

В.К. Козлов¹, М.В. Козлов¹, О.А. Лебедько¹, Б.Я. Рыжавский², Н.В. Морозова²

КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЭХИНОХРОМА А ДЛЯ КОРРЕКЦИИ И ПРОФИЛАКТИКИ СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В СИСТЕМЕ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА

*Институт охраны материнства и детства СО РАМН¹,
680022, ул. Воронежская, 49, кор.1, тел.: 8(4212)-98-05-91;
Дальневосточный государственный медицинский университет²,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел./факс: 8(4212)-32-63-93, г. Хабаровск*

Резюме

На основании клинико-экспериментальных исследований установлено, что эхинохром А способен предупреждать и корригировать нарушения свободнорадикального статуса и деструктивные изменения в системе органов дыхания на ранних этапах онтогенеза.

Ключевые слова: свободнорадикальное окисление, морфология, легкие, онтогенез.

V.K. Kozlov, M.V. Kozlov, O.A. Lebedko,
B.Ya. Ryzhavskii, N.V. Morozova

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MOTIVATION OF ECHINOCHROME A USAGE FOR CORRECTION AND PREVENTIVE MAINTENANCES OF STRUCTURAL -METABOLIC DISTURBANCES IN RESPIRATORY SYSTEM AT EARLY STAGES OF ONTOGENESIS

Center-SB RAMS - Scientific research institute of Mother and Child Care; Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

By means of clinical and experimental studies it has been determined that echino chrome A is capable to prevent and correct free-radical disturbances and destructive changes in respiratory system at early stages of ontogenesis

Key words: free radicals oxidation, morphology, lung, ontogenesis.

Эхинохром А (2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этилнафталиндион-1,4) является одним из самых распространенных спиноксидов - хиноидных пигментов морских беспозвоночных. Исследованиями сотрудников Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН было установлено, что спиноксиды обладают антимикробной и антивирусной активностью, но особый интерес у исследователей вызвало наличие у этих веществ, особенно у эхинохрома А, выраженных антиоксидантных антирадикальных свойств [11]. В дальнейшем именно эти свойства эхинохрома А, выделенного из основного пигмента панцирей морских ежей *Strongylocentrotus intermedius* и *Strongylocentrotus nudus*, послужили основой для разработки лекарственного препарата «Гистохром» [4, 10], являющегося в настоящее время одним из наиболее эффективных антиоксидантов нового поколения. Высокая фармакологическая активность эхинохрома А обусловлена его способностью играть роль активного перехватчика свободных радикалов, а также хелатировать ионы переменного-валентных металлов, инициирующих свободнорадикальное окисление [1, 6, 14, 15]. Обладая цитопротективным, мембраностабилизирующим, антигипоксическим, антиагрегантным, противовоспалительными свойствами, эхинохром А широко применяется в кардиологии, неврологии и офтальмологии [10, 11, 13]. В последнем случае эхинохром А продемонстрировал высокую эффективность, в том числе в виде монотерапии, при лечении детей в возрасте от 1 мес. до 14 лет с воспалительными заболеваниями глаз и гемофтальмами различного генеза [2, 3].

Одной из актуальнейших задач современной детской пульмонологии является поиск наиболее эффективных методов профилактики и коррекции структурно-метаболических нарушений в системе органов дыхания на ранних этапах онтогенеза. О необходимости такого поиска свидетельствует неуклонно увеличивающееся число детей с пороками развития легких, в подавляющем большинстве случаев осложненных пневмониями воспалительного генеза с непрерывно-рецидивирующим типом течения [5]. В условиях Дальнего Востока, известного своим экологическим неблагополучием, подобную ситуацию следует оценивать и как проявление экологически обусловленных эмбриофетопатий [9]. Ранее на разработанной нами экспериментальной модели экзопатологии отсроченного внешнесредового дизэмбриогенетического эффекта свинца мы установили ведущую роль свободнорадикальных механизмов в патогенезе деструктивных

изменений органов дыхания, обусловленных антенатальным воздействием экотоксиканта [7]. Аналогичные механизмы по типу формирования оксидативного стресса были выявлены нами и на клиническом уровне — у детей с хроническими воспалительными заболеваниями легких в стадии ремиссии на фоне порока развития легких (бронхолегочной дисплазии) [8].

Исходя из вышеизложенного, целью нашей работы явилось клинико-экспериментальное обоснование применения эхинохрома А для коррекции и профилактики структурно-метаболических нарушений в системе органов дыхания на ранних этапах онтогенеза.

Материалы и методы

В экспериментальной части работы изучались 40-дневные белые крысы. Животные были разделены на 3 группы. Первая — потомство интактных самок, вторая

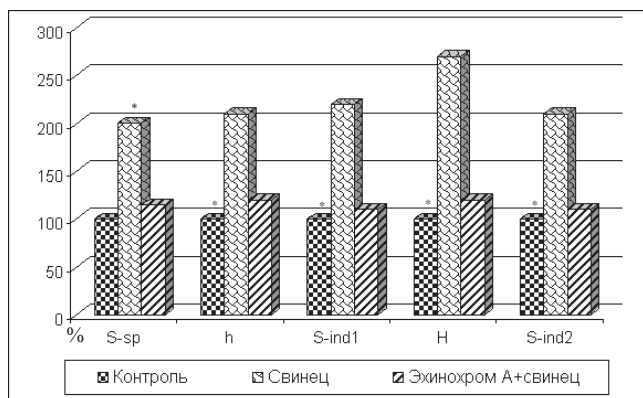


Рис. 1. Показатели хемилюминесценции (в % по отношению к контролю) гомогенатов легких 40-дневных белых крыс
Примечание. * — $p < 0,05$ в сравнении с показателями контроля.

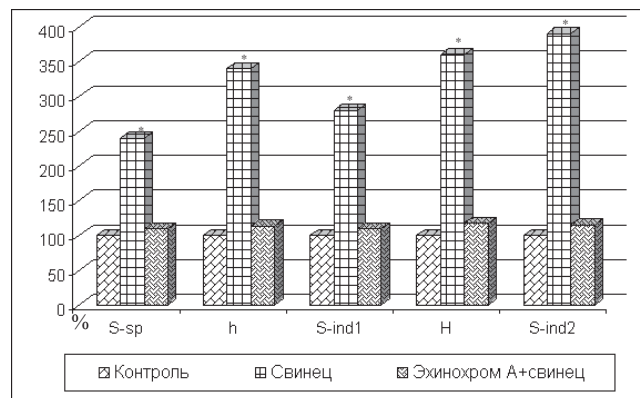


Рис. 2. Показатели хемилюминесценции (в % по отношению к контролю) сыворотки крови 40-дневных белых крыс
Примечание. * — $p < 0,05$ в сравнении с показателями контроля.

— потомство самок, которым на 17-18 дн. беременности через желудочный зонд вводили однократно 4% раствор нитрата свинца (200 мг/кг массы тела). Третья группа — потомство самок, которым в аналогичном режиме вводили нитрат свинца, но на фоне воздействия эхинохрома А в суточной дозе 0,3 мг/кг массы, четырехкратно (на 17; 18; 19 и 21 дн. беременности), в виде внутрибрюшинных инъекций препарата «Раствор гистохрома 0,02% для инъекций». Все животные содержались в условиях одного вивария, пищу и воду получали *ad libitum*. После декапитации животных производили забор биоматериала: для хемилюминесцентного (ХМЛ) анализа — сыворотку крови и гомогенаты легких; для морфологического анализа — правое легкое, парафиновые срезы которого окрашивали гематоксилином и эозином, при помощи морфометрической сетки определяли объемную плотность просветов альвеол и межальвеолярных перегородок, как описано ранее [7].

Клиническая часть работы осуществлялась на базе ХФ ДНЦ ФПД СО РАМН - НИИ ОМиД. Проведено исследование, в которое были включены пациенты (7 мальчиков и 4 девочки) от 7 до 12 лет с хроническими воспалительными заболеваниями легких (ХВЗЛ) в периоде ремиссии на фоне пороков развития легких. Средний возраст пациентов составил $8,64 \pm 0,62$ г. После комплексного клиничко-лабораторного обследования пациенты получали эхинохром А в виде препарата «Раствор гистохрома 0,02% для инъекций», который вводили внутримышечно, по 0,5 мл ежедневно. Курс составлял пять инъекций. Забор сыворотки крови на ХМЛ-анализ проводили дважды: до и после монотерапии эхинохромом А. На проведение исследования было получено разрешение Этического комитета ХФ ДНЦ ФПД СО РАМН - НИИ ОМиД. Родители всех пациентов дали информированное согласие на участие детей в исследовании.

С помощью ХМЛ-анализа оценивали свободнорадикальный статус экспериментального и клинического биоматериала по методикам, описанным нами ранее [12]. Определяли Ssp (интенсивность свободнорадикального окисления), h (содержание гидроперекисей липидов), Sind-1 (скорость накопления перекисных радикалов), H (величину, обратную перекисной резистентности), Sind-2 (величину, обратную активности антиоксидантной антирадикальной защиты). Интенсивность ХМЛ, измеренную в милливольтгах, рассчитывали на 1 мг влажной ткани

или 1 мл сыворотки крови и выражали в относительных единицах. Полученные данные обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Анализ хемилюминограмм продемонстрировал (рис. 1, 2), что в легких и крови 40-дневных крыс, перенесших антенатальное воздействие нитрата свинца, имело место достоверное увеличение всех исследуемых ХМЛ-показателей по отношению к контролю: величины Ssp возросли в 2,0 и 2,4 раза, h — в 2,1 и 3,4 раза, Sind-1 — в 2,2 и 2,8 раза, Sind-2 — в 2,1 и 3,9 раза, H — в 2,7 и 3,6 раза соответственно. Подобная ХМЛ-динамика свидетельствует о развитии оксидативного стресса на органном уровне и на уровне организма в целом. Следствием свободнорадикального повреждения и окислительной модификации соответствующих биоструктур явились деструктивные изменения в легких: гиперплазия лимфоидной ткани в стенках бронхов и перибронхиальной соединительной ткани, снижение относительного объема компартмента респираторного отдела легких (рис. 3).

В легких и крови 40-дневных белых крыс, антенатально подвергнутых воздействию нитрата свинца на фоне введения эхинохрома А, все исследуемые показатели ХМЛ-кинетики не имели достоверных отличий от аналогичных величин в группе контроля (рис. 1, 2). Морфологическая картина легких при этом также соответствовала



Рис. 3. Легкое 40-дневной крысы, подвергнутой антенатальному воздействию нитрата свинца. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 7×10

**Параметры хемилюминесценции (отн. ед.) сыворотки крови
у детей с ХВЗЛ в стадии ремиссии на фоне применения
эхинохрома А (M±m)**

Период	Параметры				
	Ssp	h	Sind-1	H	Sind-2
До применения эхинохрома А	0,127 ±0,005	0,161 ±0,008	0,297 ±0,008	0,410 ±0,010	0,451 ±0,016
После применения эхинохрома А	0,087 ±0,005*	0,096 ±0,008*	0,182 ±0,010*	0,221 ±0,009*	0,290 ±0,008*

Примечание. * — $p < 0,05$ при сравнении между группами.

норме: патологических отклонений в структуре органа выявлено не было.

Полученные экспериментальные данные обосновывают возможность применения эхинохрома А для антенатальной профилактики и коррекции дефектов морфогенеза легких, обусловленных свободнорадикальными механизмами эмбрионального импринтинга экотоксикантов.

Эффективность применения эхинохрома А для коррекции нарушений свободнорадикального статуса при непосредственном (прямом) воздействии и на более позднем этапе онтогенеза оценивалась у детей с ХВЗЛ в стадии ремиссии на фоне пороков развития легких. Анализ свободнорадикального статуса сыворотки крови выявил, что после применения препарата все исследуемые ХМЛ-параметры достоверно снизились в сравнении с аналогичными показателями до применения эхинохрома А. Так, уровни Sind-2 и H снизились в 1,6 и 1,9 раза, что свидетельствует о соответствующем повышении активности антиоксидантной антирадикальной защиты и перекисной резистентности. На этом фоне активность свободнорадикальных процессов (Ssp) снизилась в 1,5 раза, концентрация гидроперекисей липидов (h) — в 1,7 раза, скорость образования перекисных радикалов (Sind-1) — в 1,6 раза (таблица). Результаты ХМЛ-анализа динамики показателей свободнорадикального статуса сыворотки крови на фоне применения эхинохрома А у детей с ХВЗЛ в стадии ремиссии с пороками развития легких свидетельствуют о том, что в данной клинической ситуации препарат эффективно реализует свои антиоксидантные свойства и значительно снижает интенсивность свободнорадикального окисления, в том числе на этапе перекисидации липидов.

Таким образом, применение эхинохрома А при структурно-метаболических нарушениях в системе органов дыхания на ранних этапах онтогенеза патогенетически целесообразно и высокоэффективно. Следует отметить не только терапевтическую, но и профилактическую значимость выявленных эффектов.

Выводы

1. Антенатальное воздействие нитрата свинца индуцирует деструктивные свободнорадикальные и морфологические изменения в легких 40-дневных белых крыс. Антенатальное воздействие эхинохрома А предупреждает развитие этих нарушений.

2. Применение эхинохрома А в качестве монотерапии у детей с ХВЗЛ в стадии ремиссии на фоне пороков развития легких повышает перекисную резистентность, антиоксидантную антирадикальную защиту организма и эффективно снижает интенсивность свободнорадикаль-

ного окисления, в том числе на этапе перекисидации липидов.

3. Эхинохром А способен предупреждать и корректировать нарушения свободнорадикального статуса и деструктивные изменения в системе органов дыхания на ранних этапах онтогенеза.

Л и т е р а т у р а

1. Бердышев Д.В., Глазунов В.П., Новиков В.Л. Изучение механизмов антиоксидантного действия 2,3,5,6,8-пентагидрокси-7-этил-1,4-нафтохинона (эхинохрома А) с использованием теории функционала плотности. Сообщ. 1. Взаимодействие эхинохрома А с гидропероксидным радикалом // Известия Академии наук. Серия химическая. - 2007. - №3. - С. 400-415.

2. Гусева М.Р., Дубовская Л.А., Чиненов И.М. и др. Комплексное лечение внутриглазных кровоизлияний с применением антиоксидантного препарата «Гистохром» у детей // Рефракц. хирургия и офтальмология. - 2003. - Т.3, №1. - С. 70-76.

3. Гусева М.Р., Чиненов И.М., Ширшов М.В. и др. Применение антиоксидантного препарата «Гистохром» в комплексном лечении внутриглазных кровоизлияний у детей разного возраста // Вестник офтальмологии. - 2005. - №2. - С. 24-28.

4. Догадова Л.П., Тихомирова Н.М., Максимов О.Б. и др. Средство, обладающее свойством рассасывания гемофтальмов // Патент России № 1826909, 1993. Бюл. №25.

5. Козлов В.К., Рыжавский Б.Я., Лебедько О.А. и др. Этиопатогенетические и клинические особенности формирования хронических обструктивных болезней легких у детей Приамурья // Бюл. физиол. и патол. дыхания СО РАМН. - 2007. - Вып. 24. - С. 11-12.

6. Лебедев А.В., Иванова М.В., Красновид Н.И. и др. Кислотные свойства и взаимодействие с супероксид анион-радикалом эхинохрома А и его структурных аналогов // Вопросы медицинской химии. - 1999. - Т. 45, №2. - С. 123-130.

7. Лебедько О.А., Рыжавский Б.Я. Влияние введения нитрата свинца беременным крысам на легкие их потомства // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 2004. - Т. 139, №6. - С.621-623.

8. Лебедько О.А., Гусева О.Е., Козлов В.К. Нарушения оксидативного метаболизма при хронических бронхообструктивных заболеваниях легких у детей // Бюл. физиол. и патол. дыхания СО РАМН. - 2007. - Вып. 27. - С. 12, 13.

9. Михайлов В.М., Козлов В.К. Психическое и физическое здоровье детей и подростков Приамурья на рубеже XXI века. - Хабаровск, 2000. - 119 с.

10. Мищенко Н.П., Федорев С.А., Багирова В.Л. Новый оригинальный отечественный препарат «Гистохром» // Хим.-фармацевт. журн. - 2003. - Т. 37. - С. 49-53.

11. Мищенко Н.П., Федорев С.А., Догадова Л.П. Препарат «Гистохром» для офтальмологии // Вестник ДВО РАН. - 2004. - №3. - С. 111-119.

12. Приезжева Е.Ю., Лебедько О.А., Рыжавский Б.Я. и др. Влияние введения нитрата свинца беременным крысам на почки их потомства // Дальневост. мед. журнал. - 2007. - №3. - С. 30-32.

13. Стоник В.А., Гусев Е.И., Мартынов М.Ю. и др. Поиск веществ для лечения геморрагического инсульта

та. Использование магнитно-резонансной томографии в оценке эффективности гистохрома // Доклады Академии наук. - 2005. - Т. 405, № 5. - С. 696-698.

14. Lebedev A.V., Ivanova M.V., Levitsky D.O. Iron chelators and free radical scavengers in naturally occurring polyhydroxylated 1,4-naphthoquinones // Hemoglobin. - 2008. - Vol. 32, №1. - P. 165-179.

15. Lebedev A.V., Ivanova M.V., Levitsky D.O. Echinochrome, a naturally occurring iron chelator and free radical scavenger in artificial and natural membrane systems // Life Sci. - 2005. - Vol. 76, №8. - P. 863-875.

Координаты для связи с авторами: Козлов В.К. — e-mail: zdorovye@mail.redcom.ru



УДК 612.015.11 : 616.24 - 002.2-06] - 053.2

О.Е. Гусева, О.А. Лебедько, В.К. Козлов

ОСОБЕННОСТИ БИОГЕНЕЗА СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ НА ФОНЕ ДЕФЕКТОВ ОРГАНОГЕНЕЗА РЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ

*Институт охраны материнства и детства СО РАМН,
680022, ул. Воронежская, 49, кор. 1, тел.: 8(4212)-98-05-91, г. Хабаровск*

Болезни органов дыхания стабильно занимают в России, в том числе в Дальневосточном федеральном округе, первое место в структуре общей заболеваемости детей и подростков [4], значительный удельный вес среди них составляют хронические воспалительные заболевания легких (ХВЗЛ). В 5-20% случаев ХВЗЛ формируются на фоне пороков развития легких, принимая при этом тяжелый, непрерывно рецидивирующий характер течения [3, 6]. По мнению [5], в основе прогрессивности данного вида патологии лежат недостаточно изученные биологические дефекты основополагающих механизмов саногенеза, что диктует необходимость углубленного изучения механизмов сигнальной трансдукции, опосредующих персистирующее течение заболевания.

Известно, что в качестве мессенджеров межклеточной и внутриклеточной сигнализации радикальные дериваты кислорода регулируют морфогенез органов дыхания, обеспечивая реализацию антагонистических процессов детерминации, пролиферации, дифференцировки, редукции и интеграции [9, 13]. Кроме того, свободные радикалы или непосредственно, или через формирование продуктов липидной пероксидации, активируя редокс-чувствительные факторы транскрипции и каскады стресс-киназ, являются триггерами воспалительных процессов в респираторной системе [12]. Тем не менее, данных о процессинге свободных радикалов при ХВЗЛ на фоне дефектов органогенеза у детей нами в доступной литературе не обнаружено.

Целью настоящей работы явилась оценка биогенеза свободных радикалов в сыворотке крови и мембранах эритроцитов у детей в периоды обострения и ремиссии ХВЗЛ на фоне дефектов органогенеза респираторной системы.

Материалы и методы

На базе клиники НИИ охраны материнства и детства было проведено исследование, в которое были включены 43 пациента 12-17 лет с ХВЗЛ в периоды обострения по бронхитическому типу и клинико-лабораторной ремиссии на фоне пороков развития легких. Контрольную группу составили 23 ребенка I и II группы здоровья. Анализируемые группы были сопоставимы по возрастному-половому составу. Диагноз ХВЗЛ установлен на основании комплексного клинического обследования по дифференциально-диагностическому алгоритму, включая трансторакальную биопсию с морфологическим исследованием биоптатов легких. В 100% подтвержден порок развития легких (гипо- и дисплазия легких).

Забор крови у детей обеих групп для исследования свободнорадикального статуса осуществлялся натощак, в утренние часы. Для интегральной оценки процессов биогенеза свободных радикалов в сыворотке крови и мембранах эритроцитов использовали метод хемилюминесценции (ХЛ). Регистрацию ХЛ осуществляли на люминесцентном спектрометре LS 50B «PERKIN ELMER» по методикам [1, 2, 7]. При исследовании спонтанной и индуцированной Fe^{2+} ХЛ определяли: S-sp как светосумму за 1 мин спонтанной ХЛ, величина которой коррелирует с интенсивностью генерации свободных радикалов; Sind-1 как светосумму за 2 мин Fe^{2+} -индуцированной ХЛ, величина которой отражает интенсивность накопления перекисных радикалов. Определяли Sluc — светосумму за 1 мин люцигенин-зависимой ХЛ, величина которой прямо коррелирует с содержанием супероксиданион-радикала. Кинетику ХЛ, инициированную H_2O_2 в присутствии люминола, анализировали по параметрам: S-lum — светосумме за 1 мин люминол-зависимой ХЛ, вели-