

УДК 616.127-005.8-085.84-092.9:612.017.1

ВЛИЯНИЕ ТЭС-ТЕРАПИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА У КРЫС

¹Апсальямова С.О., ¹Каде А.Х., ¹Колесникова Н.В., ¹Занин С.А.,

²Лебедев В.П., ¹Вчерашнюк С.П., ¹Туровая А.Ю.

¹ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет Минздрава Российской Федерации», Краснодар, e-mail: zanin77@mail.ru;

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Центр Транскраниальной электростимуляции, Санкт-Петербург

Использована транскраниальная электростимуляция (ТЭС-терапия) для коррекции дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов при экспериментальном инфаркте миокарда. Многими исследователями показано усиление выработки опиоидных пептидов (эндорфинов и энкефалинов) при ТЭС-терапии. Исследования проведены на 50 крысах, которые были разделены на 5 групп – группы контроля, ложнооперированных животных и 3 группы с моделью инфаркта миокарда без ТЭС терапии и с ТЭС-терапией. Во всех группах животных изучали уровень интерлейкина 1, 6, 10 (ИЛ-1, -6, -10) и фактора некроза опухоли α (ФНО- α). Показано, что наблюдаемый при экспериментальном инфаркте дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов при проведении ТЭС-терапии (перед моделированием и после моделирования инфаркта миокарда) оказывает выраженный противовоспалительный эффект.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, ТЭС-терапия, цитокины

INFLUENCE OF TES-THERAPY ON INDICATORS PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES AT AN EXPERIMENTAL HEART ATTACK OF A MYOCARDIUM AT RATS

¹Apsalyamova S.O., ¹Kade A.K., ¹Kolesnikova N.V., ¹Zanin S.A., ²Lebedev V.P.,

¹Vcherachnyuk S.P., ¹Turovaya A.Y.

¹Kuban state medical university of the Ministry of Health Care and Social Development of the Russian Federation, Krasnodar, e-mail: zanin77@mail.ru;

²Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences Electrostimulation center Transcranial, St.-Petersburg

Transcranial electrostimulation (TES-THERAPY) for imbalance correction about – and anti-inflammatory cytokines is used at an experimental myocardial infarction. Many researchers showed strengthening of production of opioids peptides (endorphins and enkephalis) at TES-THERAPY. Researches are conducted on 50 rats who were divided into 5 groups – groups of control, false operate animals and 3 groups with myocardial infarction model without TES-THERAPY and with TES-THERAPY. In all groups of animals studied level of Interlaken 1, 6, 10 (IL-1,-6,-10) and a tumor necrosis factor α (TNF- α). It is shown that the imbalance observed at an experimental heart attack about – and anti-inflammatory cytokines when carrying out TES-THERAPY (before modeling and after myocardial infarction modeling) renders the expressed anti-inflammatory effect.

Keywords: heart attack, TES-THERAPY, cytokines

Болезни сердечно-сосудистой системы, в том числе инфаркт миокарда (ИМ), являются одной из основных причин инвалидизации и смерти во всех экономически развитых странах, в том числе и в России. ИМ может закончиться выздоровлением без какой-либо медицинской помощи и, наоборот, привести к смерти, несмотря на все усилия медперсонала [10]. Его грозный характер течения и поиск возможностей снизить высокую летальность придают значение знанию о патогенезе ИМ особую актуальность.

Основным методом лечения ИМ является терапевтический [9]. Говоря об этом способе лечения, необходимо обратить внимание на то, что из года в год появляются новые препараты для лечения ИМ, но высо-

кая стоимость делает их недоступными для средних слоев населения.

Учитывая вышесказанное, актуальность разработки новых доступных методов лечения ИМ не вызывает сомнений.

Метод ТЭС-терапии предложен профессором В.П. Лебедевым и соавт. в 1983 году. В его основе лежит активация опиоидергических структур головного мозга. ТЭС-терапия обладает многообразием эффектов, общей направленностью которых является нормализация гомеостаза. Все эффекты этого метода по механизму действия делят на 2 типа: центральные (обезболивание, стабилизация гемодинамики, купирование алкогольного абстинентного синдрома) [3, 5, 6, 7] и периферические (замедление

роста перевиваемых опухолей, модуляция динамики острофазового ответа при воспалении, ускорение заживления кожных ран, язвенных дефектов слизистой оболочки желудка, очага некроза при инфаркте миокарда) [1, 4, 7]. Перечисленные эффекты в значительной мере обусловлены возрастанием в крови концентрации β -эндорфина, который выделяется активированными структурами антиноцицептивной системы [7, 12].

Приоритетность лечения ИМ с использованием ТЭС подтверждена Авторским свидетельством СССР № 1507404, 1989 год [1]. Изучено влияние ТЭС-терапии на процессы репарации у больных ИМ, а также доказано, что происходит ускорение формирования постинфарктного рубца и развитие компенсаторной гипертрофии внеинфарктных отделов миокарда, уменьшается число случаев появления хронической сердечной недостаточности и число рецидивов ангинозных болей, улучшается общее состояние гемодинамики [1].

Эти данные говорят о том, что использование метода ТЭС-терапии для лечения больных ИМ лишен основных недостатков используемых в настоящее время методов лечения (дороговизна, труднодоступность, низкая эффективность).

Цель. Оценить влияние ТЭС-терапии на уровень про- и противовоспалительных цитокинов у крыс при моделировании инфаркта миокарда.

Материалы и методы исследования

В экспериментах использовали 50 здоровых белых нелинейных крыс-самцов, средний возраст которых колебался от 9 месяцев до 1 года, средней массой 200 ± 50 граммов. Исследуемые животные содержались в виварии в соответствии с «Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально – биологических помещений (вивариев)», утвержденными МЗ СССР 06.04.73 г. и приказом МЗ СССР № 163 от 10.03.66 г. В экспериментах использовали общий наркоз смесью хлоралозы (50 мг/кг внутривенно) и ксиланита (5 мг/кг внутривенно).

Материалом для исследования служила венозная кровь из нижней полой вены, стабилизированная гепарином. В работе был изучен уровень про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО- α) у животных пяти исследуемых групп.

Все эксперименты были разделены на 5 групп: I группа животных ($n = 10$) – контрольная группа: у интактных крыс производился забор крови на исследуемые показатели крови из нижней полой вены. II группа животных ($n = 10$) – ложнопериованные крысы: животные, которым под наркозом производили торакотомию и вскрытие перикарда, но не моделировали ИМ, затем через 2 часа производили забор крови из нижней полой вены на исследование показателей цитокинового статуса. III группа животных ($n = 10$) – животные с моделированием ИМ: живот-

ные, которым после наркоза с последующей торакотомией вскрывали перикард и моделировали ИМ посредством перевязки левой коронарной артерии (ЛКА). Через 2 часа брали кровь из нижней полой вены на показатели цитокинового статуса. IV группа животных ($n = 10$) – животные с моделированием ИМ и проведением ТЭС-терапии: животные, которым после наркоза с последующей торакотомией вскрывали перикард и моделировали ИМ посредством перевязки ЛКА, а далее проводили сеанс ТЭС-терапии. Показатели цитокинового статуса изучались через 2 часа после сеанса. V группа животных ($n = 10$) – животные с предварительной ТЭС-терапией и последующим моделированием ИМ: группа животных, которым за 2 часа до моделирования ИМ посредством перевязки ЛКА проводили сеанс ТЭС-терапии. Показатели цитокинового статуса изучались через 2 часа после моделирования ИМ.

Моделирование ИМ проводилось в условиях острого опыта по методике Е.С. Шахбазяна, 1940 г. в авторской модификации. У крыс после проведения трахеостомии и подключения аппарата искусственной вентиляции лёгких «Вита-1» проводилась парастеральная торакотомия. После вскрытия перикарда и извлечения сердца из грудной полости определяли локализацию ЛКА, под которую с помощью атрауматической иглы подводили полипропиленовую лигатуру и производили перевязку. Перевязку ЛКА проводили без последующей реперфузии. Таким образом моделировали стойкое нарушение кровообращения в области снабжения кровью из ЛКА. ИВЛ животного проводилась через клапанное устройство [11], исключающее значительное возрастание мертвого пространства.

Летальность фиксировалась по окончании создания каждой экспериментальной модели. Животных умерщвляли, соблюдая правила проведения работ с использованием экспериментальных животных (приказ «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», утвержденный МЗ СССР г. Москва. № 755, от 12 августа 1977).

У всех экспериментальных животных регистрировали ЭКГ до операции, через 30 минут после получения модели ИМ, через 2 часа после операции, после проведения сеанса ТЭС-терапии. Для регистрации использовали портативный электрокардиограф ЭК 1Т-04 II («Аксион», Россия). Оценку ЭКГ проводили во II стандартном отведении.

Экспериментальным животным ТЭС-терапия проводилась модифицированным двухпрограммным электростимулятором «ТРАНСАИР-1» в анальгетическом режиме в IV группе через 2 часа от создания экспериментальной модели ИМ по вышеописанной методике и в V группе за 2 часа до создания модели ИМ. Параметры транскраниальной электростимуляции для крыс: частота 70 ± 2 Гц, длительность импульса $3,75 \pm 0,25$ мс, величина суммарного тока $0,6-2,5$ мА [2].

Расположение подкожных игольчатых электродов фронто-мастоидальное (два катода помещены на лоб в надбровных областях, двоянный анод – позади ушных раковин). Длительность сеанса во всех случаях составляла 45 минут.

Кровь брали из нижней полой вены животного в количестве 3 мл спустя 2 часа после эксперимента (кроме I контрольной группы). Три миллилитра крови вводили в чистую пробирку и немедленно центрифугировали со скоростью 1500 оборотов в минуту

в течение 10–15 минут. Полученную сыворотку крови помещали в эпиндорфы и замораживали при температуре – 20°C.

Полученные данные подвергали статистической обработке методами непараметрической статистики на компьютере с использованием программного обеспечения «Statistika 6.0 for Windows» фирмы «Stat Soft, Inc.» и «Microsoft Office Excel 2003». Полученные результаты исследуемых групп после статистической обработки выражали в виде средних значений (M) и ошибки среднего (m). Сравнение выборок проводилось по непараметрическому критерию Манна-Уитни и Колмогорова–Смирнова с установлением уровня значимости * $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования представлены в таблице. ИЛ-1 достоверно повышался в группе ложнооперированных животных по отношению к группе контроля. Это повышение связано с активацией вновь синтезируемых медиаторов воспаления, к которым относятся цитокины. Его содержание достоверно увеличивалось и в группе крыс с ОИМ. Уровень этого цитокина возрастал

в 10 раз по сравнению с контролем и 2,5 раза по сравнению с группой ложнооперированных животных. При сравнении групп животных ОИМ+ТЭС (IV группа) и ТЭС+ОИМ (V группа) с ОИМ (III группа) выявлено достоверное снижение уровня этого показателя. Однако в группе животных ОИМ+ТЭС (IV группа) содержание ИЛ-1 приходило к норме, а в группе ТЭС+ОИМ (V группа) имело тенденцию к снижению. Таким образом, проведение ТЭС-терапии после моделирования ОИМ и перед моделированием патологии оказывает выраженный противовоспалительный эффект.

Изменения содержания ИЛ-6 были аналогичны изменениям ИЛ-1. Так, во II и IV группе его уровень достоверно увеличивался по отношению к контролю и достоверно снижался в IV и V группах по отношению к III группе (таблица).

Содержание ФНО-α достоверно возрастало в группе животных с ОИМ (III группа) по отношению к контрольной группе. В IV и V группах оно приближалось к норме в отличие от животных III группы (см. таблицу).

Динамика содержания цитокинов в различных экспериментальных группах животных

Маркеры \ Группы	ИЛ-1	ФНО-α	ИЛ-6	ИЛ-10
Контрольная	6,8 ± 1,60	5,00 ± 0,32	1,20 ± 0,37	6,03 ± 0,51
Ложнооперированные животные	29,34 ± 3,16*	12,97 ± 4,07	3,23 ± 0,46*	13,22 ± 1,13
Моделирование острого инфаркта миокарда	68,37 ± 4,56*	17,67 ± 4,06*	3,00 ± 0,94*	1,78 ± 0,56*
Моделирование острого инфаркта миокарда +проведение ТЭС-терапии	6,12 ± 2,12**	5,53 ± 0,88**	1,50 ± 0,69**	17,46 ± 2,73* 17,46 ± 2,73**
Проведение ТЭС-терапии+ моделирование острого инфаркта миокарда	9,17 ± 3,27**	6,92 ± 0,98**	1,62 ± 0,49**	14,70 ± 2,08* 14,70 ± 2,08**

Примечание: * – достоверно по отношению к контрольной группе, ** – достоверно по отношению к группе с моделированием инфаркта миокарда.

При моделировании ИМ (III группа) содержание ИЛ-10 достоверно снижается по сравнению с контролем, что свидетельствует о выраженности воспалительного ответа. А в группах IV и V уровень этого показателя достоверно возрастает и по отношению к контролю, и по отношению к животным с ИМ (III группа). Это свидетельствует о гомеостатической направленности ТЭС-терапии.

Выводы

1. Применение ТЭС-терапии при моделировании острого инфаркта миокарда приводит достоверному снижению уровня провоспалительных (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО-α) и росту противовоспалительных (ИЛ-10) цитокинов.

2. Использование ТЭС-терапии показано в комплексном лечении ИМ (при отсутствии противопоказаний для ее применения), особенно на ранних стадиях развития инфаркта миокарда.

Список литературы

1. Способ лечения больных с острым инфарктом миокарда / А.П. Голиков, В.А. Рябинин, В.П. Лебедев [и др.]. – А. с. СССР, 1989. – № 1507404.
2. Влияние транскраниальной электростимуляции на репаративные процессы у больных инфарктом миокарда / А.П. Голиков [и др.] // Кардиология. – 1989. – Т. 29. – № 12. – С. 45–48.
3. Лечение алкогольного абстинентного синдрома с помощью транскраниального электрического воздействия / А.Я. Гриненко [и др.] // Вопр. наркологии. – 1988. – № 3. – С. 27–30.
4. Транскраниальная электростимуляция опиоидных структур мозга при лечении язвенной болезни желудка

и двенадцатиперстной кишки: репаративный эффект и изменение содержания β -эндорфинов и гастрин плазмы / Ю.Д. Зильбер [и др.] // Физиология пептидов : тез. докл. симп. – Л., 1988. – С. 75–76.

5. Кацнельсон Я.С. Оценка эффективности нового метода транскраниальной электроанальгезии в клинической анестезиологии / Я.С. Кацнельсон, В.А. Леоско // Новый метод транскраниального обезболивания: тез. докл. науч. конф. – Л., 1987. – С. 20–22.

6. Использование транскраниального электрического воздействия для купирования патологического влечения к алкоголю / Е. М. Крупицкий [и др.]; под ред. Д.П. Дворецкого // Транскраниальная электростимуляция: эксперим.-клинич. исслед. – СПб., 1998. – С. 510–515.

7. Лебедев В.П. Участие опиоидных и других медиаторных механизмов в регуляторных функциях антиноцицептивной системы мозга при ее транскраниальной активации // 15 съезд Всесоюз. физиол. о-ва им. И.П.Павлова: тез. докл. – Кишинев, 1986. – Т. 1. – С. 162–163.

8. Опиоидная природа транскраниальной электроанальгезии / В.П. Лебедев [и др.] // Физиология пептидов: тез. докл. симп. – Л., 1988. – С. 112–113.

9. Рагова Л.Г., Чазова И.Е. Все ли ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента одинаковы? Фокус на зофеноприл // Системные гипертензии. – 2009. – № 3. – С. 4–7.

10. Сыркин, А. Л. Инфаркт миокарда. – 3-е изд. переб. и доп. – М.: Мед. информ. агентство, 2003. – 466 с.

11. Шейх-Заде Ю.Р. Клапанное устройство для искусственной вентиляции легких у лабораторных животных. – А. с. СССР, МКИ4, 1985. – № 1507404.

12. Joy M.L.G. Low frequency current density imaging in rabbits / M.L.G. Joy, V.P. Lebedev // Ann. of Biomed. Engin. – 1993. – Vol. 21, suppl. 1. – P. 56.

References

1. Golikov A.P. Sposob lechenija bol'nyh s ostrym infarktom miokarda / A.P. Golikov, V.A. Rjabinin, V.P. Lebedev [i dr.]. A. s. SSSR, 1989. no. 1507404.

2. Golikov A.P. Vlijanie transkraniial'noj jelektrostimuljacija na reparativnye processy u bol'nyh infarktom miokarda / A.P. Golikov [i dr.] // Kardiologija. 1989. T. 29. no. 12. pp. 45–48.

3. Grinenko A.Ja. Lechenie alkohol'nogo abstinentnogo sindroma s pomoshh'ju transkraniial'ного jelektricheskogo vozdejstvija / A.Ja. Grinenko [i dr.] // Vopr. narkologii. 1988. no. 3. pp. 27–30.

4. Zil'ber Ju. D. Transkraniial'naja jelektrostimuljacija opioidnyh struktur mozga pri lechenii jazvennoj bolezni zheludka i dvenadcatiperstnoj kishki: reparacionnyj jeffekt i izmenenie soderzhaniija β -jendorfinov i gastrina plazmy / Ju. D. Zil'ber [i dr.] // Fiziologija peptidov : tez. dokl. simp. L., 1988. pp. 75–76.

5. Kacnel'son, Ja.S. Ocenka jeffektivnosti novogo metoda transkraniial'noj jelektroanal'gezii v klinicheskoy anesteziologii / Ja.S. Kacnel'son, V.A. Leosko // Novyj metod transkraniial'nogo obezbolivaniija: tez. dokl. nauch. konf. L., 1987. pp. 20–22.

6. Krupickij E.M. Ispol'zovanie transkraniial'nogo jelektricheskogo vozdejstvija dlja kupirovaniija patologicheskogo vlechenija k alkogolju / E. M. Krupickij [i dr.] // Dvoreckij D.P. [red.] Transkraniial'naja jelektrostimuljacija: jeksperim.-klinich. issled. SPb., 1998. pp. 510–515.

7. Lebedev V.P. Uchastie opioidnyh i drugih mediatornyh mehanizmov v reguljatornyh funkciijah antinocipektivnoj sistemy mozga pri ee transkraniial'noj aktivacii // 15 s#ezd Vsesojuzn. fiziol. o-va im. I.P. Pavlova: tez. dokl. Kishinev, 1986. T. 1. pp. 162–163.

8. Lebedev V.P. Opioidnaja priroda transkraniial'noj jelektroanal'gezii / V.P. Lebedev [i dr.] // Fiziologija peptidov: tez. dokl. simp. L., 1988. pp. 112–113.

9. Ratova L.G., Chazova I.E. Vse li ingibitory angiotenzinprevrashhajushhego fermenta odinakovy? Fokus na zofenopril // Sistemnye gipertenzii. no. 3. 2009. pp. 4–7.

10. Syrkin, A.L. Infarkt miokarda. 3-e izd. pereb. i dop. M.: Med. inform. agentstvo, 2003. 466 p.

11. Shejh-Zade Ju.R. Klapannoe ustrojstvo dlja iskusstvennoj ventiljicii legkih u laboratornyh zhiivotnyh / Ju.R. Shejh-Zade. A. s. SSSR, MKI4, 1985. no. 1507404.

12. Joy M.L. G. Low frequency current density imaging in rabbits / M.L.G. Joy, V.P. Lebedev // Ann. of Biomed. Engin. 1993. Vol. 21, suppl. 1. pp. 56.

Рецензенты:

Быков И.М., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и клинической биохимии, ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар;

Елисеева Л.Н., д.м.н., профессор, главный внештатный терапевт ДЗ КК, зав. кафедрой, ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар.

Работа поступила в редакцию 08.04.2013.