

М.А. Трещинская¹, Ю.И. Головченко¹, К.Н. Игрунова¹, Д.В. Ватлизов¹,
Т.М. Рябиченко¹, О.А. Ключникова¹, А.Ю. Гончар¹, И.В. Курочкин²

¹Национальная медицинская академия последиplomного образования имени П.Л. Шупика, Киев

²Киевская городская клиническая больница № 9

Патогенетически обоснованный подход к превентивной терапии при цереброваскулярной патологии

Введение

В последние десятилетия отмечается четкая тенденция к увеличению продолжительности жизни, что неизбежно повышает среди населения удельный вес лиц зрелого, пожилого и старческого возраста. В связи с этим возрастает актуальность профилактических мероприятий с целью продолжительного сохранения качества жизни и трудоспособности населения. В то же время сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются доминирующей причиной инвалидности и смерти населения в большинстве стран мира, в том числе на постсоветском пространстве: в Украине, Киргизии, России и т.д.

В последнее время все больше внимания уделяется целостности и функционированию эндотелия сосудов как основе кардиоваскулярного здоровья. Эндотелиальная функция находится под воздействием сосудистых факторов риска и отражает степень их повреждающего воздействия (Umans J.G., Levi R., 1995; Heitzer T. et al., 2001). При интактной физиологической функции эндотелия и сохраненных компенсаторных механизмах воздействие факторов риска не приводит к развитию сосудистого повреждения. Нарушение физиологической функции сосудистого эндотелия является ранним и независимым предиктором неблагоприятного исхода при большинстве форм ССЗ (Palmer R.M. et al., 1987; Surdacki A. et al., 1999; Cai H, Harrison D.G., 2000).

Известные факторы риска ССЗ индуцируют развитие эндотелиальной дисфункции (ЭД), которая является доклинической стадией морфологических изменений при атеросклерозе (Deanfield J. et al., 2005). ЭД выявляют у пациентов с традиционными факторами риска атеросклероза, в частности с гиперхолестеринемией, артериальной гипертензией (АГ), сахарным диабетом (СД) и приверженностью табакокурению, до клинической манифестации процесса (Perez-Vizcaino F. et al., 2006). Отметим, что очевидные признаки ЭД выявляют у пациентов с атеросклеротическим процессом различной локализации, а также с септическим шоком, застойной сердечной недостаточностью, легочной гипертензией и преэклампсией (Wu G., Morris S.M.Jr., 1998).

Имеющиеся данные подтверждают широкую распространенность ЭД среди населения пожилого возраста, патология развивается по мере старения даже при отсутствии других факторов риска или сосудистых заболеваний (Greager M.A., 1997; Wu G., Morris S.M.Jr., 2004). Иными словами, ЭД можно рассматривать в качестве первого проявления старения у здоровых людей. Полагают, что такая первичная чувствительность сосудистой стенки является «виновницей» повышения риска развития ССЗ по мере старения (Kearney-Schwartz A. et al., 2009). ЭД ассоциируется с возрастобусловленным снижением когнитивных функций (нарушением памяти) и физической активности (снижением активности в течение дня) (Ignarro L.J. et al., 1987; Wang J. et al., 1997). Кроме того, ЭД участвует в патогенезе многих заболеваний, таких как АГ, инсульт, эректильная дисфункция и почечная недостаточность, которые также ассоциируются с процессом старения (Brunner H. et al., 2005).

Нарушение функции эндотелия является прогностическим фактором развития ССЗ, а фармакологическая коррекция персистирующей ЭД может способствовать снижению риска или замедлению развития сосудистых заболеваний (Creager M.A. et al., 1990; Brunner H. et al., 2005).

Терапевтические вмешательства, которые благоприятно воздействуют на эндотелиальную функцию, улучшают клинические исходы (Rees D.D. et al., 1990). У пациентов с ЭД, по данным ряда исследований, выявляют более высокий уровень кардиоваскулярного риска, что дает основание полагать, что ЭД является маркером необходимости более агрессивной или комбинированной медикаментозной терапии с целью снижения риска развития ССЗ (Perez-Vizcaino F. et al., 2006; Heffernan K.S. et al., 2008). Наблюдение за эндотелиальной функцией в динамике в ответ на различные подходы в лечении может помочь титровать препараты и принимать решение о необходимости дополнительной терапии (Lerman A. et al., 1998).

Эндотелий сосудов представляет собой слой клеток на базальной мембране, которые обладают аутокринной, паракринной и эндокринной функциями (Celermajer D., 1997; Kearney-Schwartz A. et al., 2009). Эндотелий обеспечивает деликатный баланс контррегулирующих путей, вовлеченных в вазомоторные реакции, контролирующих пролиферацию клеток, процессы тромбообразования, воспаления и оксидативный стресс. Эндотелиальные клетки также вовлечены в процесс модулирования активности лейкоцитов и тромбоцитов, ингибируют адгезию лейкоцитов и диапедез, поддерживают непроницаемость сосудистого барьера для клеток крови и плазменных белков (Creager M.A. et al., 1990; Anderson T.J., 1999).

Оксид азота (NO), ранее известный как эндотелиальный фактор релаксации, вероятно, наиболее важная субстанция, продуцируемая сосудистым эндотелием для регуляции сосудистого тонуса (Palmer R.M. et al., 1988; Hukl. et al., 1997). NO образуется в эндотелии путем преобразования незаменимой аминокислоты L-аргинина в L-цитрулин при участии конституционального фермента эндотелиальной NO-синтазы (eNOS). eNOS локализуется в эндотелиальных клетках и отвечает за синтез базального уровня NO, за быстрые изменения уровня NO в ответ на физические (напряжение сдвига) и химические стимулы (брадикинин) (Lin C.C. et al., 2008). Только L-аргинин является субстратом eNOS для синтеза NO, но не только для NOS L-аргинин является субстратом (Moncada S., Higgs A., 1993; Morikawa E. et al., 1994). L-аргинин используется для синтеза белков, мочевины, креатина, вазопрессина и агматина (Widlansky M.E. et al., 2003). Таким образом, активация метаболизма L-аргинина альтернативными путями может быть одним из механизмов недостаточного синтеза NO, а следовательно и ЭД. Самым активным ферментом альтернативного пути метаболизма L-аргинина является аргиназа. L-аргинин, не метаболизирующийся с помощью аргиназы до орнитина, используется одним из 4 ферментов: NOS (до образования NO), аргинил-tRNA-синтетазой (до образования arginyl-tRNA, предшественника в синтезе белков), аргининдекарбоксилазой (до агматина), аргинин/глицинамидинотрансферазой (до креатина).

Есть данные, что окисленные ЛПНП повышают активность аргиназы и, соот-

ветственно, снижается продукция NO в эндотелиальных клетках аорты человека (Vanhouste P.M., 2008).

Также активность NOS ингибируется аналогами L-аргинина, в которых замещен атом азота, например NG-monomethyl-L-arginine или NG-nitro-L-arginine (Pritchard K.A. et al., 1995). Отметим, что блокирующее влияние этих молекул на NOS может быть преодолено излишком L-аргинина, что указывает на наличие конкуренции за фермент между L-аргином и его аналогами. Снижение активности eNOS доказано и при повышении концентрации в плазме крови ЛПНП; что также можно преодолеть путем дополнительного введения L-аргинина (Pritchard K.A. et al., 1995; Perticone F. et al., 2001). Эти данные указывают на то, что L-аргинин участвует в регуляции активности NOS в эндотелиальных клетках.

Путь L-аргинин-NO играет критическую роль в поддержании нормальной эндотелиальной функции, что отражается на оптимальном функционировании миокарда (Palmer R.M. et al., 1988), АД (Wang J. et al., 1997), сбалансированности воспалительного ответа (Moncada S., Higgs A., 1993), апоптозе (Brunner H. et al., 2005) и защите от оксидативного повреждения (Perticone F. et al., 2001). Ряд экспериментальных и клинических исследований показали, что введение субстрата для синтеза NO, L-аргинина, уменьшает проявления ЭД.

L-аргинин может потенцировать синтез NO и уменьшать выраженность проявлений ЭД за счет восстановления активности eNOS (Lin C.C. et al., 2008). L-аргинин препятствует окислению BH_4 — основного кофактора NOS. Также L-аргинин помогает преодолеть блокаду экспрессии eNOS, вызываемую эндогенными ингибиторами eNOS (асимметричный диметиларгинин-ADMA и L-NMMA), а также повышенную активность аргиназы при атеросклерозе (Suessenbacher A. et al., 2006). Кроме того, L-аргинин повышает биоактивность NO посредством прямой антиоксидантной активности, *in vivo* применение L-аргинина снижает уровень NOS-опосредованного супероксида (Böger R.H. et al., 1995; Huggins G.S. et al., 1998). L-аргинин, поступающий в виде соли гидрохлорной кислоты, может влиять на внутриклеточный pH, что улучшает транспорт Ca и активацию eNOS, способствует неферментному превращению нитрита в NO (Yavuz B.V. et al. (2008). Есть данные, что L-аргинин снижает концентрацию эндотелина-1, потенциально-го вазоконстриктора и важного модулятора ЭД (даже, возможно, более важного, чем NO) по мере старения (Kuvín J.T., Karas R.H., 2003).

L-аргинин показал многообещающие результаты как средство профилактики ЭД при остром стрессе. К примеру, курение и употребление жирной пищи являются достоверными причинами ухудшения эндотелиальной функции. Пероральное применение L-аргинина перед курением или употреблением жирной пищи предупреждает

вредное воздействие этих факторов на эндотелиальную функцию (Lerman A. et al., 1998; Lin C.C. et al., 2008).

Дозозависимая клиническая эффективность L-аргинина, по данным исследований на людях, заключается в том, что в невысоких концентрациях в плазме крови 80–800 мкмоль/л L-аргинин обладает селективным воздействием на эндотелиальную функцию (у пациентов с повышенным содержанием АДМА). При более высокой концентрации в плазме крови (800–8000 мкмоль/л) препарат оказывает прямое вазодилатирующее действие (вероятно, вследствие плейотропного эндокринного воздействия на синтез инсулина и гормона роста). В высоких концентрациях в плазме крови (>8000 мкмоль/л) L-аргинин и D-аргинин оказывают неспецифическое вазодилатирующее воздействие вследствие осмотического эффекта, ацидоза и воздействия на эндокринную систему (Wu G., Morris S.M.Jr., 2004).

Эффект L-аргинина в отношении ЭД не является универсальным феноменом. Действие препарата зависит от особенностей исследуемого участка артерии, наличия или отсутствия ЭД, морфологических изменений, наличия клинических проявлений ССЗ и достигаемой концентрации L-аргинина. Вероятно, такая стратегия могла бы быть наиболее эффективной на доклиническом этапе у пациентов с сосудистыми факторами риска (АГ, СД, курящих, особенно в сочетании с гиперхолестеринемией) (Vane J. et al., 1990).

Метарегрессивный анализ результатов исследований показал, что гетерогенность воздействия L-аргинина на ЭД (по оценке показателя потоказвисимой вазодилатации *a. brachialis* — ПЗВ) определяется базисным показателем ПЗВ, то есть наличием ЭД. Анализ по подгруппам выявил положительный эффект применения L-аргинина при значениях ПЗВ ниже базисной линии и отрицательным при значениях ПЗВ выше базисной линии. Данные свидетельствуют, что указанное вмешательство способствует лишь восстановлению эндотелиальной функции, но не ее улучшению. Статистическая обработка результатов выявила обратную зависимость между ПЗВ и степенью эффективности L-аргинина (Böger R.H. et al., 1998).

Взаимосвязь между сосудистыми факторами риска, ЭД, атеросклерозом и его осложнениями в виде ССЗ является основой для формирования стратегии терапии при поражении сосудов. Традиционное направление включает влияние на основные факторы риска, а именно контроль АД, гликемии, коррекцию дислипидемии, отказа от курения, ограничение употребления алкоголя, уменьшение избыточной массы тела. В то же время перспективным является направление, основанное на восстановлении баланса между продукцией и катаболизмом NO — терапия L-аргином может оказывать дополнительную защиту сосудов от повреждающих факторов риска.

Вместе с тем практически всегда повреждение эндотелия сопровождается процессом перекисного окисления липидов, что усугубляет дефицит эндогенного NO за счет его ускоренной деградации активными формами кислорода. Кроме того, взаимодействие NO с супероксидом (и другими кислородными радикалами) приводит не только к утрате вазодилатирующего потенциала NO, но и к образованию высокотоксичного пероксинитрита (ONOO⁻) (Биленко М.В. и соавт., 1999). Известно, что при высоких концентрациях пероксинитрит индуцирует апоптоз, а также блокирует синтез простаглицина, усиливая при этом продукцию тромбоксана и лейкотриенов (Биленко М.В. и соавт., 1999). Другими словами, ЭД и активация процесса апоптоза могут являться ключевыми звеньями сосудистого повреждения.

Апоптоз играет важную роль в реализации механизмов адаптации организма к воздействию внешней среды. Это генетически регулируемый процесс, участвующий в дифференцировке, морфогенезе, а также в поддержании клеточного гомеостаза.

В наиболее общей форме физиологическая целесообразность апоптоза (в сочетании с его альтернативой — пролиферацией) состоит в определении размеров и «архитектуры» организма:

- поддержание численности клеток в популяции на заданном уровне;
- определение этого уровня и его изменение под влиянием внешних (по отношению к клетке) сигналов вплоть до полной элиминации данного типа клеток;
- в обеспечении правильного соотношения численности клеток различных типов;
- селекция разновидностей клеток внутри популяции (в том числе элиминация клеток с генетическими дефектами).

На основании знаний о роли апоптоза в поддержании гомеостаза в организме можно предположить, что недостаточная активность апоптоза может отразиться на процессах морфогенеза, элиминации клеток с генетическими поломками, становлении аутоолерантности и проявляться в форме разного рода дефектов развития, аутоиммунных процессах и злокачественных опухолях. Отметим, что заболеваний, основой которых является усиление апоптоза клеток организма, не меньше. Наиболее выраженные формы такого рода нарушений, при которых в процесс апоптоза тотально вовлекаются клетки любых типов, обычно несовместимы с развитием плода и приводят к внутриутробной гибели. Наиболее распространенными вариантами патологии такого рода в сформировавшемся организме являются разного рода аплазии и дегенеративные процессы. Наиболее разнообразные их формы описаны в области патологии системы крови. Другим примером болезней, связанных с усилением апоптоза, являются заболевания нервной системы, вызываемые атрофией опреде-

ленных ее участков. Как правило, эта атрофия является следствием индукции апоптоза. К таким заболеваниям относятся боковой амиотрофический склероз, болезнь Альцгеймера, спинальная мышечная атрофия и другие заболевания нервной системы.

Существует ряд других состояний, при которых в реализации основного поражения решающая роль принадлежит апоптозу. Их примером может служить инфаркт миокарда (апоптоз является преобладающей формой гибели миоцитов в ранний период развития инфаркта), инсульт, токсический (в частности алкогольный) гепатит и т.д.

Увеличивается доля патологических процессов, в основе которых лежит усиление апоптоза, которое вызвано действием внешних апоптогенных факторов. На первом месте среди них находится ионизирующая радиация. Аналогичный эффект дают многие химиотерапевтические препараты, применяемые в терапии при опухолях, а также гормоны, прежде всего глюкокортикоиды, широко применяемые при различных заболеваниях. Источником апоптогенных факторов служит внешняя среда. Нормальное окружение человека практически не является источником апоптогенных воздействий, однако при формировании экологического неблагополучия во внешней среде накапливаются факторы, моделирующие или вызывающие активацию апоптоза.

Таким образом, сбалансированная коррекция процессов апоптоза в сочетании с защитой сосудистого эндотелия могут оказаться наиболее патогенетически обоснованным подходом на ранних этапах патологических процессов, чаще всего связанных с возрастом, наиболее ярким примером которых является хроническая сосудисто-мозговая недостаточность.

Поскольку сердечно-сосудистая, и в частности цереброваскулярная патология значительно снижают качество жизни людей с возрастом, на наш взгляд, профилактика состояний, развивающихся на фоне ЭД, является одним из наиболее перспективных направлений современной медицины. Считаю целесообразным изучение воздействия на процесс апоптоза препарата, благоприятно влияющего на эндотелиальную функцию (по данным литературы и наших собственных исследований).

Цель исследования — клинико-экспериментальная оценка влияния препарата Тивортин® (L-аргинин) («Юрия-Фарм», Украина) на сосудодвигательную функцию эндотелия и процесс апоптоза у пациентов с цереброваскулярной патологией на ранних стадиях развития процесса.

Объект и методы исследования

В исследование было включено 20 пациентов с начальными проявлениями хронической сосудисто-мозговой недостаточности (начальными проявлениями недостаточности мозгового кровообра-

щения (НПНМК) и дисциркуляторной энцефалопатией I стадии (ДЭП-1) согласно классификации Е.В. Шмидта) в возрасте от 40 до 63 лет (средний возраст — 53,8±6,2 года). Среди обследованных пациентов было 11 женщин и 9 мужчин. АГ I–II степени диагностирована у 18 (90%) обследованных пациентов.

Диагноз «начальные проявления недостаточности кровоснабжения головного мозга» устанавливают при наличии у пациента факторов риска сосудистого заболевания и не менее двух из следующих жалоб: головная боль, головокружение, шум в голове, нарушение памяти, снижение работоспособности, нарушение сна, которые отмечаются пациентом не менее 1 раза в неделю на протяжении 3 последних месяцев, при отсутствии признаков органического дефицита, а также отсутствии в анамнезе черепно-мозговой травмы, преобладающего нарушения мозгового кровообращения, инфекционных заболеваний головного мозга. В исследование не включали лиц, перенесших нарушения мозгового кровообращения, инфаркт миокарда, а также тяжелые соматические заболевания. Всем пациентам проводили ядерную магнитно-резонансную томографию (МРТ) головного мозга с целью исключения значимого повреждения головного мозга и, таким образом, подтверждения диагноза НПНМК и ДЭП-1.

Всем пациентам проводили общеклиническое и клинико-неврологическое обследование, на основании которых пациентов рандомизировали для исследования; клинико-лабораторные обследования позволяли исключить тяжелую соматическую патологию и помогли выявить сосудистые факторы риска (гипергликемия, дислипидемия и др.). Клинико-инструментальные методы обследования, помимо МРТ, включали дуплексное сканирование экстра- и интракраниальных сосудов головного мозга, с помощью которого диагностировали гемодинамически значимые стенозы и деформации сосудов головы и шеи, а также выявляли у пациентов атеросклеротические поражения сосудов головы.

Функциональное состояние эндотелия оценивали по величине прироста диаметра, или потокзависимой (эндотелийзависимой) вазодилатации (ЭЗВД), плечевой артерии с помощью теста реактивной гиперемии (Celermajer D.S. et al., 1993). Плечевую артерию визуализировали с помощью ультразвукового сканера «Siemens G-50» («Medical Inc.», США, 2002) с линейным датчиком с частотой 7 МГц. С помощью компрессионной манжеты блокировали кровоток в плечевой артерии на 5 мин, а затем вызывали быструю декомпрессию. В режиме двухмерного ультразвукового сканирования датчиком высокого разрешения определяли изменение диаметра плечевой артерии в ответ на увеличивающийся поток крови, что сопровождается повышением напряжения сдвига, активацией eNOS и выделением NO. Принято считать нормальной

реакцией плечевой артерии в пробе с реактивной гиперемией ее дилатацию на >10% исходного диаметра. Сосудистая реакция рассматривается как патологическая в случаях, когда прирост диаметра составляет <10% исходного уровня, либо при наличии вазоконстрикции.

У пациентов до и после курса лечения препаратом Тивортин® (в дозе 4 г/сут) проводили забор крови с целью изучения уровня нитрита и эндотелина-1 в качестве показателей сосудодвигательной активности эндотелия. Концентрацию эндотелина-1 определяли методом иммуноферментного анализа с помощью реактива «DRG Endotelin-1 ELISA» (США). Уровень нитрита (NO₂) определяли флуориметрическим методом с помощью реактива «Sigma-Aldrich» (США).

Всем пациентам до проводимого лечения проводили забор крови натощак с целью исследования показателей апоптоза без изменений и на фоне добавления *in vitro* препарата Тивортин® в расчетной дозе, аналогичной суточной дозе 4 и 8 г. Материалом для исследования служили мононуклеарные клетки (МНК) периферической крови, которые выделяли на градиенте плотности фиколл-урографин (d=1,077) в асептических условиях. В дальнейшем выделенные МНК помещали в инкубационную среду RPMI-1640 («Sigma», США) с добавлением 10% ЭТС («Sigma», США). Суспензию клеток делили на 6 равных порций в пробирки для инкубации, после чего добавляли в помеченные пробирки препарат в расчетных концентрациях. Затем в определенных пробирки добавляли индуктор в апоптоз-индуцирующей концентрации (в качестве индуктора апоптоза применяли глюкокортикоид дексаметазон). Инкубацию проводили в течение 18 ч при температуре 37 °С. После инкубации клетки отмывали и изучали уровень апоптоза с использованием набора «Annexin V-FITC Apoptosis detection Kit 1» («BD Bioscience Pharmingen», США), а также изменение митохондриального мембранного потенциала с использованием флуорохромов родамин 123 и пропидий йодид («Sigma», США) в каждой пробе. Исследования проводили на проточном цитометре PAS («Partec», Германия).

В дальнейшем рассчитывали индекс индукции апоптоза (ИИА), отражающий не только количество клеток, имеющих морфологические признаки апоптоза при микроскопическом исследовании ткани в качестве индекса апоптоза, но и функциональный резерв клеток, то есть степень стойкости к повреждающим агентам — как экзо-, так и эндогенного происхождения. Данный показатель позволяет оценить исходное состояние клеток иммунной системы с приближением лабораторных данных к клинической оценке состояния организма. Важным моментом явилась оценка ИИА на фоне L-аргинина в дозе, аналогичной внутривенному введению препарата Тивортин® 4 и 8 г/сут.

Все пациенты в ходе лечения, с включением по необходимости элементов,

направленных на коррекцию факторов риска, прежде всего АГ и дислипидемии, получали Тивортин® в течение 10 дней в дозе 100 мл (4 г/сут L-аргинина) внутривенно капельно.

Для статистического анализа данных применяли программу Statistica 6.0. Статистически значимую разницу между показателями оценивали при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Все пациенты до лечения предъявляли ряд жалоб на:

- головную боль ($n=16$ (80%)), чаще всего тупого характера, без четкой локализации, не связанную с повышением АД, возникающую при переутомлении, перемене погоды;
- головокружение ($n=9$ (45%)), как правило, несистемного характера, усиливающееся при перемене положения тела;
- шум в голове диффузного характера ($n=11$ (55%)), постоянный или переходящий по продолжительности;
- нарушение памяти ($n=18$ (90%)), связанное, преимущественно, с повышенной отвлекаемостью, трудностью фокусировки внимания, что приводило к снижению краткосрочной памяти, механической памяти, при сохранности логической памяти;
- нарушения сна ($n=6$ (30%)) — у обследованных пациентов чаще всего были обусловлены повышенной лабильностью, отмечены преимущественно у мужчин ($n=4$ (20%)).

После проведенного лечения (табл. 1) большинство пациентов отметили повышение работоспособности (17 (85%) человек из 20 до лечения), снижение интенсивности и частоты жалоб. Частота жалоб после курса L-аргинина изменилась следующим образом:

- головная боль — у 12 (60%) пациентов;
- головокружение — у 4 (20%) больных;
- шум в голове диффузного характера — у 17 (85%) обследованных;
- нарушение памяти (точнее, рассеянность) — у 7 (35%) пациентов;
- нарушения сна — у 3 (15%) обследованных.

Статистически значимое улучшение состояния наблюдали у пациентов, предъявляющих жалобы на шум в голове и нарушение концентрации внимания. Следует отметить, что препарат переносился хорошо, побочные явления при внутривенном введении не отмечены.

Данные оценки эндотелиальной функции, представленные в табл. 2, демонстрируют, что до лечения (оценку потокзависимой вазодилатации проводили до и после курса лечения L-аргинином) ЭД наблюдали у 18 (90%) пациентов, в то время как после лечения признаки ЭД выявляли лишь у 3 (15%) больных.

В табл. 3 представлены биохимические показатели сосудодвигательной функции эндотелия в динамике. Выявлено, что у пациентов с НГНМК и дисциркуляторной энцефалопатией I стадии уро-

вень нитритов и эндотелина-1 значимо выше, чем у относительно здоровых добровольцев ($n=7$).

Ключевым моментом исследования было выявление положительного влияния препарата Тивортин® на функциональный резерв МНК, причем в дозе 4 г/сут, но не 8 г/сут, что подтверждает гипотезу о дозозависимом эффекте и, в данном случае, регулирующем воздействии доз, приближающихся к суточной потребности в частично незаменимой аминокислоте (табл. 4).

Выводы

В ходе исследования выявлена положительная динамика в состоянии пациентов с начальными стадиями цереброваскулярной недостаточности, что проявилось в снижении частоты и уменьшении выраженности основных жалоб. Статистически значимо снизилась частота жалоб, которые характеризуют функциональное состояние центральной нервной системы (субъективное ощущение шума в голове, нарушение концентрации внимания и рассеянность).

На фоне лечения отмечена нормализация показателя распространенной эндотелиальной функции (ПЗД) — после терапии с применением L-аргинина количество больных с признаками ЭД уменьшилось с 18 до 3 пациентов.

Выявлено, что терапия L-аргинином оказывает благоприятное воздействие на уровень эндотелина-1 в плазме крови, поскольку после проведенного лечения показатель приблизился к таковому у здоровых лиц. Кроме того, отмечено снижение уровня нитрита в плазме крови, опосредованно отражающего метаболизм NO и в норме сохраняющего баланс с уровнем эндотелина-1. Таким образом, препарат оказывает регулирующее воздействие на ключевые биологически активные вещества, участвующие в регуляции сосудистого тонуса, в том числе церебральных сосудов.

Изучение функционального резерва клеток иммунной системы выявило статистически значимые отличия ИИА при применении препарата Тивортин® в дозе, аналогичной дозе L-аргинина 4 г/сут. Также продемонстрировано отсутствие статистически значимых различий в значениях спонтанного и индуцированного апоптоза, вместе с тем снижение уровня указанных показателей свидетельствует о дозозависимом эффекте и необходимости индивидуального подбора дозы препарата, поскольку в период исследования в 2 (10%) случаях увеличение функционального резерва наблюдали только после применения дозы, аналогичной дозе L-аргинина 8 г/сут. Таким образом, результаты исследования ИИА подтверждают потенциально протекторные свойства препарата относительно внешних проапоптогенных воздействий в определенной дозе. При этом абсолютные показатели спонтанного и индуцированного апоптоза диагностической значимости не прояв-

ляли, что указывает на регулируемую, сбалансированную направленность действия препарата. Отметим, что повышение дозы в 2 раза в абсолютном большинстве случаев не только не оказывает дополнительного положительного воздействия, но и приводит к нарушениям регуляции клеточной смерти, что указывает на необходимость индивидуального подхода в каждом клиническом случае.

Применение препарата Тивортин® в комплексе превентивного лечения у пациентов с сосудистыми факторами риска и признаками ЭД подтверждает его патогенетическую направленность терапевтического действия.

Список использованной литературы

- Биленко М.В., Ладькина М.В., Федосова С.В. (1999) Сравнительная оценка цитотоксического эффекта перекиси водорода и фактора некроза опухоли альфа на неишемизированные и ишемизированные эндотелиальные клетки. *Вопр. мед. химии*, 5: 2–7.
- Anderson T.J. (1999) Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 34(3): 631–638.
- Böger R.H., Bode-Böger S.M., Mugge A. et al. (1995) Supplementation of hypercholesterolaemic rabbits with L-arginine reduces the vascular release of superoxide anions and restores NO production. *Atherosclerosis*, 117(2): 273–284.
- Böger R.H., Bode-Böger S.M., Szuba A. et al. (1998) ADMA: a novel risk factor for endothelial dysfunction. Its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 98(18): 1842–1847.
- Brunner H., Cockcroft J.R., Deanfield J. et al. (2005) Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J. Hypertens.*, 23(2): 233–246.
- Cai H., Harrison D.G. (2000) Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ. Res.*, 87(10): 840–844.
- Celermajer D. (1997) Endothelial function: does it matter? Is it reversible? *J. Am. Coll. Cardiol.*, 30(2): 325–333.
- Celermajer D.S., Sorensen K.E., Georgakopoulos D. et al. (1993) Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation.*, 88(5 Pt. 1): 2149–2155.
- Creager M.A., Cooke J.P., Mendelsohn M.E. et al. (1990) Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J. Clin. Invest.*, 86(10): 228–234.
- Deanfield J., Donald A., Ferri C. et al. (2005) Endothelial function and dysfunction. Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J. Hypertens.*, 23(1): 7–17.
- Greager M.A. (1997) L-arginine in endothelial and vascular health. *J. Nutr. Suppl.*, 10: 2880–2887.
- Heffernan K.S., Vieira V.J., Valentine R.J. (2008) Microvascular function and ageing L-arginine, tetrahydrobiopterin and the search for the fountain of vascular youth. *J. Physiol.*, 586(8): 2041–2042.
- Heitzer T., Schlinzig T., Krohn K. et al. (2001) Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 104(22): 2673–2678.
- Huggins G.S., Pasternak R.C., Alpert N.M. et al. (1998) Effect of short term treatment of hyperlipidemia on coronary vasodilator function and myo-

Таблиця 1 Динамика жалоб после проведенного лечения, %

Жалоба	До лечения	После лечения
Головная боль	80 (n=16)	60 (n=12)
Головокружение	45 (n=9)	20 (n=4)
Шум в голове	85 (n=17)	55 (n=11)*
Нарушение концентрации внимания	90 (n=18)	35 (n=7)*
Нарушение сна	30 (n=6)	15 (n=3)

*Статистически значимое отличие по указанному показателю в динамике (p<0,05).

Таблиця 2 Показатели ЭЗВД в динамике

Показатель	До лечения (n=20)	После лечения (n=20)
ЭЗВД <10%	18 (90%)	3 (15%)*
Исходный диаметр плечевой артерии, мм	4,02±0,31	4,15±0,26
Диаметр на 1-й секунде, мм	4,46±0,38	4,76±0,27
Диаметр на 60-й секунде, мм	4,83±0,35	5,21±0,37*
ЭЗВД на 1-й секунде, %	9,79±7,25	11,94±3,98
ЭЗВД на 60-й секунде, %	10,15±7,80	20,10±9,64*
Время восстановления, мин	4,69±0,62	4,10±0,97*

*Статистически значимое отличие по указанному в шапке колонки показателю между образцами (p<0,05).

Таблиця 3 Динамика показателей концентраций нитрита и эндотелина-1 у пациентов с начальными стадиями цереброваскулярной недостаточности в ходе лечения

Показатель	До лечения	После лечения	p	Здоровые
Нитриты, мкмоль/л	1,899±0,789	1,365±0,417	0,0109	1,178±0,235
Эндотелин-1, нг/мл	0,986±0,53	0,3147±0,138	0,0001	0,240±0,12

Таблиця 4 Показатели апоптоза лимфоцитов периферической крови пациентов с начальными проявлениями недостаточности мозгового кровообращения *in vitro*

Доза	Спонтанный апоптоз, % общего количества клеток	Индукцированный апоптоз, % общего количества клеток		ИИА
		апоптоз, % общего количества клеток	ИИА	
Без препарата	19,44±8,2	23,53±7,7	0,838±0,2	
Тивортин® 4 г/сут	17,29±5,74	23,64±7,2	0,736±0,1*	
Тивортин® 8 г/сут	16,97±6,13	21,50±7,3	0,801±0,03	

*Статистически значимое отличие по указанному в шапке колонки показателю между образцами (p<0,05).

cardial perfusion in regions having substantial impairment of baseline dilator reverse. *Circulation*, 98(13): 1291–1296.

Huk I., Nanobashvili J., Neumayer C. et al. (1997) L-arginine treatment alters the kinetics of nitric oxide and superoxide release and reduces ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle. *Circulation*, 96(2): 667–675.

Ignarro L.J., Buga G.M., Wood K.S. et al. (1987) Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84(24): 9265–9269.

Kearney-Schwartz A., Rossignol P., Bracard S. et al. (2009) Vascular structure and function is correlated to cognitive performance and white matter hyperintensities in older hypertensive patients with subjective memory complaints. *Stroke*, 40(4): 1229–1236.

Kuvin J.T., Karas R.H. (2003) Clinical utility of endothelial function testing: ready for prime time? *Circulation*, 107(25): 3243–3247.

Lerman A., Burnett J.C.Jr., Higano S.T. et al. (1998) Long-term L-arginine supplementation improves small-vessel coronary endothelial function in humans. *Circulation*, 97(21): 2123–2128.

Lin C.C., Tsai W.C., Chen J.Y. et al. (2008) Supplements of L-arginine attenuate the effects of high-fat meal on endothelial function and oxidative stress. *Int. J. Cardiol.*, 127(3): 337–341.

Moncada S., Higgs A. (1993) The L-arginine-nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med.*, 329(27): 2002–2012.

Morikawa E., Moskowitz M.A., Huang Z. et al. (1994) L-arginine infusion promotes nitric oxide-dependent vasodilation, increases regional cerebral blood flow, and reduces infarction volume in the rat. *Stroke*, 25(2): 429–435.

Palmer R.M., Ashton D.S., Moncada S. (1988) Nature, 333(6174): 664–666.

Palmer R.M., Ferrige A.G., Moncada S. (1987) Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327(6122): 524–526.

Perez-Vizcaino F., Duarte J., Andriantsitohaina R. (2006) Endothelial function and cardiovascular disease: effects of quercetin and wine polyphenols. *Free Radic. Res.*, 40(10): 1054–1065.

Perticone F., Ceravolo R., Pujia A. et al. (2001) Prognostic significance of endothelial dysfunction

in hypertensive patients. *Circulation*, 104(2): 191–196.

Pritchard K.A., Groszek L., Smalley D.M. et al. (1995) Native low-density lipoprotein increases endothelial cell nitric oxide synthase generation of superoxide anion. *Circ. Res.*, 77(3): 510–518.

Rees D.D., Palmer R.M., Schulz R. et al. (1990) Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxidesynthase *in vitro* and *in vivo*. *Br. J. Pharmacol.*, 101(3): 746–752.

Suessbacher A., Frick M., Alber H.F. et al. (2006) Association of improvement of brachial artery flow-mediated vasodilation with cardiovascular events. *Vasc. Med.*, 11(4): 239–244.

Surdacki A., Nowicki M., Sandmann J. et al. (1999) Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetrical dimethylarginine in men with essential hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 33(4): 652–658.

Suwaidi J.A., Hamasaki S., Higano S.T. et al. (2000) Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation*, 101(9): 948–954.

Umans J.G., Levi R. (1995) Nitric oxide in the regulation of blood flow and arterial pressure. *Ann. Rev. Physiol.*, 57: 771–790.

Vane J., Anggard E., Botting R. (1990) Regulatory function of the vascular endothelium. *N. Engl. J. Med.*, 323(1): 27–36.

Vanhoutte P.M. (2008) Arginine and Arginase: Endothelial NO Synthase Double Crossed? *Circ. Res.*, 102(8): 866–868.

Wang J., Brown M.A., Tam S.H. et al. (1997) Effects of diet on measurements of nitric oxide metabolites. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 24(6): 418–420.

Welsch M.A., Dobrosielski D.A., Arce-Esquivel A.A. et al. (2008) The association between flow-mediated dilation and physical function in older men. *Med. Sci. Sports. Exerc.*, 40(7): 1237–1243.

Widlansky M.E., Gokce N., Keaney J.F.Jr., Vita J.A. (2003) The clinical implications of endothelial dysfunction. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 42(7): 1149–1160.

Wu G., Morris S.M.Jr. (2004) Arginine metabolism in mammals. In: L.A. Cynober (Ed.) *Metabolic and therapeutic aspects of amino acids in clinical nutrition*. Boca Raton, FL: CRC Press, 153–167 p.

Wu G., Morris S.M.Jr. (1998) Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem. J.*, 336(Pt. 1): 1–17.

Yavuz B.B., Yavuz B., Sener D.D. et al. (2008) Advanced age is associated with endothelial dysfunction in healthy elderly subjects. *Gerontology*, 54(3): 153–156.

Zweier J.L., Samouilov A., Kuppusamy P. (1999) Non-enzymatic nitric oxide synthesis in biological systems. *Biochim. Biophys. Acta*, 1411(2–3): 250–262.

Получено 20.08.2014

Інформація для професійної діяльності медичних і фармацевтичних працівників

Тивортин®

Р.с. № UA/8954/01/01 от 13.09.2013 г.

Состав. 1 мл содержит 42 мг аргинина гидрохлорида (в 100 мл содержится 20 ммоль аргинина и 20 ммоль хлоридов). **Фармакотерапевтическая группа.** Кровезаместители и перфузионные растворы. **Дополнительные растворы для внутривенного введения.** Аминокислоты. Аргинина гидрохлорид. **Код АТС.** B05X B01. **Показания.** Атеросклероз сосудов сердца и головного мозга, атеросклероз периферических сосудов, в том числе с проявлениями перемежающейся хромоты, диабетическая ангиопатия, ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, состояния после перенесенных острого инфаркта миокарда и острого на-

рушения мозгового кровообращения, миокардиопатия, хроническая сердечная недостаточность, гиперхолестеринемия, стенокардия, хроническая обструктивная болезнь легких, интерстициальная пневмония, идиопатическая легочная гипертензия, хроническая постэмболическая легочная гипертензия, острый и хронический гепатит различной этиологии, гипергаммониемия, гипоксические состояния, астенические состояния в процессе реконвалесценции, в том числе после инфекционных заболеваний и оперативных вмешательств, метаболический алкалоз, снижение функции вилочковой железы, задержка развития плода и преэклампсия. **Побочные реакции.** После внутривенного введения возможны: головная боль, ощущение жара, флебит в месте введения, редко – аллергические реакции.

С полной информацией о препарате можно ознакомиться в инструкции по медицинскому применению.