

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 цилексетилем.

#### **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](http://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](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  $\alpha$ -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.

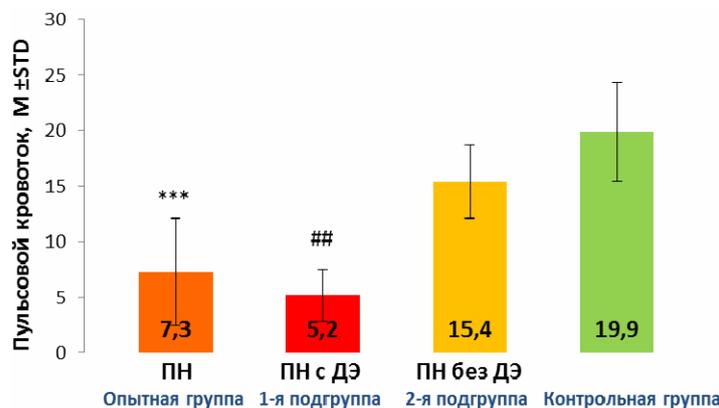
Показано, что в основной группе 80 % пациентов с пиелонефритами (1-я опытная группа,  $n = 80$ ) имеют патологически низкие значения максимального пульсового кровотока ( $5,2 \pm 2,35 \%$ ), а у 20 % детей (2-я опытная группа,  $n = 20$ ) они оказались выше ( $15,4 \pm 3,3\%$ ,  $p < 0,001$ ) (рисунок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

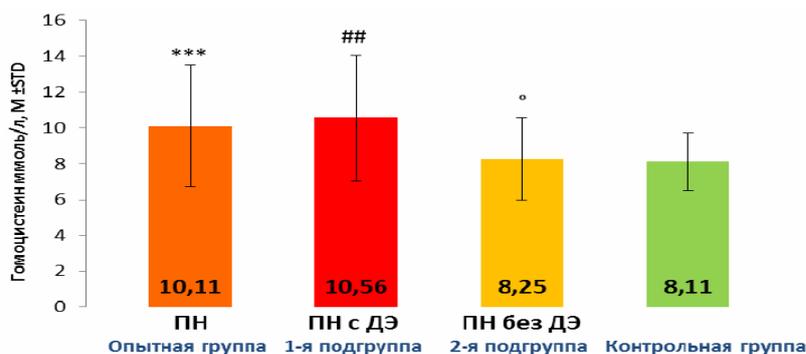
Содержание гомоцистеина в крови у детей с дисфункцией эндотелия составило  $10,56 \pm 3,51$  мМ/л, что превышает его значение в контрольной группе ( $8,11 \pm 1,60$  мМ/л,  $p < 0,01$ ) и в группе больных без дисфункции эндотелия ( $8,25 \pm 2,29$  мМ/л,  $p < 0,05$ ), (рисунок 2).

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 —  $\alpha$ -токоферола до  $17,7 \pm 2,27$  нМ/л ( $21,8 \pm 2,98$  нМ/л,  $p < 0,01$ ) (рисунок 5).

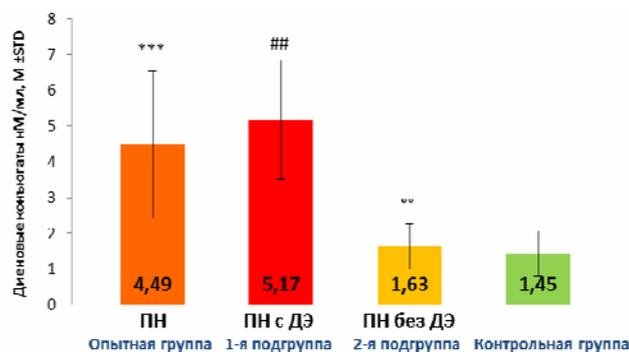


Рисунок 3 — Уровень диеновых конъюгатов в крови у пациентов с пиелонефритами (ПН) с дисфункцией эндотелия (ДЭ)

Примечание: см. рисунок 1

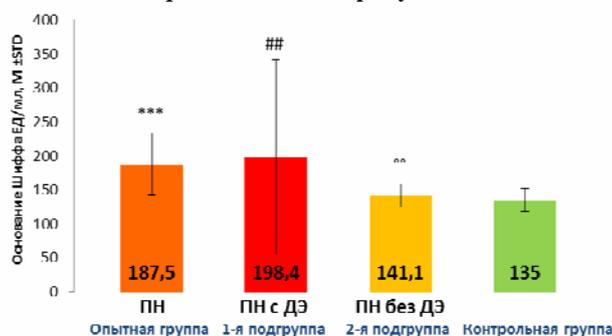


Рисунок 4 — Уровень оснований Шиффа в крови у пациентов с пиелонефритами (ПН) с дисфункцией эндотелия (ДЭ)

Примечание: см. рисунок 1

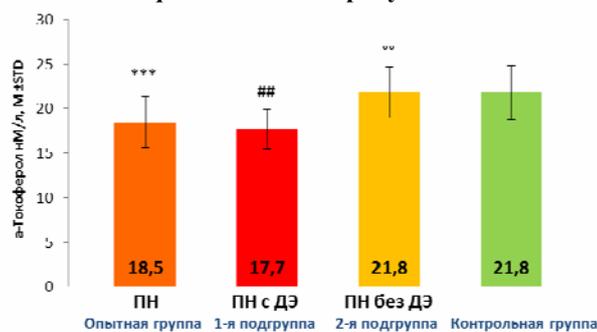


Рисунок 5 — Уровень  $\alpha$ -токоферола в крови у пациентов с пиелонефритами (ПН) с дисфункцией эндотелия (ДЭ)

Примечание: смотри рисунок 1

У детей с пиелонефритами без дисфункции эндотелия концентрация продуктов перекисного окисления липидов и  $\alpha$ -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 ( $R = -0,67$ ,  $p < 0,001$ ),  $\alpha$ -токоферола в крови ( $R = 0,75$ ,  $p < 0,001$ ).

Повышение в крови продуктов перекисного окисления липидов и снижение уровня естественного антиоксиданта  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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. B. 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. Zgharam, I. M. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The Eur. Conc. Act. Rep. / I. M. Zgharam, 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

<sup>1</sup>С. В. Зыблева, <sup>2</sup>П. Д. Новиков

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель  
<sup>2</sup>Витебский 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.