

вин в результате усиления кровоснабжения слизистой оболочки пазухи при хроническом воспалении. Исследования подтвердили наши предположения. Было обнаружено, что у пациентов с хроническим верхнечелюстным синуситом, температура над областью проекции правой нижней носовой раковины $30,45^0 \pm 0,70$, что достоверно выше, чем у здоровых пациентов $29,06^0 \pm 1,48$ ($p_{\text{стьюдента}}=0,001$). Термография над областью проекции левой нижней носовой раковины выявила достоверную разницу в показателях: у пациентов, страдающих хроническим верхнечелюстным синуситом $30,24^0 \pm 0,41^0$, и здоровых пациентов $29,20^0 \pm 1,48^0$ ($p_{\text{стьюдента}}=0,003$).

Выводы:

1. Термография пациентов с вазомоторным ринитом, над нижними носовыми раковинами выявила достоверную разницу показателей в сравнении со здоровыми, справа $31,56^0 \pm 2,42$, слева $30,94^0 \pm 1,28^0$ против $29,06^0 \pm 1,48^0$ $29,20^0 \pm 1,46^0$ соответственно.

2. Температура кожи над областью проекции правой нижней носовой раковины у пациентов, страдающих хроническим верхнечелюстным синуситом, составила $30,45^0 \pm 0,70^0$ над - левой $30,24^0 \pm 0,41^0$, что достоверно отличалось от показателей, полученных у здоровых $29,06^0 \pm 1,48$, $29,20^0 \pm 1,48^0$ ($p_{\text{стьюдента}}=0,001$; $p_{\text{стьюдента}}=0,003$ соответственно).

Литература

1. Способ диагностики передних синуситов: патент № 4934122/14, 05.05.1991; Опубликовано: 20.04.1995 /Розенфельд Л.Г., Ковалева Л.В., Козлова Е. Е., и др.
2. Ткаченко, Ю.А. Клиническая термография (обзор основных возможностей) / Ю.А. Ткаченко, М.В. Голованова, А.М. Овечкин. – Н.Новгород, 1998.

ОЦЕНКА ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ ПО ДАННЫМ ИЗУЧЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРА ВИЛЛЕБРАНДТА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ СТРЕПТОКИНАЗЫ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАННЫХ ВЕНОЗНЫХ ТРОМБОЗОВ IN VIVO

Адзерихо И.Э., Лутик И.Л.,** Владимирская Т.Э.,* Корда А.В.,* Тихонова Н.Г.,* Дубатовка Е.И.****

**Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск*

***Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

****Институт химии новых материалов НАН Беларуси, г. Минск*

Введение. Согласно современным представлениям [1], одним из механизмов потенцирования тромботических осложнений при возникновении тромбоокклюзирующих заболеваний является повышение активности и/или снижение расщепления фактора Виллебрандта (ФВ). При этом показана зависимость выраженности признаков воспаления и тромбоэмболических осложнений от сроков проведения реперфузионных мероприятий [2].

Это позволяет говорить о прогностической ценности определения активности ФВ для оценки терапевтического эффекта тромболиза [3].

Ранее нами получены в экспериментальных условиях липосомальные формы на основе смеси фосфохолинов и холестерина в молярном соотношении 2:1 со степенью включения в их состав стрептокиназы (РУП «Белмедпрепараты») ~75%. Доказана *in vivo* высокая эффективность последних в виде увеличения степени лизиса тромба и удлинения тромболитического действия инкапсулированной в липосомы стрептокиназы (СТК) в сравнении со свободной формой препарата [4]. На этапе проведения экспериментов нас интересовало влияние липосомальных микросфер на сосудистую стенку как показатель безопасности их использования.

Целью нашей работы была оценка дисфункции эндотелия по данным морфологического и иммуногистохимического (ИГХ) исследования при условии введения свободной и инкапсулированной в липосомы СТК на модели острого венозного тромбоза у крыс.

Материалы и методы. Эксперименты были поставлены на 84-х беспородных самцах крыс массой 320-350г. Моделирование тромба проводили путём введения в яремную вену на участке длиной 1 см, ограниченном лигатурами, 0,1 мл раствора тромбина с дополнительным пережатием сосудистой стенки корнцангом в течение 5-10 секунд. Общее время формирования тромба составило 40 минут. Все животные были разделены на пять групп. Первым 3-м группам в хвостовую вену в течение 1 минуты проводили инъекции препаратов: 1-я группа – липосомы с включенной СТК из расчёта 150 тыс. ЕД/кг; 2-я группа – свободная (обычная) форма СТК в эквивалентной дозе; 3-я группа - суспензия липосом без включенных препаратов. В контрольных группах (моделированный тромбоз и интактная вена) инъекции веществ не проводили. В 1-й и 2-й группах дополнительно вводили человеческий плазминоген в дозе 0,66 мг/кг для достижения независимого от видовой специфичности животных эффекта воздействия СТК на тромб. В качестве групп контроля выступали тромбированная (группа сравнения 1) и интактная (группа сравнения 2) вены без инъекции препаратов. Время наблюдения после формирования тромба составило 1,5 и 3 часа. Число животных составило $n=10$ в группах с введением препаратов, $n=6$ в группах контроля. После выведения крыс из эксперимента путём внутривенного введения этаминала натрия участки интактной и тромбированной вен иссекали, фиксировали в 10% нейтральном формалине и изготавливали срезы толщиной 4-5 мм из парафиновых блоков по стандартному протоколу, микропрепараты окрашивали гематоксилином и эозином [5]. Изучение препаратов и изготовление микрофотографий проводили с помощью светового микроскопа Axio Imager (ZEISS).

Для иммуногистохимического (ИГХ) типирования ЭК и определения экспрессии ФВ применяли антитела к фактору Виллебранда (1:500) фирмы «Abscam» (Великобритания). Оценку степени экспрессии проводили с

помощью морфометрического определения показателя экспрессии (алгоритм «positive pixel count», увеличение 400, минимальное количество полей зрения - 5). Показатель экспрессии (ПЭ) рассчитывали как соотношение числа позитивных пикселей к их общему числу. Выраженная экспрессия ФВ свидетельствовала об активации ЭК, повреждении/дисфункции эндотелия, адгезии тромбоцитов к субэндотелиальному слою, их агрегации.

Результаты исследований обрабатывали с помощью программного обеспечения STATISTICA 6.0 (Version 6-Index, StatSoft Inc., США). Данные, характеризующиеся непараметрическим распределением, представлены в виде Me [25%; 75%], где Me – медиана, [25%; 75%] – 25-я и 75-я процентиля. Уровень доверительной вероятности $p < 0,05$ принимали за статистически значимый.

Результаты и обсуждение. По результатам исследования образцов тромбированной вены 1,5- и 3-х часового наблюдения ПЭ составил 0,96 [0,95;0,97], при этом отмечены признаки изменений ЭК в виде их набухания, кариохромии и десквамации. В то же время, исследование интактной вены через 1,5 и 3 часа наблюдения показала отсутствие выраженных патологических изменений интимальной поверхности вен. При этом ЭК нормохромные, синусоидного типа, с единичными признаками гиперактивации. ПЭ в данной группе составил 0,39 [0,35;0,68], что было достоверно ниже аналогичного показателя в группе сравнения 1 ($p < 0,05$) и может свидетельствовать об усилении тромбогенной активности ЭК и их повреждении и/или активации при наличии венозного тромбоза.

Введение липосом в хвостовую вену крыс приводило к достоверному уменьшению ПЭ ($p < 0,05$) по сравнению с группой сравнения 1. Так, через 1,5 часа наблюдения в группе введения липосом с включенной СТК показатель экспрессии ФВ снизился до уровня 0,80 [0,69;0,89], $p > 0,05$ по отношению к группе сравнения 1. Через 3 часа наблюдения в данной группе отмечалось дальнейшее снижение ПЭ до 0,67 [0,63;0,76], $p < 0,05$ по сравнению с 1,5-часовой точкой. При этом выраженных патологических изменений ЭК не выявлено.

Схожие результаты отмечены в группах с введением липосом без включенных препаратов. Так, через 1,5 и 3 часа наблюдения ПЭ составил 0,65 [0,38;0,82] и 0,69 [0,59;0,80] соответственно, что также свидетельствует о наличии достоверных различий в активности ФВ по отношению к группе сравнения 1 ($p < 0,05$). Гистологически наблюдали наличие единичных очагов кариохромии и десквамации ЭК. При этом сравнение липосомальных частиц в присутствии или отсутствии СТК не выявило достоверных различий ПЭ ($p > 0,05$), что говорит об отсутствии влияния СТК в составе частиц на сосудистую стенку.

Вместе с тем, в группах животных с введением свободной (обычной) формы СТК через 1,5 и 3 часа наблюдения ПЭ был статистически незначимым по отношению к группе сравнения 1 и составил 0,94[0,91;0,99] и

0,93[0,92;0,96] соответственно ($p > 0,05$). При этом микроскопическое исследование препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, показало адгезию эритроцитов и тромбоцитов к интиме, набухание, гиперхромную ЭК, повышенную их десквамацию с усилением указанных изменений через 3 часа после введения препаратов.

Таким образом, статистически значимое превышение уровня ПЭ ФВ в эндотелии вен крыс при применении свободной формы СТК по сравнению с липосомальными формами в присутствии или отсутствии СТК свидетельствует о протективном влиянии липосом на эндотелий сосудов крыс.

Выводы:

1. Введение в хвостовую вену крыс свободной формы стрептокиназы не приводит к изменениям в активности ФВ по отношению к группе сравнения 1 (тромбированная вена) через 1,5 и 3 часа наблюдения ($p > 0,05$).

2. Введение липосом в присутствии или отсутствии стрептокиназы приводит к достоверному снижению показателя экспрессии ФВ ($p < 0,05$) и, следовательно, признаков гиперактивации эндотелиальных клеток в аналогичные сроки.

Литература

1. Vischer, U.M. Von Willebrand factor, endothelial dysfunction and cardiovascular disease / U.M. Vischer// J. Thromb. Haemost. – 2006. – Vol. 4. – P. 1186–1193.
2. Bongers, T.N. High von Willebrand factor levels increase the risk of first ischemic stroke: influence of ADAMTS 13, inflammation and genetic variability / Bongers T.N., de Maat M.P., van Goor M.L. et al.// Stroke. – 2006. – Vol. 37. – P. 2672–2677.
3. Kiki, I. Relationship between von Willebrand factor activity and therapeutic success of thrombolytic therapy in patients with myocardial infarction / Kiki I., Köse N. et al. // Eur. J. Gen. Med. – 2007. – Vol. 4(2). – P. 57–61.
4. Эффективность липосомальных форм стрептокиназы при остром венозном тромбозе в эксперименте / И.Э. Адзерихо [и др.] // *Фундаментальные науки – медицине: материалы Международной научной конференции (Минск, 17 мая 2013 г.)*. В 2 ч. Ч. 1 / Нац. акад. наук Беларуси, Институт физиологии; редкол.: И.В. Залуцкий [и др.]. – Минск: Беларус. навука, 2013. – С. 11–15.
5. Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина. – 1990. – 384 с.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ МЕХАНИЗМОВ ЭНДОТЕЛИЙЗАВИСИМОЙ ВАЗОДИЛАТАЦИИ КОЖИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

*Малахова З.Л., Васина Е.Ю., Воробьев Е.А., Нестерович И.И., Власов Т.Д.
Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет,
г. Санкт-Петербург*

Введение. Нарушения функции эндотелия или дисфункция эндотелия (ДЭ) – один из наиболее важных и универсальных механизмов повреждения в патогенезе самых разных заболеваний: сахарный диабет, атеросклероз, гипертоническая болезнь, хроническая болезнь почек и многие другие. При