткани мозга с улучшением мозгового кровотока, нейромедиаторным и метаболическим действием холина альфосцерата (Церетон), плейотропными, нейрометаболическими эффектами Актовегина и Кавинтона с их выраженным антиоксидантным, антигипоксическим и антиапоптотическим механизмом действия, поскольку улучшается транспорт и окисление глюкозы клетками, стимулируется потребление кислорода, что приводит к стабилизации клеточных мембран нейронов и снижению процессов анаэробного гликолиза, повышается устойчивость нейронов к гипоксии, уровень АМФ, АТФ, цГМФ, усиливается обмен норадреналина и серотонина в головном мозге [7, 15]. В тоже время нельзя исключить и прямое воздействие данных препаратов на клетки иммунной системы и эритроциты за счет указанных патофизиологических механизмов. Учитывая патогенетическую роль иммунных нарушений при гипертонической болезни и ДЭП, дополнительные выраженные корригирующие эффекты Глутоксима, вероятней всего, обеспечиваются его избирательным влиянием на функционально-метаболическую активность моноцитов/макрофагов, нейтрофилов, НК-клеток, повышая или снижая их активность в зависимости от исходных значений. Кроме того, препарат оказывает выраженное противовоспалительное, антиоксидантное и регенеративное действие [9].

Выводы

1. У пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией I и II стадии на фоне гипертонической болезни II стадии до начала лечения установлено нарушение соответственно 84,1% и 93,2% лабораторных параметров структурно-функциональных свойств эритроцитов, из которых 65,9% показателей у больных с обеими стадиями дисциркуляторной энцефалопатии оказались одинаковыми по величине и по направленности изменений, еще 19,5% идентичны по направленности.
2. Использование в лечении дисциркуляторной энцефалопатии I и II стадии Эналаприла, Кавинтона, Церетона и Актовегина нормализует и корригирует соответственно 83,8% и 65,9% измененных до лечения показателей функционально-структурных свойств эритроцитов. Включение Глутоксима более эффективно, так как увеличивает эти параметры до 91,9% и 92,7%.

Литература

1. Гаврилюк Е.В., Конопля А.И., Караулов А.В. Роль иммунных нарушений в патогенезе артериальной гипертонии // Иммунология. – 2016. – Т.37, №1. – С. 29-34.
2. Гусев Е.И., Чуканова А.С. Современные патогенетические аспекты формирования хронической ишемии мозга // Журнал неврологии и психиатрии. – 2015. – №3. – С. 4-8.
3. Есин Р.Г., Есин О.Р., Хайруллин И.Х. Дисциркуляторная энцефалопатия и болезнь мелких сосудов // Журнал неврологии и психиатрии. – 2016. – №8. – С. 109-113.
4. Конопля А.И., Шульгинова А.А., Ласков В.Б. Иммунные и оксидантные нарушения у больных хронической ишемией мозга и их коррекция // Журнал неврологии и психиатрии. – 2015. – №11. – С. 28-32.
5. Конопля А.И., Шульгинова А.А. Хроническая ишемия головного мозга: состояние структурно-функциональных свойств эритроцитов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2016. – Т.60, №1. – С. 17-22.
6. Крылов В.И., Виноградов А.Ф., Ефремова С.И. Метод тонкослойной хроматографии липидов мембран эритроцитов // Лабораторное дело. – 1984. – №4. – С. 205-206.
7. Пизова Н.В. Опыт применения церетона у больных с хронической ишемией головного мозга и умеренными когнитивными расстройствами // Журнал неврологии и психиатрии. – 2014. – №12. – С. 78-83.
8. Путилина, М.В. Роль артериальной гипертензии в развитии хронического нарушения мозгового кровообращения // Журнал неврологии и психиатрии. – 2014. – №9. – С. 124-128.
9. Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., М. Леонова М.В., Покозий И.Ю. Влияние и иммуномодулятора Галавит на течение хронического рецидивирующего тонзиллита // Врач. – 2016. – №8. – С. 20-25.
10. Семко Г.А. Структурно-функциональные изменения мембран и внешних примембранных слоев эритроцитов при гиперэпидермопозе // Украинский биохимический журнал. – 1998. – Т.70, №3. – С. 113-118.
11. Тогайбаев А.А., Кургузкин А.В., Рикун И.В. Способ диагностики эндогенной интоксикации // Лабораторное дело. – 1988. – №9. – С. 22-24.
12. Шишкина Л.Н., Шевченко О.Г. Липиды эритроцитов крови и их функциональная активность // Успехи

- современной биологии. – 2010. – №130(6). – С. 587-602.
13. Шульгинова А.А., Ласков В.Б., Конопля А.И., Караулов А.В. Фармакологическая коррекция нарушений липидного спектра мембран эритроцитов у пациентов с хронической ишемией мозга на фоне гипертонической болезни // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2016. – Т.79, №7. – С. 3-725.
 14. Dodge G.T., Mitchell C., Hanahan D.J. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of human erythrocytes // Archive of Biochemistry and Biophysics. – 1963. – N100. – P. 119-130.
 15. Elmlinger M.W., Kriebel M., Ziegler D. Neuroprotective and anti-oxidative effects of the hemodialysate actovegin on primary rat neurons in vitro // Neuromolecular Medicine. – 2011. – V.13, N4. – P. 266-274.
 16. Laemli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage // Nature. – 1970. – V.4, N227. – P. 680.

Информация об авторах

Суняйкина Ольга Анатольевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: 9192707253@mail.ru

Шульгинова Анастасия Александровна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры неврологии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: snaky292@yandex.ru

Быстрова Наталья Анатольевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: nabistrova@gmail.com

Хорлякова Ольга Викторовна – кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: 9192707253@mail.ru