

ВЛИЯНИЕ ДИСПЕРГИРОВАННОГО БИОМАТЕРИАЛА «АЛЛОПЛАНТ» НА СОСТОЯНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С

INFLUENCE OF THE DISPERSED BIOMATERIAL «ALLOPLANTS» ON THE CONDITION OF FREE RADICAL OXIDATION IN PATIENTS WITH CHRONIC VIRUS HEPATITIS C

R. Mirkhaydarov
R. Kildebekova

Summary. The Aim of the study was evaluation of the effectiveness of a dispersed biomaterial «Alloplant» in the introduction of acupuncture in patients with chronic viral hepatitis C. A Comprehensive study of new means of correction of regulatory processes — a dispersed biomaterial «Alloplant» injected into biologically active points showed a more pronounced positive dynamics: the increase in the absolute number of lymphocytes, decrease in the activation of cytotoxic response, a decrease in products of lipid peroxidation and increased activity of antioxidant enzymes.

Keywords: chronic viral hepatitis, free-radical oxidation, dispersed biological material «Alloplant».

Мирхайдаров Равиль Шамилович

К.м.н., Врач-рефлексотерапевт, Научно-исследовательский лечебно-оздоровительный центр «Здоровье и долголетие», респ. Башкортостан, г. Уфа
mira_2002@mail.ru

Кильдебекова Раушания Насгутдиновна

Д.м.н., профессор, Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа
bsmu-int@mail.ru

Аннотация. Целью исследования была оценка эффективности диспергированного биоматериала «Аллоплант» при акупунктурном введении у больных хроническим вирусным гепатитом С. Комплексное изучение нового средства коррекции регуляторных процессов — диспергированного биоматериала «Аллоплант», вводимого в биологически активные точки, показало выраженную позитивную динамику: увеличение абсолютного числа лимфоцитов, снижение активации цитотоксического ответа, уменьшение продуктов перекисного окисления липидов и повышение активности ферментов антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит, свободнорадикальное окисление, диспергированный биологический материал Аллоплант.

По оценке Центра по контролю и профилактике заболеваний в США на сегодняшний день насчитывается около 2,7 млн. лиц с вирусным гепатитом С, который является основной причиной смерти при заболеваниях печени [8,15,16].

Многими исследователями было показано, что при патологических состояниях наблюдается неферментативное усиление свободнорадикального окисления (СРО), которое развивается в клетках и межклеточном пространстве [2,10]. Активация перекисного окисления липидов, наблюдаемое при воздействии внешних негативных факторов, является универсальным механизмом повреждения клеток[3,14,17]. Вопросы влияния воспалительных процессов на СРО с угнетением активности ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ) неоднозначны и нуждаются в дополнительных исследованиях.

Рекомендованный стандарт лечения больных хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС) предусматривает использование препаратов-интерферонов и комбинацию с другими противовирусными средствами, но желаемый эффект достигается только у трети пациентов [3,4,7,18]. Большое число нежелательных эффектов

и противопоказаний к противовирусной терапии для больных ХВГС доказывает необходимость поиска альтернативных путей фармакотерапии.

К методам, позволяющим пролонгировать эффект лечебного воздействия, относится фармакопунктура как способ локальной стимуляции биологически активных точек[1,5]. Перспективным и малоизученным представляется применение одного из новых средств регуляции регенераторных процессов — биоматериала «Аллоплант», изготавливаемого на основе измельченных биологических тканей, который широко применяется в регенеративной хирургии для активации обменных процессов. Коллаген-гликозаминогликановые комплексы, составляющие матрикс диспергированного биоматериала Аллоплант (ДБМА), обладают высокой биологической активностью, гипоаллергенны и являются стимуляторами регенерации [11,12].

Цель исследования

Оценить влияние акупунктурного введения диспергированного биоматериала «Аллоплант» на состояние свободно-радикального окисления у больных хроническим вирусным гепатитом С.

Материалы и методы исследования

Проведено открытое, проспективное, рандомизированное исследование 78 пациентов с ХВГС, из них 31 (39,7%) женщина и 47 (60,3%) мужчин, средний возраст составил $36,8 \pm 1,7$ года. Для сопоставления результатов исследования были обследованы 25 практически здоровых лиц. Среди обследованных с ХВГС у 40 (51,28%) пациентов противовирусная терапия не проводилась из-за противопоказаний, у 26 (33,3%) не отмечалось положительных сдвигов после курса противовирусной терапии на протяжении 6 месяцев и у 12 (15,38%) отмечался клинический рецидив после противовирусной терапии через 4–12 месяцев.

Клиническая верификация диагноза ХВГС проводилась в соответствии с МКБ-10. При диагностике учитывали совокупность клинико-лабораторных и эпидемиологических данных.

Критерии включения в исследование: лица молодого возраста с верифицированным диагнозом ХВГС с умеренной и минимальной активностью воспалительного процесса в печени, который оценивали по уровню аланин- (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) в крови.

От всех обследованных было получено добровольное информированное согласие. Проведенное исследование было одобрено этическим комитетом Башкирского государственного медицинского университета, в соответствии с нормами Хельсинской декларации (2000).

Наличие РНК-вируса гепатита С определялось методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия).

Оценка состояния свободно-радикального окисления (СРО) проводилась по уровню продуктов перекисного окисления липидов и активности ферментов антиоксидантной защиты, кровь забиралась в стандартизированные пробирки типа «Вакутайнер» с антикоагулянтом — гепарин 5000 ЕД/мл из расчета 0,1 мл на 10 мл крови.

Содержание продуктов перекисного окисления липидов определяли по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК) в плазме крови по Карпищенко А. И. (1999) с помощью набора реактивов «ТБК-АГАТ» (ООО «АГАТ — МЕД», Россия). Уровень продуктов липопероксидации — диеновые конъюгаты (ДК) и шиффовы основания (ШО) определяли по методу Волчегорского И. А. и соавт. (2000).

Активность ферментов АОЗ — каталазы определяли по Корольку М. А. и соавт. (1988), уровень глутатионпе-

роксидазы (ГП) изучали с помощью набора RANSEL Glutathione peroxidase (Randox Laboratories Ltd., США).

Изучение популяций и субпопуляций лимфоцитов крови проводилось методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител фирмы Beckman Coulter (США). Определяли кластеры дифференцировки CD3 (Т-лимфоциты), CD4 (Т-хелперы) и CD8 (цитотоксические Т-лимфоциты), результаты выражались в абсолютных и относительных показателях [4,6].

Для оценки эффективности лечения больные ХВГС были разделены на три группы: I группа (n=21) — контрольная: пациенты получали медикаментозную терапию в амбулаторных условиях, согласно рекомендованным протоколам [7,13,16], II группа (n=23) — сравнения: на фоне медикаментозной терапии дополнительно применяли иглорефлексотерапию в биологически активные точки (БАТ) и III группа — основная (n=34), которым дополнительно вводили ДБМА, разведенный в 10 мл физиологического раствора; на курс лечения 7–10 сеансов, количество инъекций за один сеанс составили от 5 до 20, по 0,1–3 мл в заранее выбранные биологически активные точки: BL18 Гань Шу, BL19 Дань Шу, BL47 Хунь Мэнь, BL48 Ян Ган и BL 49 И Шэ расположенные паравертебрально на уровне 9–11 грудных позвонков; GV8 Цзин Со и GV9 Чжи Ян — точки заднесрединного меридиана; LR13 Чжан Мэнь, LR14 Ци Мэнь, GB24 Жи Юе, GB25 Цзин Мэнь и RP 19 Фу Ай — расположенные в области правого подреберья; CV5 Ши Мэнь, CV12 Чжун Вань и CV14 Тан Чжу — точки на переднесрединном меридиане [1,5].

Ни один пациент не выбыл из исследования вследствие развития нежелательных реакций, имеющих причинно-следственную связь с приемом ДБМА.

Статистическую обработку данных проводили по программе Statistica for Windows версии 7.0. На предварительном этапе полученные данные проверялись на нормальность распределения методом Шапиро-Уилка, оценку достоверности по параметрическим и непараметрическим критериям. Для сравнения величин использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса. Искажение достоверности различий предупреждали поправкой Бонферони.

Результаты исследования

У всех больных ХВГС методом полимеразно-цепной реакции доказана репликативная фаза инфекционного процесса.

Оценку состояния гепатобилиарной системы у больных ХВГС определяли по активности уровня ферментов печени и выявили значимое повыше-

Таблица 1. Показатели иммуннограммы у больных хроническим вирусным гепатитом С

Показатели	Здоровые лица (n=25)	Больные ХВГС (n=78)	После лечения		
			I (n=21)	II (n=21)	III (n=34)
Лейкоциты (x10 ⁹ / л)	8,1±0,24	6,6±0,22*	6,5±0,19	6,5±0,25	6,1±0,22**
Лимфоциты (x10 ⁹ / л)	2,3±0,15	1,7±0,30*	1,8±0,15**	2,3±0,83**	2,6±0,15**
CD3+, отн.(%)	71,8±1,90	60,2±1,92	63,2±1,9**	64,2±1,87	68,2±1,91**
Абс. (x10 ⁹ / л)	1,59±0,07	1,33±0,06*	1,48±0,07	1,53±0,07	1,59±0,04**
CD4+, отн.(%)	42,9±1,30	32,7±1,32*	35,7±1,78	38,3±1,95	41,7±2,05
Абс. (x10 ⁹ / л)	0,95±0,04	0,66±0,05*	0,73±0,03**	0,79±0,03	0,89±0,04**
CD8 +, отн.(%)	21,9±1,3	28,4±1,7	25,9±1,2	23,4±1,3	22,3±1,5
Абс.(x10 ⁹ / л)	0,676±0,03	0,877±0,03*	0,796±0,04	0,773±0,02	0,675±0,03
ИРИ (СД4/СД8)	1,4±0,14	1,14 ±0,15*	0,91±0,04	1,02±0,05	1,31±0,06**

Примечание: * — при p<0,05 в сравнении со здоровыми лицами

** — при p<0,01 в сравнении с исходным уровнем

Таблица 2. Динамика показателей свободно-радикального окисления на фоне применения реабилитационных программ у больных ХВГС (M±m)

Группы	Параметры	ДК, мкмоль/л	ШО, мкмоль/л	ТБК-РП мкмоль/л	Каталаза, усл.ед./г	ГП усл.ед./г
Здоровые лица (n=25)		3,06±0,15	1,89±0,09	0,34±0,01	18,0±0,82	70,04±3,4
Исходно (n=78)		4,63±0,2*	2,54±0,14*	0,43 ±0,14*	12,58±0,2*	57,2±2,7*
После лечения I (n=21)		3,6±0,17#	2,38±0,02#	0,40±0,02#	14,90±0,21*#	61,6±3,4
II (n=23)		3,47±0,15#	2,27±0,02#	0,36±0,16#	15,14±0,38#	64,4±2,7#
III (n=34)		3,42±0,16#	1,93±0,01#	0,35±0,15#	17,30±1,07*#	69,4±2,4#

* при p<0,05 в сравнении со здоровыми лицами

при p<0,05 в сравнении с исходным уровнем

ние АЛТ до 2,66±0,27 ммоль/л против здоровых лиц 0,63±0,03 ммоль/л и АСТ до 1,48±0,17 ммоль/л, против 0,34±0,06 ммоль/л. Анализ уровня цитолитического фермента показал, что активность АЛТ в пределах нормальных показателей была у 12(15,38%), незначительное повышение (до 3 норм) у 31(39,74%), умеренное (до 5 норм) у 16(20,51%) и значительное (выше 5 норм) у 19(24,35%) обследуемых. На фоне проводимого лечения динамика активности маркеров цитолиза у больных ХВГС показала снижение уровня АЛТ и АСТ, более значимые изменения наблюдалось у обследованных III группы, что указывало на клиническую эффективность ДБМА.

Изучение состояния иммунного статуса у больных с ХВГС выявило наличие дисфункции во всех звеньях иммунитета, что было представлено в ранее опубликованных работах [9]. Анализ иммуннограммы у больных ХВГС (табл. 1) показал снижение числа лейкоцитов на 18,5%, лимфоцитов на 30,4% в сравнении со здоровыми лицами.

Качественный состав лимфоцитов у больных с ХВГС выявил снижение CD3+ клеток на 16,15%, CD4+ на 23,8%, и повышение цитотоксических лимфоцитов

(CD8+) на 29,7%. Снижение количества CD4+ лимфоцитов у больных ХВГС свидетельствует о недостаточности Т-звена иммунитета, а увеличение числа CD8+ — об активации цитотоксического ответа. Снижение фагоцитарной активности лейкоцитов у больных ХВГС было на 41,5% (p=0,02) и отражает подавление факторов естественного иммунитета. На фоне проводимого лечения отмечалось увеличение абсолютного числа лимфоцитов в I группе обследованных на 5,8%, во II группе на 35,3% и в III группе на 52,9% также наблюдалось повышение уровня субпопуляций лимфоцитов CD4+ на 10,6%, 19,69% и на 30,3% а также снижение цитотоксических лимфоцитов (CD8 +) на 9,3%, 11,85% и на 23,03% соответственно. Как видно из представленных данных выраженной позитивная динамика в III группе указывает на эффективность ДБМА на клиническое течение ХВГС.

Изучение состояния свободно-радикального окисления у больных ХВГС выявило увеличение исходного уровня продуктов ПОЛ с последующим истощением ферментов АОЗ. Результаты исследования ПОЛ у больных ХВГС показали повышенный уровень диеновых конъюгатов на 51,9% и шиффовых оснований на 34,39%

по сравнению со здоровыми лицами. На фоне проведенного лечения в I группе уровень диеновых конъюгатов снизился на 22,24%, во II группе на фоне дополнительного применения ИРТ на 25,05% и в III группе, при введении ДБМА в БАТ, на 26,13%.

В процессе проводимой реабилитации на амбулаторном этапе у больных с ХВГС уровень шиффовых оснований в I группе снизился на 6,29%, во II группе на 10,2% и в III группе на 24,01% соответственно, уровень продуктов реагирующих с тиобарбитуровой кислотой в I группе снизился на 6,97%, во II группе на 16,27%, в III группе на 18,6% соответственно.

Как видно из представленных данных, максимальное снижение уровня продуктов ПОЛ отмечалось в III группе обследуемых с ХВГС.

Анализ ферментов антиоксидантной защиты у пациентов с ХВГС показал, что исходный уровень каталазы был снижен на 30,11%, в сравнении со здоровыми лицами. На фоне проводимых лечебных мероприятий наблюдалась позитивная динамика, так в I группе увеличение каталазы было на 18,44%, во II группе на 20,34%, в III группе на 37,51% (табл. 2). Уровень глутатионпероксидазы увеличился в I группе на 7,69%, во II группе на 12,58% и в III группе на 21,32%. Значимое повышение уровня активности ферментов АОЗ наблюдались в III группе исследуемых с ХВГС на фоне дополнительного применения фармакопунктуры ДБМА в биологически активные точки.

Таким образом, анализ полученных результатов выявил у больных ХВГС дисфункцию иммунной системы и активацию свободно-радикального окисления. На фоне применения ДБМА наблюдалась выраженная позитивная динамика, восстановление иммунного статуса и повышение активности антиоксидантной системы, что указывает на патогенетическое и клиническое обоснование применения данной методики для больных ХВГС в качестве терапии, замедляющей прогрессирование заболевания. Данные нашего исследования указывают о высоком уровне безопасности ДБМА, при его применении не отмечалось ни одного нежелательного явления.

Выводы: 1. У больных с ХВГС наблюдалась дисфункция иммунной системы: снижение CD4+лимфоцитов на 23,8% при повышении Т-цитотоксических CD8+лимфоцитов на 29,7%, а также изменения свободно-радикального окисления: повышение продуктов перекисного окисления липидов — диеновых конъюгатов на 51,9% и шиффовых оснований на 34,4% на фоне снижения активности ферментов антиоксидантной защиты.

2. На фоне применения ДБМА в биологически активные точки у больных с ХВГС отмечалось восстановление иммунного статуса, повышение активности антиоксидантных ферментов каталазы на 37,5% и глутатионпероксидазы на 21,3%, снижение диеновых конъюгатов на 26,1%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агасаров, Л. Г. Фармакопунктура М: Арнебия. — 2013. — 192с.
2. Андреева, С. Г. Оценка влияния экзогенной супероксиддисмутазы на процессы свободнорадикального окисления у больных с острым гепатитом В // Вестник новых медицинских технологий — 2005- том XII, № 2. — С.56–58.
3. Асташова, Т. А., Казакова Е. С., Морозов С. В., Казаков О. В. Роль лимфатической системы в регуляции окислительного гомеостаза в норме, при циркуляторных нарушениях и их коррекция / Т. А. Асташова, Е. С. Казакова, С. В. Морозов, // *Вопр. биол. мед. и фармац. химии.* — 2006. — № 1. — С. 17–22.
4. Бацких, С. Н. Два пути к одной цели: новые стратегии противовирусной терапии хронического гепатита С. // *Гепатология- 2012- № 6-С.22–26.*
5. Вагалик, В. Г. Основы китайского лечебного метода чжень-цзю. «Горький 1961»- С. 9
6. Иммунология и аллергология / под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова, А. В. Караулова. — М.: Практическая медицина, 2006. — 288 с.
7. Ивашкин, В. Т. Современные схемы лечения хронического гепатита С // *Рос.журн.гастроэнтерол.гепатол.колопроктол.*/В.Т.Ивашкин, М. В. Маевская, М. А. Морозова — 2012. — Т. 22, № 1. — С. 36–44
8. Кузнецова А. В. Клинико-иммунологические особенности сочетанных форм хронического гепатита С. Автореферат диссертации на соискание ученой степени к.м.н. Хабаровск 2007., 23с.
9. Кильдебекова Р. Н., Мирхайдаров Р. Ш., Имельбаева Э. А., Саяхов Р. Ф., Низамов А. К. Особенности иммунного статуса больных хроническим вирусным гепатитом. *Клиническая геронтология*, 2015., № 7–8, С. 5–9.
10. Милякова М. Н., Шабанов В. В. Возможный механизм и патофизиологическая значимость регуляции активности супероксиддисмутазы свободными радикалами кислорода // *Биомед. химия.* — 2006. — Т. 52, № 2. — С. 130–13
11. Мулдашев, Э. Р. Теоретические и прикладные аспекты создания аллотрансплантатов «Аллоплант» для пластической хирургии лица / Э. Р. Мулдашев. — СПб., 1995. — 136 с.
12. Хасанов, Р. А. Диспергированные формы аллотрансплататов «Аллоплант» / Р. А. Хасанов, О. Р. Шангина // *Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: сборник тезисов V Всероссийского симпозиума с международным участием.* — Уфа, 2012. — С. 115–116.
13. Яковлев, А. А. Хронические вирусные гепатиты/ СПб: НИИХ СПб ГУ. — 2012. — 287с.

14. Янковая, Т. Н. Значение показателей свободнорадикального окисления липидов, цитолитического синдрома у больных хроническим гепатитом в зависимости от этиологического фактора, <http://cyberleninka.ru/article/n/znachenie-pokazateley-svobodnoradikalnogo-okisleniya-lipidov-tsitoliticheskogo-sindroma-u-bolnyh-hronicheskim-gepatitom-v>
15. Abdelwahab K. S., Ahmed Said Z. N. Status of hepatitis C virus vaccination: Recent update. // World journal of gastroenterology. — 2016. — Vol. 22, no. 2. — P. 862–873.
16. Kim W. R. The burden of hepatitis C in the United States. Hepatology 2002,36,(Suppl.1): S30–34.
17. Liang T. J., Ghany M. G. Current and future therapies for hepatitis C virus infection. // The New England journal of medicine. — 2013. — Vol. 368, no. 20. — P. 1907–1917.
18. Hepatitis C guidance: AASLD-IDSА recommendations for testing, managing, and treating adults infected with hepatitis C virus.// Hepatology Baltimore, Md.).— 2015. — Vol. 62, no. 3. — P. 932–954

© Мирхайдаров Равиль Шамилевич (mira_2002@mail.ru), Кильдебекова Раушания Насгутдиновна (bsmu-int@mail.ru).
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»



Башкирский государственный медицинский университет