

ЗАВИСИМОСТЬ ВЫРАЖЕННОСТИ ДЕЗАГРЕГАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ ДИБИКОРА ОТ ЕГО ПЛАЗМЕННЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ТИПА 2

Н. В. Рогова, А. А. Бочарников

Волгоградский Государственный Медицинский Университет, кафедра клинической фармакологии

С использованием малоуглового рассеяния на приборе «Light Scan» изучена взаимосвязь между интенсивностью дезагрегационного эффекта дибикора и его плазменной концентрацией у больных сахарным диабетом. Метод позволяет получить точные и воспроизводимые результаты.

Ключевые слова: агрегация тромбоцитов, малоугловое светорассеяние, дибикор, АДФ.

DEPENDENCE BETWEEN INTENSITY OF DESEGREGATIONS EFFECT OF DIBICOR AND ITS PLASMA CONCENTRATION IN PATIENT'S WITH DIABETES MELLITUS

N. V. Rogova, A. A. Bocharnikov

Volgograd State Medical University, chair of Clinical Pharmacology

Correlation between intensity of desegregations effect of dibicor and its plasma concentration in patient's with diabetes mellitus was studied using the method of low-angle light scattering on «Light-Scan». The method produced accurate and repeatable results.

Keywords: platelet aggregation, low-angle light detection, ADP, dibicor.

В России смертность от сердечно-сосудистых заболеваний составляет ~ 56,4 % от общего количества смертей. Ежегодно ~ 20 млн. случаев заболеваний в мире связаны с патологией сердечно-сосудистой системы, каждый 4-й со смертельным исходом. С такими темпами к 2020 году численность больных увеличится до 7,6 млн в год. Наибольшая частота встречаемости летальных исходов от сердечно-сосудистых заболеваний отмечена среди больных сахарным диабетом в Китае, Восточной Европе, России. В России ежегодно насчитывается ~ 0,5 млн человек страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями, из них только $\frac{1}{5}$ к нормальной жизнедеятельности, остальные — инвалидизация или смерть (многоцентровое исследование «PROGRESS» 2001 г.).

Сахароснижающие средства в той или иной степени выраженности обладают эффектами улучшающими гемореологию. В последние годы широко применяется дибикор в терапии сахарного диабета типа 2.

В связи с тяжелыми сердечно-сосудистыми осложнениями сахарного диабета типа 2, возникает необходимость контроля реологических свойств крови. Существуют различные методы и методики контроля параметров реологических свойств крови. Например такие как:

- регистрация параметров реологических свойств крови при помощи ротационного вискозиметра АКР-2 при скоростях сдвига от 300 с^{-1} до 3 с^{-1} , моделирующих интенсивность кровотока в сосудах разного калибра;

- агрегацию тромбоцитов и влияние на неё препаратов изучают на двухканальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов фирмы «Solar», «Биола», с

индуктором агрегации динатриевой солью аденозин-5-дифосфорной кислоты (АДФ). Оценку спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов проводят по кривым относительного среднего радиуса агрегатов с вычислением степени и скорости агрегации;

- агрегационная активность тромбоцитов анализируется на агрегометре «Трамлайт». Возможна оценка показателей: время достижения максимальной агрегации, степень агрегации и дезагрегации;

- агрегацию тромбоцитов проводят на приборе «Лайт-Скан», регистрируя малоугловое светорассеяние. Возможна оценка параметров: время достижения максимальной агрегации, — степень агрегации и дезагрегации, степень активации тромбоцитов (стадия сферизации и образование псевдоподий).

Таким образом «Лайт-Скан» позволяет оценить большее количество параметров.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить влияние фармакокинетики дибикора на выраженность его дезагрегационных эффектов с помощью адаптированной методики регистрации активации и агрегации тромбоцитов человека (разработанную Э.Ф. Дергачевым и др.[4]).

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование было включено 16 пациентов с сахарным диабетом типа 2, средней степени тяжести в состоянии субкомпенсации углеводного обмена. До включения в исследование «отмывочный период» составил 5 Т1/2. До и после лечения проводилось исследование реологических свойств крови.

Всем пациентам назначался дибикор по 500 мг 2 раза в день на 14 дней. Затем хроматографически определяли концентрации дибикора [хроматограф модели «HPLC-IOAvp» (Shimadzu Co., Ltd., Kyoto, Japan), оборудованный диодно-матричным детектором SPD-MЮА (Shimadzu Co., Ltd., Japan) и инжектором «Rheodyne модели 7725»; с петлей ввода на 20 мкл (Rheodyne, Cotati, CA 94928), хроматографическая колонка «SupelcoSil LC-8» (7,5 см x 4,6 мм со средним размером частиц 3 мкм)] и реологические свойства крови.

До начала исследования нами была разработана методика определения реологических свойств крови на аппарате «Лайт-Скан».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

За основу была взята модификация методики Э.Ф. Дергачева и др. [4], использующаяся в экспериментах на животных на кафедре фармакологии ВолГМУ [1]. При воспроизведении данной методики у людей были получены следующие результаты приведенные на рис. 1:

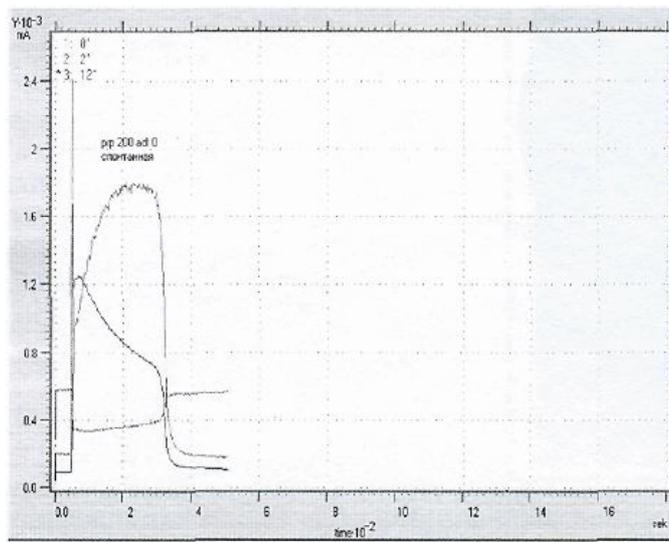


Рис. 1. Агрегтограмма при pH 9,0

Картины агрегации не наблюдалось, это мы связали с тем, что необходимо более точно подобрать среду (буфер). pH получаемого буфера составлял 8,9—9,2. Согласно литературным данным скорость агрегации максимальна при pH среды 7,8, и уменьшается при закислении среды. При pH 6,0 агрегация отсутствует [2]. Поэтому pH буфера довели до 7,8 0,1 М раствором HCl.

После преобразований видно, что агрегация происходит спонтанно. Это можно связать с тем, что кровь активировалась уже в шприце после прохождения через иглу, плюс воздействие отрицательного давления под поршнем. Поэтому приняли решение о необходимости забора крови самотеком, предварительно наполнив иглу раствором цитрата натрия. Первые 2—3 капли крови собирали в отдельную пробирку, так как кровь при первом прохождении через иглу может активиро-

ваться клетками тканевых покровов. Затем брали другую пробирку с 0,5 мл цитрата натрия и набирали кровь до отметки 5 мл. Активацию плазмы до эксперимента мы связали с наличием загрязнений на внутренней поверхности пробирок, а так же наличия мелких царапин. Пробирки должны быть максимально чистыми и абсолютно с ровными и гладкими поверхностями.

После соблюдения этих условий мы получили агрегтограмму без спонтанной агрегации. Однако при добавлении АДФ мы не видели стадии активации тромбоцитов, а сразу шла стадия агрегации. Мы предположили, что наличие Ca в среде ускоряет агрегацию и мы не видим стадии активации. Поэтому был приготовлен буферный раствор с ЭДТА и без Ca²⁺. Получили активаци, но при последующем добавлении в эту среду ионов Ca²⁺ в физиологической концентрации агрегации не наблюдали, что связано с переходом тромбоцитов в рефрактерное состояние [2]. Для решения этой задачи необходимо в экспериментах использовать два буферных раствора: с Ca²⁺ и без Ca²⁺.

Чтобы определить концентрацию АДФ, которая вызывает максимальную агрегацию тромбоцитов в кальциевой среде, мы титровали раствор АДФ. По литературным данным на поверхности тромбоцитов имеется 3 подтипа P2-рецепторов: P2X1-, P2Y1- и P2Y12-рецепторы [6]. Для прохождения агрегации необходима активация P2Y12-рецепторов. Последовательность действия АДФ на P2-рецепторы тромбоцитов располагается в следующем порядке: EC50P2X1 < EC50P2Y1 < EC50P2Y12 [2].

Проведена количественная оценка действия пуринов на процессы активации и агрегации тромбоцитов крысы и кролика методом малоуглового светорассеяния [2]. Получены значения EC50 АДФ, вызывающие активацию и агрегацию и отражающие последовательность действия агониста на P2X₁рецепторы (20—40 нМ), P2Y₁-рецепторы (90—110 нМ) и P2Y₁₂-рецепторы (120—240 нМ) [2]. Так как для прохождения агрегации необходима активация P2Y₁₂-рецепторов, то растворы АДФ титровали от 100 до 400 нМ. Данные экспериментов отражены на рис. 2. Оптимальное количество АДФ ~ 200 нМ.

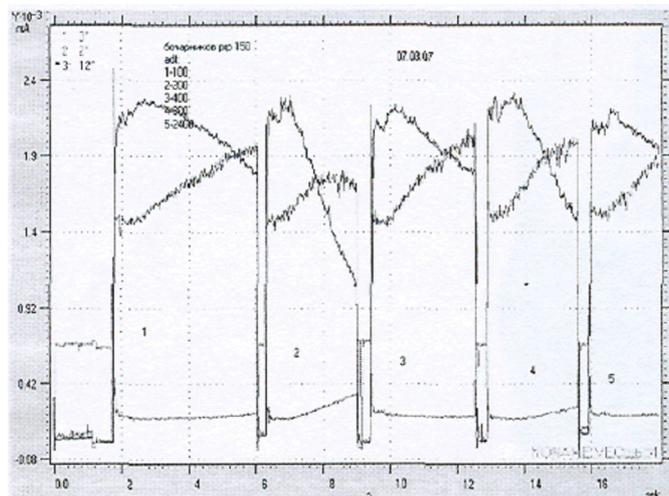


Рис. 2. Титры растворов АДФ

Параметры	n	До лечения	После лечения	P	A
		Mi+m	M2+т		В%к М
Вязкость крови:					
200	16	6,2±0,16	5,2±0,10	<0,05	-16%
150	16	6,5±0,12	5,9±0,11	<0,05	-9%
100	16	6,5±0,09	6,2±0,11	<0,05	-4%
50	16	7,1±0,14	6,9±0,12	<0,05	-3%
40	16	7,3±0,09	7,0±0,09	<0,05	-4%
30	16	8/7+ОД2	8,3±0,08	0,05	-5%
20	16	10,3±0,14	9,9±0,12	<0,05	-3%
гематокрит	16	0,44±0,01	0,45±0,01	>0,05	2%
Агрегация тромбоцитов [АДФ]2,5 мкМ					
Степень агрегации, %	16	43,28±12,34	19,09±10,45	<0,05	-56%
Ттах., с	16	202,12±17,23	199,52±99,45	>0,05	-1,3%
Скорость 30 с, %/с	16	34,53±4,13	26,12±3,46	<0,05	-24%
% дезагрегации	16	44,5±7,17	61,04±8,51	<0,05	+37%
Тип агрегаторграммы:					
Однофазная обратимая	16	54,12%	55,44%		
Двухфазная	16	21,15%	23,13%		
Двухфазная сливная	16	16,58%	21,43%		
Спонтанная агрегация	16	8,15%	0%		
Агрегация тромбоцитов [АДФ]200 нМ (Лайт-Скан)					
Степень агрегации, %	16	75,12±10,34	48,32±8,45	<0,05	-35,7%
Угол α, arctg (Vn/V0), μ	16	43,3±2,34	61,07±5,12	>0,05	+0,9%

С помощью разработанной методики у всех пациентов были определены параметры, позволяющие характеризовать гемореологические свойства крови (до и после курсовой терапии дибикором).

После курсовой терапии наблюдали улучшение реологических свойств крови. Данные представлены в таблице.

Хроматографическое определение концентрации дибикора в крови показало наличие линейной зависимости между концентрацией дибикора и выраженностью дезагрегационного эффекта.

Кроме того, у всех пациентов на терапии дибикором достигнута компенсация углеводного обмена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подобраны оптимальные условия проведения агрегации и активации плазмы, индуцированную АДФ, на приборе «Лайт-Скан». Для регистрации активации: солевая среда (140 mM NaCl, pH 7,8 Трис-буфер, ЭДТА — 5тМ, при концентрации тромбоцитов около 10⁶ кл/мл.), АДФ 200 нМ — оценивается изменением величины прироста сигнала (A) в I². В солевой среде (140 mM NaCl, pH 7,8 Трис-буфер, [Ca²⁺] — 1тМ, при концентрации тромбоцитов около 10⁶ кл/мл.) агрегация, регистрируемая по светорассеянию в I² градусном угле, носит однофазный характер. Такой вид кривой (рис.3) дает возможность характеризовать агрегацию углом наклона между этой кривой (V_n) и начальной скоростью агрегации (V₀). Чем острее этот угол, тем хуже агрегация.

Метод позволяет мониторировать реологические свойства крови при различных патологических состояниях. Мы будем использовать данную методику в нашей дальнейшей работе по изучению реологических свойств крови у больных сахарным диабетом типа 2, у которых особенно высок риск смертности от сосудистых осложнений.

Проведенное исследование показало, что используемый в терапии сахарного диабета дибикор обладает выраженной дезагрегационной эффективностью.

Установлена линейная зависимость между концентрацией дибикора и выраженностью его дезагрегационного эффекта.

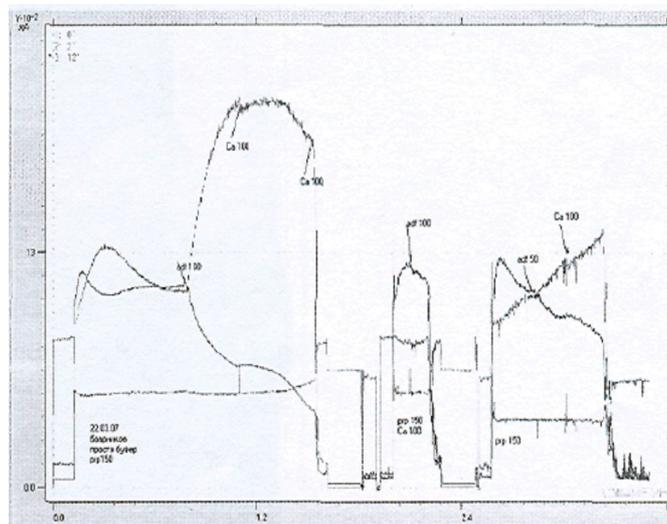


Рис. 3. Агрегаторграмма при АДФ 200нм

ЛИТЕРАТУРА

1. Деркачев Э. Ф., Миндукшее И. В., Криеченко А. И. и др. Патология физиологии микроциркуляции и гемостаза. — СПб., 1998.
2. Деркачев Э. Ф., Миндукшее И. В., Криеченко А. И., и др. Способ исследования активации и агрегации тромбоцитов. Патент RU 2108579 С1 6 GO I N33/49 (1996).
3. Миндукшее И. В. Исследование кинетики активации и агрегации тромбоцитов методом малоуг-

лового светорассеивания: автореф. дисс. — СБПГУ, 1996.

4. Стуковина А. Ю., Черников М. В., Гречко О. Ю. Тез. докл. VIII Регион, конф. молодых исследователей Волгоградской области. — Волгоград, 2003.
5. Сакаев М. Р., Миндукшее И. В., Лесиовская Е. Е. и др. // Эксперим. и клинич. фармакол. — 2000. — № 3.
6. Ralevic V., Burnstock J. // Pharmacol. Rev. — 1998. — Vol. 50, № 3. — P. 415—492.

УДК 618.19-006.6-089.87:618.11-089.87

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ РАСПРОСТРАНЕННОГО ГОРМОНОЗАВИСИМОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОСРЕДСТВОМ ОДНОМОМЕНТНОЙ РАДИКАЛЬНОЙ МАСТЭКТОМИИ И ЛАПАРОСКОПИЧЕСКОЙ ОВАРИОЭКТОМИИ

Р. А. Хвастунов, А. В. Куреев

Кафедра онкологии с курсом онкологии ФУВ ВолГМУ, Областной клинический онкологический диспансер

Статья посвящена возможностям интенсификации хирургического лечения рака молочной железы путем безопасного совмещения радикальной мастэктомии и лапароскопической овариоэктомии, показавшего высокую экономическую эффективность и сопровождающегося уменьшением общего числа послеоперационных осложнений.

Ключевые слова: рак молочной железы, открытая и лапароскопическая овариоэктомия, радикальная мастэктомия.

OPTIMIZING SURGICAL TREATMENT OF DISSEMINATED HORMONE-DEPENDENT BREAST CANCER BY MEANS OF RADICAL MASTECTOMY AND LAPAROSCOPIC OVARIECTOMY

R. A. Khvastunov, A. V. Kyreev

The paper describes ways of optimizing surgery for breast cancer by means of a safe combination of radical mastectomy and laparoscopic ovariectomy. Ample clinical evidence supports cost-efficiency of simultaneous radical mastectomy and laparoscopic ovariectomy followed by a reduction in the total amount of postoperative complications.

Key words: breast cancer, open and laparoscopic ovariectomy, radical mastectomy.

Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место в структуре онкологической заболеваемости женского населения как в России, так и за рубежом [1, 3]. У 15 % больных РМЖ исходно диагностируется стадия диссеминации [3, 6]. Снижение затрат и времени на лечение пациенток с диссеминированным и местно-распространенным РМЖ является актуальной задачей [6, 8]. В настоящее время доказана эффективность гормонотерапии при наличии в опухоли значимой концентрации рецепторов ER или PgR [4, 5, 7]. Совмещение радикальной мастэктомии (РМЭ) и лапароскопической овариоэктомии (ЛОЭ) при распространенном гормонозависимом РМЖ представляется нам одним из путей реализации данного направления [2, 4].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить клинические и фармакоэкономические аспекты данного хирургического подхода.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В нашей клинике с 1997 по 2007 гг. выполнено 228 РМЭ и овариоэктомий (ОЭ) в разных сочетаниях. Первую контрольную группу составили 62 больные, оперированные в объеме РМЭ и открытой овариоэктомии (ООЭ) в интервале. Вторая контрольная группа представлена 58 пациентками, которым произведены одномоментные РМЭ и ООЭ. Третью контрольную группу составили 32 женщины, перенесшие РМЭ и ЛОЭ в интервале. В четвертую основную группу были отобраны 76 пациенток с одномоментными РМЭ и ЛОЭ.

На раннем этапе работы мы выполняли ОЭ открытым способом, вторым этапом после РМЭ. Позже в связи с интенсификацией хирургической деятельности эти операции стали производить в один этап. Еще позже хирургия РМЖ в нашей клинике была дополнена эндовидеохирургической составляющей. Таким образом, от-