

№4 (41), 2012 г.

ВЕСТНИК УРАЛЬСКОЙ МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИЧЕСКОЙ НАУКИ

Главный редактор:

В.А. Черешнев, академик РАН и РАМН (г. Екатеринбург)

Заместители главного редактора:

В.Г. Климин, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); С.М. Кутепов, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург);
Б.Г. Юшков, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург)

Ответственный секретарь:

С.Л. Леонтьев, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург)

Редакционная коллегия:

Н.А. Агаджанян, академик РАМН (г. Москва); Ф.И. Бадаев, д.м.н. (г. Екатеринбург);
А.Б. Блохин, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); В.Н. Большаков, академик РАН (г. Екатеринбург);
О.В. Бухарин, академик РАН и РАМН (г. Оренбург); А.М. Дыгай, академик РАМН (г. Томск);
В.Н. Журавлев, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург);
Н.В. Зайцева, член-корреспондент РАМН (г. Пермь); Ю.М. Захаров, академик РАМН (г. Челябинск);
О.П. Ковтун, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); Новицкий В.В., академик РАМН (г. Томск);
М.И. Прудков, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург);
И.М. Рощевская, член-корреспондент РАН (г. Сыктывкар); К.В. Судаков, академик РАМН (г. Москва);
Р.М. Хаитов, академик РАМН (г. Москва); М.В. Черешнева, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург);
В.И. Шевцов, член-корреспондент РАМН (г. Курган);
А.П. Ястребов, член-корреспондент РАМН (г. Екатеринбург)

Редакционный совет:

Я.Б. Бейкин, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); А.А. Белкин, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург);
С.А. Берзин, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); Ф.Х. Камилов, д.м.н., профессор (г. Уфа);
Б.А. Кацнельсон, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); Л.А. Ковальчук, д.б.н. (г. Екатеринбург);
С.А. Коротких, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); С.В. Кузьмин, д.м.н. (г. Екатеринбург);
Л.П. Ларионов, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург); Г.И. Ронь, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург);
С.В. Сазонов, д.м.н., профессор (г. Екатеринбург)

УДК 616.5: 577.175.19 : 612.015

Смирнов В.С., Саватеева-Любимова Т.Н., Саватеев А.В.
**ВЛИЯНИЕ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ, ГЛУТАМИЛ-ТРИПТОФАНА
И ИХ КОМБИНАЦИИ НА ЭКСПРЕССИЮ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА
ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ КОНТАКТНОМ ДЕРМАТИТЕ У КРЫС**

ЗАО МБНПК «Цитомед»; ФГБНУ Институт токсикологии ФМБА РФ, г. Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Исследовали влияние аппликаций мазевых препаратов глицирризиновой кислоты (GA), глутамил-триптофана (EW) и комбинации этих соединений (GAEW) на экспрессию маркеров апоптоза в очаге контактного аллергического дерматита (КАД), индуцированного аппликациями спиртово-ацетонового раствора 2,4-динитрохлорбензола (ДНХБ) в эксперименте на крысах. Показано, что аппликации ДНХБ сопровождалась формированием очага КАД, в котором отмечено увеличение экспрессии Ki, экспрессия других факторов (p-53, каспаза-3, BCL-2) была выражена меньше. При аппликации на очаг КАД крема, содержавшего EW, экспрессия Ki была ниже, чем в не леченном контроле, но выше, чем у интактных животных, экспрессия других факторов была близка к контролю (КАД). При аппликации GA экспрессия Ki снижалась, а p-53 и каспазы-3 увеличивались. Наибольший эффект наблюдали при одновременном применении обоих соединений в виде крема GAEW. Таким образом, активность исследованных препаратов распределялась по мере убывания следующим образом: GAEW > GA > EW.

Ключевые слова: глицирризиновая кислота, глутамил-триптофан, комбинации этих соединений, экспрессия маркеров, аллергический контактный дерматит, крысы.

В условиях непрерывного роста прессинга экзогенных ксенобиотиков на организм человека проблема аллергических контактных дерма-

титов становится все более актуальной. В связи с этим большое значение приобретает разработка средств и методов терапии данных, порой тяжелых и трудно поддающихся лечению, заболеваний. Одним из таких направлений является разработка комплексных средств противовоспалительной направленности, в частности, производных глицирризина [2] и коротких иммуномодулирующих пептидов [1,3]. Ожидается, что применение подобных соединений, особенно в виде топических форм, снизит интенсивность воспалительного процесса и ускорит темпы репарации повреждений эпидермиса.

Цель работы: оценить влияние глицирризиновой кислоты (GA) и глутамил-триптофана (EW), и комбинации указанных соединений (GAEW) в виде крема для наружного применения на экспрессию рецепторов апоптоза в очаге контактного аллергического дерматита (КАД), индуцированного аппликациями 2,4-динитрохлорбензола (ДНХБ).

Методы. Исследования проведены на крысах самцах. КАД индуцировали путем 2-кратных аппликаций 5% спиртово-ацетонового раствора ДНХБ на выстриженную кожу спины крыс в течение 4-х дней. По окончании аппликаций ДНХБ, животным одной группы на очаг КАД наносили GA, в другой группе применяли EW, в 3-й группе применяли GAEW – все препараты применяли в виде крема. Результаты сравнивали с данными, полученными на интактных животных – (интактные), животные с КАД, не получавших никакого лечения (КАД). Экспрессию мар-

Таблица

Влияние аппликаций GA, EW и GAEW на экспрессию биомаркеров апоптоза в коже крыс при контактном аллергическом дерматите (M±m)

Экспериментальные группы	Исследуемые показатели (M±m)			
	Ki-67	p-53	BCL-2	casp32 (caspase-3)
Поверхностный эпителий кожи				
Интактные	4.51 ± 0.31	1.22 ± 0.06	0	1.43 ± 0.41
КАД (контроль)	9.11 ± 0.52 ¹	3.22 ± 0.16 ¹	1.45 ± 0.07 ¹	2.88 ± 1.16
GAEW	4.20 ± 0.38	5.60 ± 0.25 ²⁴	0 ²⁴	5.25 ± 0.25 ¹
EW	5.30 ± 0.57	3.98 ± 0.19 ²	1.34 ± 0.07	3.54 ± 0.18 ¹
GA	8.50 ± 0.72	4.89 ± 0.22 ²	0 ²	4.54 ± 0.21 ¹
Эпителий придатков				
Интактные	5.32 ± 0.42	1.22 ± 0.06	0	1.85 ± 0.38
КАД (контроль)	28.30 ± 1.22 ¹	4.19 ± 0.21 ¹	2.21 ± 0.12 ¹	3.82 ± 0.19 ¹
GAEW	5.30 ± 0.42 ²³⁴	6.70 ± 0.31 ²⁴	0 ²⁴	6.26 ± 0.29 ¹²⁴
EW	24.20 ± 1.36 ²	4.91 ± 0.22 ²	2.10 ± 0.11	4.65 ± 0.21 ¹²
GA	15.00 ± 0.63 ²⁴	6.19 ± 0.25 ²	0*	5.85 ± 0.24 ^{#*}
Строма сосочкового слоя				
Интактные	4.31 ± 1.12	2.43 ± 0.37	0	2.15 ± 0.46
КАД (контроль)	32.10 ± 1.18 ¹	1.80 ± 0.09 ¹	2.70 ± 0.15 ¹	1.43 ± 0.07 ¹
GAEW	8.05 ± 0.49 ²³⁴	6.50 ± 0.30 ²³⁴	1.82 ± 0.09 ²³⁴	6.15 ± 0.28 ¹²³⁴
EW	31.80 ± 1.38 ²	2.62 ± 0.13 ²	2.58 ± 0.15	1.98 ± 0.09 ²
GA	27.00 ± 0.95 ²	3.51 ± 0.18 ²	2.23 ± 0.12 ²	3.12 ± 0.16 ¹²
Строма сетчатого слоя				
Интактные	3.89 ± 0.87	2.21 ± 0.25	0	1.38 ± 0.44
КАД (контроль)	29.70 ± 1.05 ¹	2.02 ± 0.10	2.49 ± 0.14 ¹	1.78 ± 0.09
GAEW	6.10 ± 0.38 ²³⁴	6.02 ± 0.28 ²³⁴	1.29 ± 0.06 ²³⁴	5.67 ± 0.25 ¹²³⁴
EW	29.90 ± 1.08	2.21 ± 0.11	2.36 ± 0.13	1.87 ± 0.10
GA	26.20 ± 0.91 ²	2.78 ± 0.14 ²	2.12 ± 0.11	2.47 ± 0.14 ¹²

Достоверность различий группы, получавшей GAEW: ¹ - от интактных животных; ² – от контроля (КАД); ³ - от GA; ⁴ - от EW; статистический порог достоверности p ≤ 0.05.

кером апоптоза определяли иммуногистохимическим методом в срезах кожи, на 14 день терапии полуколичественным методом в каждом компартменте кожи и выражали в относительных единицах. Группы обозначали аббревиатурами применявшихся соединений (GA, EW, GAEW). Результаты анализа обрабатывали методами вариационной статистики. Рассчитывали достоверность различий между результатами животных, которым применяли GAEW, и остальными группами.

Результаты. У животных с КАД, в клетках воспалительного ряда наблюдалось резкое увеличение экспрессии маркера клеточной пролиферации Ki-67, достигавшее максимума в сосочковом слое. Наряду с этим, наблюдали достоверное увеличение экспрессии белка p-53, каспазы 3 и антиапоптозного белка Bcl-2 достигавшее максимума в эпителии придатков кожи.

Аппликации крема, содержавшего EW, сопровождалась столь же значительным увеличением экспрессии Ki-65 (в 5,3–7,6 раза), максимум которого отмечен в строме сетчатого слоя. Экспрессия p-53, BCL-2 и каспазы-3 была увеличена до такого же уровня, как и в КАД, иначе говоря, EW при накожных аппликациях не изменял экспрессию указанных маркеров.

Экспрессия Ki-67 на фоне аппликаций GA была сопоставима с таковой у животных с КАД. Экспрессия p-53 и каспазы-3 также мало изменялась относительно КАД, что же касается экспрессии BCL-2, она была близка к таковой в группе интактных животных, особенно, в поверхностном эпителии и эпителии придатков кожи.

При аппликации крема, GAEW, наблюдалось снижение экспрессии маркера пролиферации Ki-67, по сравнению с контролем (КАД) в среднем в 2–3 раза.

Экспрессия p-53 и каспазы-3 на фоне GAEW увеличивалась во всех компартментах кожи в среднем в 1,6–3,5 раза. Отмечено также уменьшение экспрессии BCL-2, наиболее выраженное в поверхностном эпителии и эпителии придатков. В глубоких слоях экспрессия данного маркера была существенно снижена, причем это снижение было достоверным и по отношению к результатам, полученным в группах GA и EW.

Таким образом, исследованные препараты обладают выраженной способностью регулировать процессы апоптоза в очаге КАД. Активность исследованных препаратов распределялась следующим образом (по мере убывания): GAEW > GA > EW.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клиническая фармакология тимогена / ред. В.С. Смирнов. СПб: ФАРМИНдекс, 2004. 172 с.
2. Glycyrrhizin, the main active compound in liquorice, attenuates pro-inflammatory responses by interfering with membrane-dependent receptor signaling / B. Schröfelbauer, J. Raffetseder, M. Hauner, et al. // *Biochem. J.* 2009. Vol. 421. P. 473-482.
3. Effects of JBP485 on the expression and function of PEPT1 in indomethacin-induced intestinal injury in rats and damage in Caco-2 cells / W. Wang, Q. Liu, C. Wang, et al. // *Peptides*. 2011. Vol. 32. P. 946-955.

Smirnov V.S., Savateeva-Lyubimova T.N.,
Savateev A.V.

EFFECT OF GLYCYRRHIZIC ACID, GLUTAMYL-TRYPTOPHAN AND THEIR COMBINATION ON THE EXPRESSION OF MARKERS OF APOPTOSIS AT ALLERGIC CONTACT DERMATITIS IN RATS

Abstract. Investigated the effect of applications of ointment glycyrrhizic acid (GA), glutamyl-tryptophan (EW), and combinations of these compounds (GAEW) on the expression of apoptotic markers in the source of contact allergic dermatitis (CAD) applications of induced ethanol-acetone solution at 2,4-dinitrochlorobenzene (DNHB) experiments on rats. It is shown that the application of DNHB formed of CAD lesion, which was an increase in expression of Ki, and the expression of other factors (P-53, cusp-of-3, BCL-2) was less pronounced. For application to the skin lesion the cream containing EW, expression of Ki was lower than in untreated rats, but higher than in intact of animals, the expression of other factors was similar to control. In GA applications of express Ki decreased, and expression of P-53 and caspase-3 was increased. The greatest effect was observed with simultaneous application of both compounds in the form of a cream. Thus, the activity of the investigated drugs was distributed in descending order as follows: GAEW > GA > EW.

Key words: glitsirizinovy acid, glutamil-triptofan, combinations of these connections, expression of markers, allergic contact dermatitis, rats.

Авторская справка

Смирнов Вячеслав Сергеевич
ЗАО МБНПК «Цитомед», Санкт-Петербург, главный научный сотрудник, доктор медицинских наук, профессор
Россия, 191023, Санкт-Петербург, Мучной пер., д. 2.
e-mail: vsmirnov@cytomed.ru

Саватеева-Любимова Т.Н.

Саватеев А.В.

ФГБУН Институт токсикологии ФМБА РФ, Санкт-Петербург

Authors

Smirnov Vyacheslav Sergeyevich
JSC MBNPK «Tsitomed», St. Petersburg, main research associate, doctor of medical sciences, professor
Russia, 191023, St. Petersburg, Muchnoy Lane, 2.
e-mail: vsmirnov@cytomed.ru

Savateeva-Lyubimova T.N.

Savateev A.V.

FSISB IT FMBA RF, St-Petersburg

УДК 612.017.1:616.37-002.5-036.11

Смолягин А.И., Дёмин Д.Б., Фуныгин М.С.

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ МАССИВНОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА

ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ, г. Оренбург, Россия

Резюме. Проведена клинико-иммунологическая оценка содержания ФНО α , ИФН γ , ИЛ-4, ИЛ-10 у 44 пациентов острым панкреатитом (ОП), разделенных на 2 группы: стандартная терапия (I группа) – 14 больных и дополнительным введением аскорбиновой кислоты (АК) (II группа) – 30 больных. При применении высоких доз АК отмечено уменьшение уровня Th1- и Th2-цитокинов с более высоким индексом ИФН γ /ИЛ-10, что свидетельствует не только об антиоксидантном, но и иммуномодулирующем эффекте примененной при лечении ОП схемы.

Ключевые слова: острый панкреатит, цитокины, антиоксиданты.

Острый панкреатит (ОП) остается актуальной проблемой urgentной хирургии. Окончательно не выяснены механизмы прогрессии ОП, актуальны вопросы лечения данной патологии. Выраженная активация липопероксидации при ОП ведёт к быстрому истощению факторов антиоксидантной системы, прежде всего, аскорбиновой кислоты (АК), одного из ключевых антиоксидантов плазмы крови. Имеются единичные ра-

боты, касающиеся иммунных аспектов применения высоких доз АК в эксперименте и клинике.

Целью данной работы являлась оценка клинико-иммунологической эффективности высоких доз аскорбиновой кислоты при лечении пациентов ОП. Проведено обследование 44 пациентов с тяжёлым ОП, поступивших в сроки до 24 часов от начала заболевания, которые были разделены на 2 группы, сопоставимые по основным параметрам. Пациенты I группы (14 человек) получали стандартную терапию, а больные II группы (30 человек) дополнительно получали при поступлении и далее в течение 7 суток внутривенно капельно 2000 мг 5% раствора АК. У всех пациентов в сыворотке крови при поступлении до начала лечения, а также на 5, 10, 15 сутки наблюдения определяли содержание Th1- и Th2- цитокинов с использованием ИФА наборов «Цитокины». Контролем были уровни цитокинов в периферической крови 15 здоровых доноров. Для статистической обработки использовали t-критерий Стьюдента.