

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-2-8-11

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЦИТОФЛАВИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

А. В. Дерюгина, Е. А. Грачева¹

Изучена динамика электрофоретической подвижности эритроцитов, агрегация эритроцитов, концентрация в них малонового диальдегида и клинико-лабораторные показатели эритроцитов при применении цитофлавина (0,2 мл/кг/сут в течение 7 сут) у крыс с экспериментальной артериальной гипертензией. Результаты исследования показали, что при действии препарата на 7 сут после его введения регистрировалось повышение электрофоретической подвижности эритроцитов, снижение агрегации и концентрации малонового диальдегида в эритроцитах, уменьшение количества эритроцитов, гемоглобина, гематокрита, среднего объема эритроцита и содержания гемоглобина в одном эритроците относительно соответствующих показателей группы животных с артериальной гипертензией. Влияние цитофлавина вызывало снижение систолического артериального давления на 7 сут исследования при тенденции к снижению диастолического артериального давления. Выявленные эффекты препарата позволяют расширить возможности его терапевтического использования в качестве средства, корригирующего микроциркуляцию крови при артериальной гипертензии.

Ключевые слова: эритроциты; цитофлавин; артериальная гипертензия.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время артериальную гипертензию (АГ) рассматривают не только как хронически повышенное артериальное давление (АД), но и как сложный комплекс взаимосвязанных гемодинамических, метаболических и нейрогуморальных изменений [10]. Согласно современным представлениям, важную роль в появлении и прогрессировании АГ играет нарушение микроциркуляции и реологии крови [6]. Нарушение реологических свойств крови может способствовать ремоделированию сердца и эндотелия сосудов [3]. В свою очередь, макро- и микроциркуляторные показатели крови определяются ее вязкостью [3, 14], которая зависит от гематокрита, вязкости плазмы, агрегации и деформируемости эритроцитов [12]. При этом текучесть крови на уровне микрокапилляров в значительной степени определяют эритроциты. В связи с этим при использовании антигипертензивных средств, на наш взгляд, целесообразно дополнительно назначать препараты, оказывающие положительное влияние на метаболические и гемодинамические процессы.

Цитофлавин является метаболическим препаратом широкого спектра действия на основе янтарной кислоты, предупреждающим развитие деструктивных явлений в клеточных мембранах [1, 8]. Однако для выявле-

ния эффективности препарата в коррекции гемодинамических расстройств необходимы его исследования в экспериментальных условиях, поскольку цитофлавин не относится к препаратам антигипертензивного действия.

Цель исследования — изучение влияния цитофлавина на электрокинетические, агрегационные и клинико-лабораторные показатели эритроцитов при моделировании АГ.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на 30 крысах-самках массой 200 – 250 г. Животных содержали в виварии, оборудованной согласно требованиям “Санитарных правил по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)” № 1045-73. Работа выполнена в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях” от 18 марта 1986 г. и согласно приказу Минздрава России от 01.04.2016 г. № 119н “Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики”.

Моделирование АГ у животных проводили внутрибрюшинным введением на протяжении 30 дней преднизолона в дозе 6 мг/кг с одновременным принудительным введением 5 мл солевого раствора, состоящего из 2,3 % NaCl и 7,7 % KCl [5].

Все животные были разделены на 3 равные по численности группы. Опытной группе животных ($n = 10$) после моделирования АГ в течение 7 дней внутрибрю-

¹ ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н. И. Лобачевского, Россия, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23.

* e-mail: kfg.unn@mail.ru

шинно вводили цитофлавин (раствор для внутривенного введения, ООО “НТФФ “ПОЛИСАН”, Санкт-Петербург) в объеме 0,2 мл/кг в сутки, контрольной группе ($n = 10$) — физиологический раствор в том же объеме. Уровень физиологической нормы определяли у intactных животных ($n = 10$). Забор крови у крыс производили из подъязычной вены на 1, 3, 7 сут в объеме 2 мл.

Электрофоретическую подвижность эритроцитов (ЭФПЭ) определяли методом микроэлектрофореза с использованием цитоферометра в нашей модификации [4]. Регистрировали время прохождения эритроцитами расстояния 100 мкм в трис-НСI буфере с pH 7,4 при силе тока 8 мА. Величину ЭФПЭ определяли по формуле: $U = S/TH$, где S — расстояние, на которое перемещались клетки; T — время перемещения клеток на расстояние S ; H — градиент потенциала. Величину градиента потенциала определяли по формуле: $H = I/g\chi$, где I — сила тока, g — поперечное сечение камеры, χ — удельная электропроводимость среды.

Агрегацию эритроцитов изучали методом оптической микроскопии, подсчитывая одиночные эритроциты и их агрегаты [11].

В качестве стимулятора агрегации использовали раствор голубого декстрана Т-2000 (GE Healthcare, 20 мг/мл) в трис-НСI-буфере (pH 7,4). Отмытые эритроциты разводили раствором декстрана (в соотношении 1:10 по объему) и в камере Горяева подсчитывали число неагрегированных эритроцитов. Общее число эритроцитов в пробе считали в изотоническом растворе NaCl. Уровень агрегации A рассчитывали по формуле:

$$A = 100 \% - (\text{число свободных (неагрегированных) эритроцитов} \times \text{общее число эритроцитов}^{-1} \cdot 100 \%).$$

Концентрацию малонового диальдегида (МДА) определяли в плазме крови и эритроцитах по реакции с тиобарбитуровой кислотой спектрофотометрически: в центрифужную пробирку вносили 0,1 мл взвеси эритроцитов, добавляли 1,9 мл раствора антикоагулянта

(0,15 М KCl в 1 мМ ЭДТА) и тщательно перемешивали; затем приливали 2 мл ТХУ и 2 мл тиобарбитуровой кислоты, и вновь перемешивали. Пробирку помещали в кипящую водяную баню на 15 мин и после охлаждения при комнатной температуре центрифугировали 10 мин при 3000 об./мин. Центрифугат колориметрировали при зеленом светофильтре.

Также в крови гематологическим анализатором Abacus Junior 30 (Австрия) определяли распределение лейкоцитов, количество эритроцитов, содержание гемоглобина и гематокрита, средний объем эритроцита и содержание гемоглобина в одном эритроците.

Мониторинг АД осуществляли с помощью системы неинвазивного измерения “Систола” (Нейроботикс, Россия).

Полученные данные обработаны с помощью пакетов прикладных программ BIOSTAT (Analystsoft, США) и Microsoft Excel (Microsoft, США) с использованием методов одномерной статистики. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое, m — стандартная ошибка среднего. Достоверность различий средних определяли по t -критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного исследования было установлено, что через 24 ч в контрольной группе животных после моделирования АГ отмечалось значимое снижение ЭФПЭ, повышение степени агрегации эритроцитов и концентрации МДА (табл. 1).

Использование цитофлавина при моделировании АГ приводило к повышению ЭФПЭ до уровня intactных животных и снижению доли агрегированных эритроцитов к 7 сут исследования. Концентрация МДА восстанавливалась до относительной нормы уже на 1 сут после введения препарата и сохранялась на данном уровне до конца эксперимента.

Значения клинико-лабораторных показателей красной крови при моделировании АГ увеличивались относительно intactной группы (табл. 2). Напротив, при

Таблица 1. Влияние цитофлавина (0,2 мл/кг/сут внутрибрюшинно) на электрофоретическую подвижность эритроцитов, агрегацию и концентрацию МДА в эритроцитах при моделировании АГ у крыс ($M \pm m$)

Показатель	Intactные животные	Группа	Этап исследования		
			1 сут	3 сут	7 сут
ЭФПЭ, мкм · см · В ⁻¹ · с ⁻¹	0,97 ± 0,03	АГ	0,88 ± 0,04*	0,86 ± 0,01*	0,84 ± 0,04*
		АГ + цитофлавин	0,89 ± 0,07*	0,75 ± 0,04* [#]	0,90 ± 0,03 [#]
Агрегация эритроцитов, %	29,98 ± 2,17	АГ	56,9 ± 3,41*	57,85 ± 4,51*	58,72 ± 1,68*
		АГ + цитофлавин	48,93 ± 4,81*	53,13 ± 4,64*	32,79 ± 4,39 [#]
МДА, нМоль/мл	1,82 ± 0,42	АГ	2,91 ± 0,37*	1,96 ± 0,69	2,07 ± 0,45
		АГ + цитофлавин	1,89 ± 0,31	1,63 ± 0,28	1,27 ± 0,14 [#]

Здесь и в табл. 2, 3: АГ — артериальная гипертензия (контрольная группа), АГ + цитофлавин — введение цитофлавина при моделировании АГ (опытная группа).

* Статистически значимые различия относительно значений intactной группы, $p < 0,05$; [#] — статистически значимые различия опыта от контроля, $p < 0,05$.

Таблица 2. Влияние цитофлавина (0,2 мл/кг/сут внутрибрюшинно) на показатели красной крови при моделировании АГ у крыс (M ± m)

Показатель крови	Интактные животные	АГ	АГ + цитофлавин		
			1 сут	3 сут	7 сут
Эритроциты	6,43 ± 0,36	9,4 ± 0,18*	7,72 ± 1,78*	8,92 ± 0,48*	8,78 ± 0,22*
Гемоглобин	115,66 ± 0,77	167 ± 3,11*	143 ± 2,48*. [#]	142,5 ± 0,35*. [#]	146 ± 3,53*. [#]
Гематокрит	43,98 ± 0,34	51,62 ± 1,39	46,28 ± 1,38*	47,95 ± 3,21*. [#]	48,34 ± 0,81*. [#]
Средний V Eг	53,33 ± 0,44	57 ± 0,41*	60,33 ± 1,89*. [#]	54 ± 0,71*. [#]	55 ± 0,5
Среднее содержание Hb в Eг	17,33 ± 0,18	17,78 ± 0,39	18,9 ± 0,42*. [#]	16,05 ± 0,81*. [#]	16,56 ± 0,19*. [#]

использовании цитофлавина наблюдали снижение количества эритроцитов, гемоглобина, гематокрита относительно группы животных с АГ с первых суток применения цитофлавина. Средний объем эритроцита и содержание гемоглобина в одном эритроците уменьшались к 3 сут и сохранялись на сниженном уровне к 7 сут регистрации.

Введение цитофлавина при моделировании АГ определило снижение систолического АД на 7 сут исследования при тенденции к снижению диастолического АД относительно группы контроля (табл. 3).

Обсуждая полученные результаты, следует учитывать, что изменение свойств эритроцитарных мембран, сопровождающееся снижением их поверхностного заряда, вызывает образование эритроцитарных агрегатов, что повышает сопротивление кровотоку на уровне артериол и является важным фактором повышения АД [14]. Выявленное увеличение электроотрицательности мембраны эритроцитов при действии цитофлавина способствовало снижению агрегации эритроцитов, что, вероятно, связано со стабилизацией структуры мембран эритроцитов при уменьшении процессов липопероксидации. Данный факт отражен в уменьшении концентрации МДА в эритроцитах в данной работе и выявлен нами ранее в исследовании действия цитофлавина при черепно-мозговой травме [4].

Следует отметить, что цитофлавин снижает гематокрит, содержание эритроцитов и гемоглобина. Показано, что при различных формах АГ наблюдается устойчивое увеличение объемной доли эритроцитов и уменьшение объема плазмы, связанное с гиперпродукцией эритропоэтина вследствие гипоксии костного мозга [9]. На микроциркуляторном уровне патологическое увеличение гематокрита проявляется ухудшением перфузии тканей и органов, а на системном — ростом

общего периферического сопротивления и повышением АД. Вероятно, использование цитофлавина — препарата, обладающего антигипоксическим действием, вызывает опосредованное уменьшение количества эритроцитов в крови. Снижение количества гемоглобина в эритроците и среднего объема эритроцитов также способствует повышению эффективности циркуляции в системе кровообращения.

Кроме того, с учетом того, что повышение АД может быть связано с активацией симпатoadреналовой системы, следует отметить, что применение цитофлавина приводило к снижению активности стресс-реакции организма. Данный факт подтверждается повышением ЭФПЭ. Ранее нами было отмечено, что снижение ЭФПЭ связано с активацией симпато-адреналовой системы, тогда как повышение ЭФПЭ — с активацией гипоталамо-надпочечниковой системы и увеличением концентрации глюкокортикоидов, вызывающих ограничение развития первой фазы стресс-реакции организма [7].

Таким образом, результаты исследований показали, что при моделировании АГ на фоне цитофлавина наблюдаются уменьшение агрегационной способности эритроцитов, концентрации МДА, АД и увеличение ЭФПЭ. Снижение АД опосредовано улучшением функциональных и клинико-лабораторных показателей эритроцитов, что, в свою очередь, определено системным действием цитофлавина на организм. Выявленное действие цитофлавина позволяет расширить возможности его терапевтического использования в качестве средства, корректирующего метаболическое состояние организма при АГ и влияющего на эритроциты — клетки, определяющие микрореологию крови.

Таблица 3. Влияние цитофлавина (0,2 мл/кг/сут внутрибрюшинно) на АД крыс при моделировании АГ крыс

Показатель	Интактные животные	Группа	Этап исследования		
			1 сут	3 сут	7 сут
Систолическое АД, мм рт. ст.	110,5 ± 5,86	АГ	151 ± 11,93*	155 ± 11,06*	152 ± 4,72*
		АГ + цитофлавин	158 ± 10,96*	142 ± 4,72*	136 ± 1,04*. [#]
Диастолическое АД, мм рт. ст.	82 ± 4,73	АГ	113 ± 2,25	110 ± 3,54	111 ± 3,51
		АГ + цитофлавин	121 ± 11,75	104 ± 4,02	108 ± 5,48

ВЫВОДЫ

1. Цитофлавин при АГ вызывает рост ЭФПЭ и снижение степени агрегации эритроцитов к 7 сут исследования, тогда как значения данных показателей при АГ характеризовались снижением ЭФПЭ и ростом агрегации эритроцитов.

2. Цитофлавин снижает количество эритроцитов, гемоглобина, гематокрита, среднего объема эритроцита и содержание гемоглобина в одном эритроците относительно соответствующих показателей группы животных с АГ.

3. По-видимому, указанные эффекты цитофлавина определяют снижение систолического АД на 7 сут исследования при тенденции к снижению диастолического АД у крыс с АГ.

Работа проведена в рамках гранта Нижегородской области в сфере науки, технологий и техники № 316-06-16-40119 “Дифференциальная диагностика адаптационного резерва организма”.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Афанасьев, *Цитофлавин в интенсивной терапии: пособие для врачей*, Санкт-Петербург (2005).
2. И. Л. Виноградова, С. Ю. Багрянцева, Г. В. Дервиз, *Лаб. дело*, № 7, 424 – 426 (1980).

3. И. Г. Гордеев, Е. О. Таратухин, О. Ю. Шайдюк, *Клиническая физиология гемостаза*, Силиция-Полиграф, Москва (2013).
4. А. В. Дерюгина, А. В. Шумилова, *Ж. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*, **117**(11), 51 – 55 (2017); doi: 10.17116/jnevro201711711151 – 55.
5. Н. В. Кузьо, С. В. Тищенко, Н. Ю. Самойленко, В. В. Нифонтова, *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії*, **47**(3), 210 – 214 (2014).
6. Л. В. Карабут, *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*, **102**(6), 348 – 357 (2010).
7. В. Н. Крылов, А. В. Дерюгина, Е. А. Антипенко, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **79**(9), 29 – 32 (2016); doi: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2016-79-9-29-32>.
8. М. Б. Федорків, *Практична мед.*, № 6, 43 – 44 (2012).
9. А. Ю. Шаманаев, О. И. Алиев, А. М. Анищенко, А. В. Сидехменова, М. Б. Плотников, *Рос. кардиол. ж.*, **132**(4), 97 – 101 (2016); doi: 10.15829/1560-4071-2016-4-97-102.
10. А. Шилов, М. Мельник, А. Осия, *Врач*, № 6, 35 – 39 (2010).
11. А. В. Шумилова, А. В. Дерюгина, С. Ю. Гордлеева, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **81**(3), 20 – 23 (2018); doi: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2018-81-3-20-23>.
12. О. К. Baskurt, H. J. Meiselman, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, **53**(1 – 2), 23 – 37 (2013); doi: 10.3233/CH-2012-1573.
13. A. V. Deryugina, et al., *Biophysics*, **62**(6), 914 – 918 (2017); doi: 10.1134/S0006350917060033.
14. G. Cicco, S. Cicco, *Adv. Exp. Med. Biol.*, № 662, 33 – 9 (2010).

Поступила 21.01.20

EFFICACY OF CYTOFLAVIN ADMINISTRATION IN RATS WITH EXPERIMENTAL ARTERIAL HYPERTENSION

A. V. Deryugina^{1*} and E. A. Gracheva¹

¹ Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, prosp. Gagarina 23, Nizhny Novgorod, 603950 Russia

* e-mail: kfg.unn@mail.ru

Dynamics of the electrophoretic mobility of erythrocytes, aggregation of erythrocytes, concentration of malondialdehyde (MDA) in erythrocytes, and clinicilaboratory parameters of red blood cells under the action of cytoflavin (at a daily dose of 0.2 mL/kg for 7 days) was studied in rats under experimental arterial hypertension condition (AH). Results showed that the drug administration for 7 days led to an increase in the electrophoretic mobility of erythrocytes, decrease in their aggregation and MDA concentration, and decrease in the number of erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, and average volume of red blood cells and hemoglobin content per red blood cell as compared to the corresponding indices in the untreated control group of animals with AH. The administration of cytoflavin also caused a decrease in the systolic blood pressure on the 7th day of the study, with a tendency to a decrease in the diastolic blood pressure. The revealed drug effects can expand the possibilities of its therapeutic use as a means of correcting blood microrheology under AH conditions.

Keywords: erythrocytes; cytoflavin; arterial hypertension; rats.