
EUROPEAN  **of Medicine.**
Journal **Series B**

Has been issued since 2014.
E-ISSN 2413-7464
2018. 5(1). Issued once a year

EDITORIAL BOARD

Pogorelov Maxim – Sumy State University, Sumy, Ukraine (Editor-in-Chief)
Grebenik Lyudmila – Sumy State University, Sumy, Ukraine
Goncharova Nadezhda – Research Institute of Medical Primatology, Sochi, Russian Federation
Garbuzova Victoriia – Sumy State University, Sumy, Ukraine
Goswami Sribas – Serampore College, West Bengal, India
Khodasevich Leonid – Sochi State University, Sochi, Russian Federation
Manilal Aseer – Arba Minch University, Ethiopia
Moskalenko Roman – Sumy State University, Sumy, Ukraine
Razvodovsky Yuri – Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Journal is indexed by: **CiteFactor** – Directory of International Research Journals (Canada), **Cross Ref** (USA), **Open Academic Journals Index** (USA)

All manuscripts are peer reviewed by experts in the respective field. Authors of the manuscripts bear responsibility for their content, credibility and reliability.

Editorial board doesn't expect the manuscripts' authors to always agree with its opinion.

Postal Address: 1367/4, Stara Vajnorska str., Bratislava – Nove Mesto, Slovakia, 831 04
Release date 15.12.18.
Format 21 × 29,7/4.

Website: <http://ejournal27.com/>
E-mail: ejm2013@mail.ru
Headset Georgia.

Founder and Editor: Academic Publishing House Researcher s.r.o. Order № 10.

© European Journal of Medicine. Series B, 2018

European Journal of Medicine. Series B

2018

Is. **1**

C O N T E N T S

Articles and Statements

Antioxidant and Membrane-Active Properties of 1,4,6 tri-o-galloyl-2,3-valoneyl- β -d-glucose U.G. Gaiibov, E.Dzh. Komilov, N.A. Ergashev, R.N. Rakhimov, N.G. Abdullazhanova, M.I. Asrarov, T.F. Aripov	3
Modern Results of Target Therapy on Metastatic Skin Melanoma (Literature Overview) G. Tleugabilova, A. Abdrashov	16
Investigation of the Mechanisms of Positive Inotropic Effect of (-)-Epigallocatechin 3-O-gallate S.S. Khushmatov, P.B. Usmanov, K.K. Nadjimova, U.G. Gayibov, N.G. Abdulladjanova	25
Evaluation of the Role of Polymorphic Locus of rs1138272 <i>GSTP1</i> Gene in the Development of Complications in Patients with Chronic Bronchitis G.F. Mukhammadiyeva, D.O. Karimov, T.G. Kutlina, Y.V. Valova, E.R. Kudoyarov, D.D. Karimov	50
Effectiveness of Unimag in the Treatment of Ulcerous Gingivitis N.K. Natsvlshvili, L. Kiparoidze	56
Peculiarities of Diagnostics of Lower Extremities Peripheral Artery Disease in Geriatric Patients G. Rozikhodjaeva, G. Aytimova	61
Clinical Observation of Iatrogenic Itsenko-Cushing's Syndrome at Patient with Bronchial Asthma V.A. Sergeeva, J.O. Kharkova, E.A. Ivanova	68

Letter to the Editor

Some Considerations about Impossibility of Informational Approach to the Problem of Electric Skin Impedance Effects of Essential Oils E. Adamovich	73
--	----

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
European Journal of Medicine. Series B
Has been issued since 2014.
E-ISSN: 2413-7464
2018, 5(1): 3-15

DOI: 10.13187/ejm.s.b.2018.1.3
www.ejournal27.com



Articles and Statements

Antioxidant and Membrane-Active Properties of 1,4,6 tri-o-galloyl-2,3-valoneyl-β-d-glucose

Ulugbek G. Gaiibov ^{a,*}, Esokhon Dzh. Komilov ^a, Nurali A. Ergashev ^a, Rakhmatilla N. Rakhimov ^a, Nodira G. Abdullazhanova ^a, Muzaffar I. Asrarov ^a, Takhir F. Aripov ^a

^a Institute of Bioorganic Chemistry named after acad. A.S. Sadykov, Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

Abstract

Functional parameters of mitochondria, such as cyclosporine sensitive megapore (mPTP), ATP-dependent K⁺ channel (mitoKATP), as well as inhibition of free-radical membrane oxidation under the conditions of normoxia play an important role in the functioning of mitochondria, and the cell as a whole. Disruption of the normal functioning of these parameters occurs in various pathological conditions. Thus, to study the effect of a new polyphenol compound 1,4,6 tri-O-galloyl-2,3-valoneyl-β-D-glucose, as an object of adjusting the functions of mitochondria in pathological conditions, in this paper we investigated the effect of this compound on ATP - dependent K⁺ channel and on cyclosporin sensitive time (mitochondrial permeability transition pore) in mitochondria from rat liver. Also, the study of the antioxidant activity of 1,4,6 tri-O-galloyl-2,3-valoneyl-β-D-glucose showed that this compound has a high antioxidant activity in Fe²⁺ ++ ascorbate-induced mitochondrial swelling.

Keywords: mPTP, mitoATP, antioxidant activity, anti-radical activity, polyphenolic compounds, hypoxia.

1. Введение

В исследованиях последних лет установлено, что митохондрии играют огромную роль в регуляции процессов апоптоза и некроза клетки (Владимиров, 2002; Dave et al., 2008; Tsujimoto, Shimizu, 2007). Основным функциональным параметром митохондрий в участии данных процессов является циклоспорин А-чувствительная митохондриальная пора (mitochondrial permeability transition pore, mPTP), через которую могут проникать молекулы размером до 1,5 kDa при ее открытом состоянии (Vianello et al., 2012). mPTP, также называемая митохондриальная Ca²⁺-зависимая мегапора, образована комплексом белков и представляет собой канал, проходящий через наружную и внутреннюю мембраны митохондрий (Пожилова, Левченкова и др., 2014). Открытое состояние mPTP приводит к массивному набуханию митохондрий, разрыву наружной мембраны и выпуску межмембранных компонентов в цитозоль, которые приводят к процессу апоптоза клеток. Накопление ионов Ca²⁺ в митохондриальном матриксе также является непосредственным

* Corresponding author

E-mail addresses: gayibov.ulugbek@gmail.com (U.G. Gayibov)

регуляторным механизмом открывания митохондриальной поры – ключевого звена в запуске программы клеточного апоптоза (Dave et al., 2008; Tsujimoto, Shimizu, 2007). Образование и открытие mPTP не является единственным механизмом выхода межмембранных компонентов митохондрий в цитоплазму. Однако перспективным направлением в коррекции гипоксии может стать изыскание лекарственных веществ, мишенью которых станет митохондриальная мегапора (Новиков, Левченкова, 2013).

Кроме того, в последнее время интерес к исследованию митохондриального АТФ-чувствительного калиевого канала (митоK_{АТР}-канал) также возрос, поскольку была установлена, что именно его активация, играет ключевую роль в защите органов и тканей от последствий ишемии/реперфузии (Akao et al., 2001) и помимо его важной роли, mitoK_{АТР}-канал играет огромную роль в адаптации организма к различным стресс фактором (Даниленко и др., 2010; Hund, Mohler, 2011). Известно, что открытие mitoK_{АТР}-канала приводит к деполяризации мембранного потенциала митохондрий и вызывает обратимое окисление флавопротеинов дыхательной цепи, тем самым увеличивая производство активных форм кислорода (АФК) в митохондриях (Samavati et al., 2002). Но в обзоре Пожилова и соавторы показывают, что природные метаболические активаторы mitoK_{АТФ}-канала – уридин и его нуклеотиды в микромолярных концентрациях значительно снижают зону инфаркта миокарда, нормализуют уровень АТФ, креатинфосфата и систем антиокислительной защиты, уменьшая образование АФК, а также нормализуют ритм сердечных сокращений на модели инфаркта миокарда крыс (Пожилова и др., 2014). Также упоминается, что открытие mitoK_{АТФ}-канала приводит к уменьшению АФК в клетках тканей, тем самым регулирует ее (Facundo et al., 2007; Ferranti et al., 2003; Fornazari et al., 2008). Таким образом, активация калиевого цикла при адаптации к стресс фактором и, следующее за этим снижение образования АФК, может объяснить известную защитную роль mitoK_{АТР}-канала при ишемии/реперфузии (Garlid, Halestrap, 2012; Meng et al., 2016).

Активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) зачастую является одним из пусковых механизмов ряда заболеваний, а также является усугубляющим фактором многих патологических состояний (Чеснокова и др., 2009; Lobo et al., 2010; Mylonas, Kouretas, 1999). При этом применение антиоксидантов в терапии различных патологических состояний организма замедляют протекание патологических состояний, обусловленные избытком свободных радикалов, поскольку антиоксиданты могут предупреждать активацию индуцированных свободнорадикальных реакций (Brewer, 2011). Таким образом, из приведенного выше материала можно заключить, что соединения, обладающие антиоксидантной активностью могут рассматриваться как перспективные универсальные средства в лечении и профилактике большого числа заболеваний.

Учитывая вышесказанное, в настоящее время актуальным считают исследования, посвященные механизмам действия растительных соединений на организм на молекулярном, мембранном и клеточном уровнях с целью обнаружения потенциальных фармакологических средств. Полифенольные соединения обладают очень широким спектром действия на биологические объекты, проявляя антиоксидантные, гепатозащитные, антигипоксические, мембранотропные и многие другие эффекты (Асраров и др., 2015; Рустамова и др., 2005; Цыбульский и др., 2011). В проявлении физиологических эффектов полифенолов на клетку могут сыграть их способность изменения проницаемости мембран митохондрий для различных ионов.

Таким образом, в настоящей работе изучено действие нового полифенольного соединения *1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкоза*, выделенного из растения *E.Canescens L.* (Рисунок 1), на некоторые функциональные параметры митохондрий, таких как mPTP, mitoK_{АТР}-канал и ПОЛ митохондрий печени крыс.

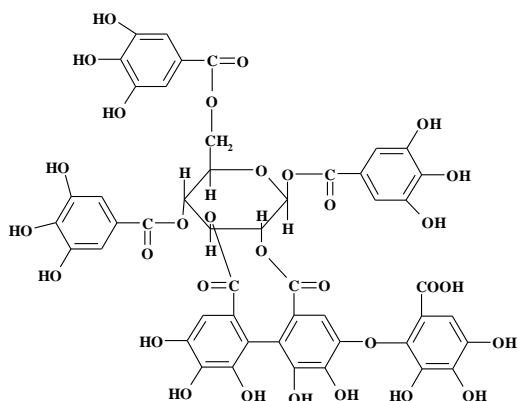


Рис. 1. Структурная формула 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкозы

2. Материалы и методы

Эксперименты проводились в лаборатории молекулярной биофизики при Институте биоорганической химии им. акад. А.С.Садыкова АН РУз. Эксперименты выполнялись в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с использованием животных», принятыми Международным советом медицинских научных обществ в 2012 г. ([Council for International Organizations...](#)).

В опытах использовали белых беспородных крыс с массой тела 200-220 г. Митохондрии выделяли из печени крыс методом дифференциального центрифугирования ([Schneider et al., 1948](#)). Печень промывали охлажденным раствором, после чего измельчали и гомогенизировали в 6-кратном объеме среды выделение в составе (в мМ): 250 сахарозы, 20 трис-НСl-буфера и 1 ЭДТА (рН 7,4). Для выделения митохондрий гомогенат центрифугировали 7 мин при 1500 об/мин ($\pm 2^\circ\text{C}$), затем супернатант центрифугировали 15 мин при 6 000 об/мин ($\pm 2^\circ\text{C}$). Осадок суспендировали в небольшом объеме среды, не содержащей ЭДТА, и хранили на льду при 4°C .

Состояние митохондриальной мегапоры, т.е. Ca^{2+} -зависимое набухание митохондрий регистрировали по изменению оптической плотности суспензии митохондрий (0,3-0,4 мг белка/мл) при 540 нм ([He, Lemasters, 2003](#)). Среда инкубации (СИ): сахароза – 200 мМ, KH_2PO_4 – 1 мМ, сукцинат – 5 мМ, Ca^{2+} -ЭГТА-буфер 20 – мкМ, Нерес – 20 мМ, трис-НСl – 20 мМ, ротенон – 2 мкМ, олигомицин – 1 мкг/мл, рН 7,2.

АТФ зависимого калиевого канала митохондрий (митокАТР-канала) регистрировали по падению оптической плотности при длине волны 540 нм и митохондрии вносили в среду инкубации следующего состава (в мМ): KCl-125, Нерес-10, сукцинат-5, MgCl_2 -1, K_2HPO_4 -2,5, KH_2PO_4 -2,5, ротенон-0,005 и олигомицин-0,001 ([Вадзюк, Костерин, 2008](#)).

Переокисное окисление липидов (ПОЛ) регистрировали по ингибированию Fe^{2+} /аскорбат-зависимого набухания митохондрий печени крыс фотометрическим методом в среде инкубации KCl - 125 мМ, трис-НСl – 10 мМ, рН 7,4, концентрации: FeSO_4 – 10 мкМ, аскорбат – 600 мкМ, при этом количестве белка в среде инкубации составляла 0,5 мг/мл ([Schneider et al., 1948](#)). Все эксперименты проводились при $24\text{-}26^\circ\text{C}$, чтобы целостность митохондрий сохранялась в течение инкубации. Содержание белка митохондрий определяли по методу Лоури в модификации Петерсона ([Peterson, 1977](#)).

Для оценки АРА была использована методика, основанная на способности антиоксидантов восстанавливать молекулы стабильного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ) в ходе измерения кинетики рекомбинации препаратов с ним ([Мельничук, 1985](#)). При добавлении исследуемых полифенолов в спиртовой раствор ДФПГ происходит изменение его окраски, что соответствует переходу ДФПГ в нерадикальную форму ([Гайибов и др., 2012](#)).

При обработке полученных данных использованы компьютерные программы Origin 6.1 (OriginLab Corporation, США). Величину $P < 0,05$ рассматривали как показатель достоверных различий.

3. Результаты и их обсуждение

Так как в обеспечении проницаемости мембран митохондрий ключевую роль играет Ca^{2+} -зависимая мРТР (Акопова и др., 2013), в следующих экспериментах изучали влияние 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы на активность мРТР (Рисунок 2). Внесение в инкубационную среду индуктора мРТР - ионов Ca^{2+} в концентрации 10 мкМ вызывает набухание митохондрий (Рисунок 2, конт.), что указывает на то, что мРТР находится в открытом состоянии. Циклоспорин А (ЦсА), специфический ингибитор мРТР, препятствует набуханию митохондрий в вышеуказанных условиях (Рисунок 2, ЦсА), т.е. мРТР остается в закрытом состоянии даже в присутствии ионов Ca^{2+} . По экспериментальным данным видно, что 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза в концентрации 50 мкМ, в присутствии ионов Ca^{2+} , ингибирует открытие мРТР на 18,6%, а в концентрациях 200 мкМ подавляет ее открывание на 89,7% по сравнению с контролем. Полученные результаты показывают, что 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза в зависимости от концентрации ингибирует открывание мРТР печени крыс. Ранее (Гайбов и др., 2017) было изучено влияние данного соединения на пассивную проницаемость различных одно- и двухвалентных катионов. Было показано, что 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза увеличивает пассивную проницаемость для одновалентных катионов. Можно было бы предположить, что индукция пассивной проницаемости мембран под действием 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы, вызывает набухание органелл, падение мембранного потенциала ψ и открытие мРТР. Однако полученные нами результаты не соответствуют этому предположению. По нашим результатам, 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза одновременно увеличивая пассивную проницаемость (Гайбов и др. 2017), оказывает ингибирующее влияние на мРТР. Это, возможно, связано с антиоксидантными свойствами 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы (Гайбов и др., 2017), оказывающий стабилизирующий эффект на мембраны.

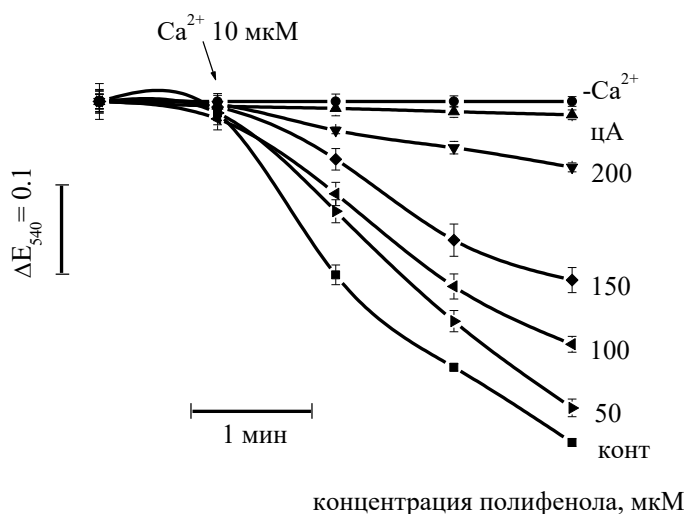


Рис. 2. Действие различных концентраций 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза на набухание митохондрий печени

СИ (мМ): сахараза - 200, K_2HPO_4 - 1, сукцинат - 5, Ca^{2+} -ЭГТА-буфер 0,02, Hepes - 20, трис- HCl - 20, ротенон - 0,002, pH 7,2; белок митохондрий 0,3- 0,4 мг/мл; (**- $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$; n=3-5).

Ионы калия являются главным ионным компонентом не только цитоплазмы, но и митохондриального матрикса. Направление электрического поля на внутренней мембране митохондрий, благоприятствует транспорту ионов калия из цитоплазмы в матрикс. Таким образом, наличие любых K^+ -селективных каналов, включая митоКАТР-канала, во внутренней мембране митохондрий, будет сопровождаться изменениями

митохондриального объема и регуляцией состояния Ca^{2+} -зависимой mPTP. Модуляция проводимости митоКАТР-канала лежит в основе изменения митохондриальных функций при разных гипоксических состояниях, однако физиологическая роль этого феномена не вполне ясна (Акопова et al., 2011). На Рисунке 3 приведены данные экспериментов с использованием 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы как активатора митоКАТР-канала.

Полученные результаты показывают, что 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза начиная с концентрации 10 и 20 мкМ активирует митоКАТР-канал (Рисунок 3). А при концентрациях 80 мкМ и выше наблюдается выход на плато. Учитывая, что действие 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза на активность митоКАТР-канала происходит дозозависимо, следует особо отметить, что данное действие 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза на митоКАТР-канал имеет вид графика насыщения.

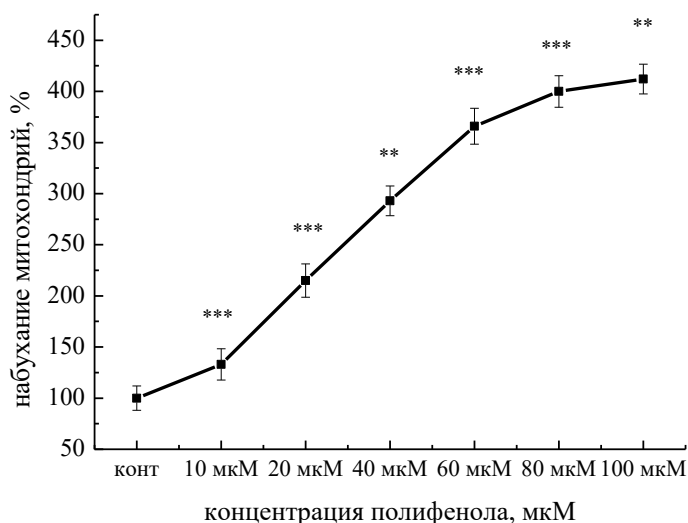


Рис. 3. Влияние 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы на активность АТФ-зависимого K^+ -канала митохондрий

СИ при содержании АТФ: 125 мМ КСl, 1 мМ MgSO_4 , 2,5 мМ K_2HPO_4 , 2,5 мМ KH_2PO_4 , 10 мМ Nepes , 5 мМ сукцинат, ротенон 5 мкг/мл, 1 мкг/мл олигомицин, pH 7,4. (** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$; $n=4$)

Согласно работе (Акопова и др., 2011) mPTP переходит в открытое состояние в результате индукции ПОЛ и образования АФК, и закрывается в присутствии антиоксидантов (Асраров и др., 2015). В связи с этим изучено действие различных концентраций 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы на процесс ПОЛ митохондриальных мембран, индуцированный системой Fe^{2+} /аскорбат в опытах *in vitro*. Внесение в инкубационную среду систему Fe^{2+} /аскорбат индуцирует ПОЛ, в результате чего нарушается барьерная функция митохондриальных мембран, и органеллы резко набухают по сравнению с контролем (Рисунок 4). В условиях индукции ПОЛ, внесение в инкубационную среду 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы, начиная с концентрации 2 мкМ, наблюдается ингибирование набухания митохондрий, что свидетельствует об его антиоксидантных свойствах. Эффект 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы на ПОЛ в мембранах митохондрий зависел от его концентрации, т.е. с её увеличением в инкубационной среде процент ингибирования становился более выраженным. Полное ингибирование набухания митохондрий печени, т.е. процесса ПОЛ, отмечалось при концентрации равной 10 мкМ изучаемого соединения. При этом значение концентрации, вызывающей полумаксимальное ингибирование процесса ПОЛ (IC_{50}), для данного полифенольного соединения составило $6,08 \pm 0,06$ мкМ. Таким образом, в опытах показано, что 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза обладает высокой АОА.

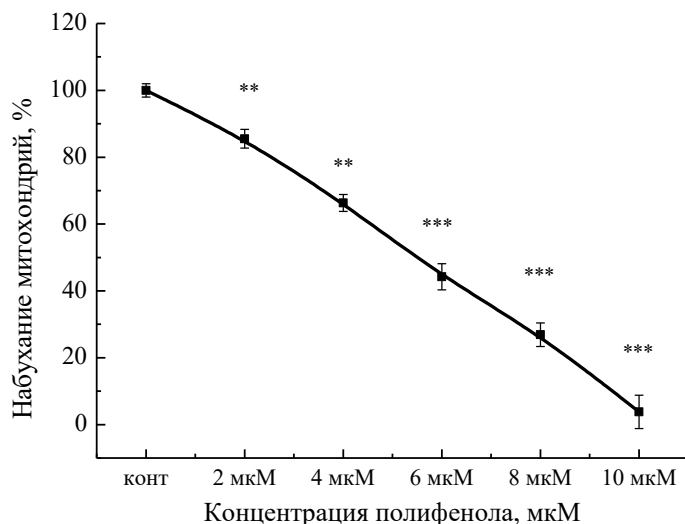


Рис. 4. Действие 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкоза на Fe²⁺+аскорбат-индуцированное набухание митохондрий печени крыс KCl – 125, трис-HCl – 10, рН 7,4; FeSO₄ – 0,01, аскорбата – 0,6; белок митохондрий 0,3-0,4 мг/мл; (** – P<0,01, *** – P<0,001; n=4).

Определение конечных продуктов перекисного окисления липидов является классическим методом изучения антиоксидантных свойств биологически активных соединений.

В литературе АОА полифенолов связывают как с их способностью хелатировать различные ионы металлов (Tripathi, Rastogi, 1981), так и непосредственно взаимодействовать с активными формами кислорода: O₂[•] (Takahama, 1985), ОН-радикалами (Takahama, 1984) и синглетным кислородом (Takahama et al., 1984). Кроме того, полифенолы могут взаимодействовать и/или связывать компоненты реакционной среды (Riedl et al., 2002), что может приводить к искажению результатов. Применение Fe²⁺+аскорбат-индуцированного метода не позволяет непосредственно оценить вклад каждого из этих эффектов в общую антиоксидантную активность препаратов.

Кроме этого, в обзоре Надеевой и Гончаровой представлены данные о токсических свойствах АФК в клетках. В норме высокие концентрации АФК характерны только для фагоцитов, а других клетках является признаком оксидативного стресса. Оксидативный стресс повышает проницаемость гематотканевых барьеров; так как, АФК вносят решающий вклад в развитие патологии (Надеев, Гончаров, 2014). По результатам квантовохимического моделирования определена, что взаимодействия сульфгидрильных групп с радикалами АФК происходит по кислотно-основному механизму, причем гидроокси-радикалы (•ОН) выступает как основание, а супероксид-анион-радикалы (•OO⁻) как кислота (Solovyova, Kuznetsova, 2015). В этом отношении полезно использовать соединения, несущие свободную валентность, каковым является стабильные органические радикалы (Гайилов и др., 2017), которые взаимодействует с радикалами АФК (Jiménez et al., 2004). К примеру, орто-замещенные дифенолы имеют четыре электрона, которые могут восстанавливать различные радикалы (Починок и др., 1985). В связи с этим антирадикальная активность полифенолов может быть связана непосредственно с их АОА.

В связи с этим исследовали антирадикальную активность полифенола 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкозы. Для этого нами была использована методика, основанная на способности антиоксидантов восстанавливать молекулы 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ) (Гайилов и др., 2012). Мы изучали кинетику рекомбинации препарата со стабильным радикалом ДФПГ. При добавлении исследуемого вещества в спиртовой раствор ДФПГ происходит изменение окраски раствора, что соответствует переходу ДФПГ в нерадикальную форму. На Рисунке 5 (экспериментальными точками)

представлена кинетика изменения оптической плотности раствора ДФПГ при добавлении исследуемого препарата.

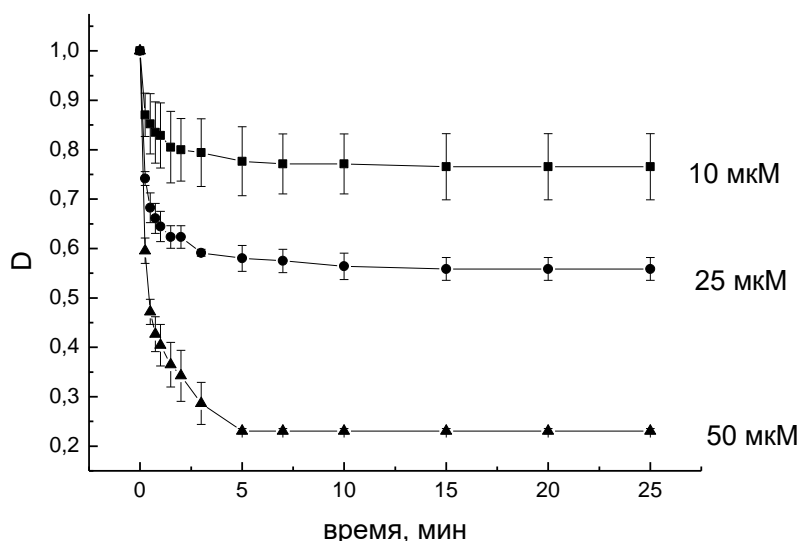


Рис. 5. Кинетические изменения относительной оптической плотности спиртового раствора ДФПГ при изучении антирадикальной активности 1,4,6 три-O-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкозы. Концентрация ДФПГ 0,1 мМ

По полученным результатам видно, что исследуемое соединение обладает высокой антирадикальной активностью, восстанавливая свободный радикал ДФПГ в течении первых 1,5-2 мин, и имеет высокий коэффициент корреляции с его АОА ($r = 0.94$).

4. Заключение

Известно, что полифенольные соединения проявляют антиоксидантное, противовоспалительное, иммуномодулирующее и многие другие действия, что создает предпосылки для создания на их основе лекарственных препаратов. При этом предпочтение отдается выше изученному полифенольному соединению, в связи с его меньшей токсичностью и способностью хорошо растворяться в воде.

Антигипоксантная активность соединений в определенной степени определяется их влиянием на структуру мембран митохондрий, процессы свободнорадикального окисления и на процесс окислительного фосфорилирования.

Обнаруженная ранее М.И. Асраровым и др. (Асраров и др., 2015) тенденция к улучшению влияния полифенольных соединений на некоторые функциональные характеристики митохондрий, послужила основанием для предположения о возможном антигипоксантном действии 1,4,6 три-O-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкозы.

5. Благодарности

Авторы выражают искреннюю благодарность руководителю экспериментально-технологической лаборатории Института биоорганической химии им. акад. А.С.Садыкова АН РУз – д.х.н., проф. С.М. Мавлянову за любезное предоставление 1,4,6 три-O-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкозы.

Литературы

Акопова и др., 2011 – Акопова О.В., Колчинская Л.И., Носарь В.И., Смирнов А.Н., Мальшева М.К., Маньковская И.Н., Сагач В.Ф. (2011). Влияние открытия митохондриальной поры на продукцию активных форм кислорода в митохондриях мозга крыс. Укр. биохим. журнал, 83(6): 46-55.

Акопова и др., 2013 – Акопова О.И., Носарь В.И., Маньковская И.Н., Сагач В.Ф. (2013). Влияние Са²⁺-индуцированного открывания циклоспорин чувствительной поры на

потребление кислорода и функциональное состояние митохондрий печени крыс. *Укр. биохим. журнал*, 85(5): 37-49.

[Асраров и др., 2015](#) – Асраров М.И., Комилов Э.Дж., Эргашев Н.А., Позилов М.К., Эшбакова К.А., Тошматов З.А., Ташбекова М.Х. (2015). К механизму действия флавонола лютеолина на функции митохондрий печени крыс. *Вопр. биол. мед. и фарм. химии*, 12: 38-43.

[Вадзюк, Костерин, 2008](#) – Вадзюк О.Б., Костерин С.А. (2008). Индуцированное диазоксидом набухание митохондрий миокарда крыс как свидетельство активации АТФ-чувствительного K⁺-канала. *Укр. биохим. журнал*, 80(5): 45-51.

[Владимиров, 2002](#) – Владимиров Ю.А. (2002). Нарушение барьерных свойств внутренней и наружной мембран митохондрий, некроз и апоптоз. *Биологические мембраны*, 19(5): 356-377.

[Гайибов и др., 2012](#) – Гайибов У.Г., Камаев Ф.Г., Арипов Т.Ф. (2012). Исследование взаимодействия госсипола с ДФПГ в различных растворителях методом ЯМР. *Доклады Академии Наук РУз*, 3: 49-53.

[Гайибов и др., 2017](#) – Гайибов У.Г., Комилов Э.Дж., Эргашев Н.А., Рахимов Р.Н., Абдуллажанова Н.Г., Асраров М.И., Арипов Т.Ф. (2017). Влияние полифенольного соединения ПС-1 на проницаемость мембран митохондрий печени крыс. *Доклады Академии Наук РУз*, №2.

[Гайибов и др., 2017](#) – Гайибов У.Г., Комилов Э.Дж., Эргашев Н.А., Рахимов Р.Н., Абдуллажанова Н.Г., Асраров М.И., Арипов Т.Ф. (2017). Антиоксидантные и мембраноактивные свойства ПС-1. *Узбекский биологический журнал*, 2: 19-23.

[Даниленко и др., 2010](#) – Даниленко Л.М., Локровский М.В., Королев А.Е., Кочкаров В.И., Романова Т.А., Татаринова И.А. (2010). Митохондриальные атф-зависимые калиевые каналы как точка приложения действия при дистантном прекондиционировании. *Научные ведомости. Серия Медицина, Фармация*. 22(93): 12/2: 15-18.

[Надеев, Гончаров, 2014](#) – Надеев А.Д., Гончаров Н.В. (2014). Активные формы кислорода в клетках сердечно-сосудистой системы. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*, 4: 80-94. DOI: 10.17802/2306-1278-2014-4-80-94

[Новиков, Левченкова, 2013](#) – Новиков В.Е., Левченкова О.С. (2013). Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия. *Экспериментальная и клиническая фармакология*, 76(5): 37-47.

[Пожилова, Левченкова и др., 2014](#) – Пожилова Е.В., Левченкова О.С., Новиков В.Е. (2012). Регуляторная роль митохондриальной поры и возможности её фармакологической модуляции. *Обзоры по клин. фарм. и лекар. терапии*, 12: 13-19.

[Починок и др., 1985](#) – Починков Т.В., Тараховский М.Л., Портнягина В.А., Денисова М.Ф., Вонсяцкий В.А., Александров А.Н., Мельничук В.А. (1985). Экспресс-метод определения антирадикальной активности лекарственных веществ. *Хим. Фарм. журн.*, 5: 565-567.

[Рустамова и др., 2005](#) – Рустамова Р.П., Иргашева Г.М., Хушбактова З.А., Клемешева Л.С., Ширинова И.А., Алматов К.Т. (2005). Влияние некоторых флавоноидов на энергетический метаболизм митохондрий. *Сообщение 1. Вопр. биол., мед. и фарм. хим.* 4: 39-45.

[Цыбульский и др., 2011](#) – Цыбульский А.В., Попов А.М., Артюков А.А., Костецкий Э.Я., Кривошапка О.Н., Мазейка А.Н., Козловская Э.П. (2011). Сравнительное изучение лечебного действия лютеолина, розмариновой кислоты и эхинохрома А при экспериментальной кардиопатологии, индуцированной стрессом. *Биомед. химия*. 57(3): 314-325.

[Чеснокова и др., 2009](#) – Чеснокова Н.П., Моррисон В.В., Понукалина Е.В., Афанасьева Г.А., Бизенкова М.Н., Барсуков В.Ю., Морозова О.Л., ПолUTOва Н.В., Жевак Т.Н. (2009). О роли активации свободнорадикального окисления в структурной и функциональной дезорганизации биосистем в условиях патологии. *Фундаментальные исследования*, 5: 122-130.

[Akao et al., 2001](#) – Akao M., Ohler A., O'Rourke B., Marban E. Mitochondrial ATF-sensitive potassium channels inhibit apoptosis induced by oxidative stress in cardiac cells. *Circ. research.*, 2001, 88: 1267.

Akopova et al., 2011 – Akopova O.V., Kolchinskaya L.I., Nosar V.I., Smirnov A.N., Malysheva M.K., Mankovska I.N., Sagach V.F. (2011). The effect of permeability transition pore opening on reactive oxygen species production in rat brain mitochondria. *Український біохімічний журнал*, 2011, 83(6).

Brewer, 2011 – Brewer M.S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comp. rev. food science & food safety.*, 2011, 10(4): 221-247. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x

Council for International Organizations... – (Internet) 2012. International guiding principles for biomedical research involving animals. (Cited 5 August 2014). Available at: <http://www.cioms.ch/images/stories/CIOMS/IGP2012.pdf>

Dave et al., 2008 – Dave Z., Byfield M., Bossy-Wetzel E. Assessing mitochondrial outer membrane permeabilization during apoptosis. *Methods*, 2008, 46(4): 319-23. DOI: 10.1016/j.ymeth.2008.10.019

Facundo et al., 2007 – Facundo H.T., de Paula J.G., Kowaltowski A.J. Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels are redox-sensitive pathways that control reactive oxygen species production. *Free Radic Biol Med.*, 2007, 42(7): 1039-48. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.01.001

Ferranti et al., 2003 – Ferranti R., da Silva M.M., Kowaltowski A.J. Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel opening decreases reactive oxygen species generation. *FEBS Lett.*, 2003, 536(1-3): 51-5. DOI: 10.1016/S0014-5793(03)00007-3

Fornazari et al., 2008 – Fornazari M., de Paula J.G., Castilho R.F., Kowaltowski A.J. Redox properties of the adenosine triphosphate-sensitive K⁺ channel in brain mitochondria. *J. Neurosci. Res.*, 2008, 86(7): 1548-56. DOI: 10.1002/jnr.21614

Garlid, Halestrap, 2012 – Garlid K.D., Halestrap A.P. The mitochondrial K(ATP) channel--fact or fiction? *J Mol Cell Cardiol.*, 2012, 52(3): 578-83. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2011.12.011

Hund, Mohler, 2011 – Hund T.J., Mohler P.J. Differential roles for SUR subunits in KATP channel membrane targeting and regulation. *Am. J Physiol Heart Circ Physiol.*, 2011, 300(1): 33-5. DOI: 10.1152/ajpheart.01088.2010

Jiménez et al., 2004 – Jiménez A., Selga A., Torres J.L., Julià L. Reducing activity of polyphenols with stable radicals of the TTM series. Electron transfer versus H-abstraction reactions in flavan-3-ols. *Org Lett.*, 2004, 6(24): 4583-6. DOI: 10.1021/ol048015f

Lobo et al., 2010 – Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.*, 2010, 4(8): 118-26. DOI: 10.4103/0973-7847.70902

Meng et al., 2016 – Meng L.M., Ma H.J., Guo H., Kong Q.Q., Zhang Y. The cardioprotective effect of naringenin against ischemia-reperfusion injury through activation of ATP-sensitive potassium channel in rat. *Can J Physiol Pharmacol.*, 2016, 94(9): 973-8. DOI: 10.1139/cjpp-2016-0008

Mylonas, Kouretas, 1999 – Mylonas C., Kouretas D. Lipid peroxidation and tissue damage. *In Vivo*, 1999, 13(3): 295-309.

Peterson, 1977 – Peterson G.L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. Which is more generally applicable. *Analytical biochemistry*, 1977, 83(2): 346-56. DOI: 10.1016/0003-2697(77)90043-4

Riedl et al., 2002 – Riedl K.M., Carando S., Alessio H.M., Carthy M.Mc. (2002). Antioxidant Activity of Tannins and Tannin-Protein Complexes: Assessment In Vitro and In Vivo. *Free radicals in Food.*, 2002, 807: 188-200.

Samavati et al., 2002 – Samavati L., Monick M.M., Sanlioglu S., Buettner G.R., Oberley L.W., Hunninghake G.W. Mitochondrial K(ATP) channel openers activate the ERK kinase by an oxidant-dependent mechanism. *Am J Physiol.*, 2002, 283(1): 273-81. DOI: 10.1152/ajpcell.00514.2001

Schneider et al., 1948 – Schneider W.C., Hageboom G.H., Pallade G.E. Cytochemical studies of mammalian tissues; isolation of intact mitochondria from rat liver; some biochemical properties of mitochondria and submicroscopic particulate material. *J. Biol. Chem.*, 1948, 172(2): 619-35.

Solovyova, Kuznetsova, 2015 – Solovyova N.V., Kuznetsova T.Y. Quantum chemical modeling of antioxidant activity of glutathione interacting with hydroxyl- and superoxide anion radicals. *Ukr.biochem. j.*, 2015, 87(2): 156-162. DOI: 10.15407/ubj87.02.156

Takahama, 1984 – Takahama U. Hydrogen peroxide-dependent oxidation of flavonols by intact spinach chloroplasts. *Plant Physiol.*, 1984, 74: 852-855.

Takahama, 1985 – Takahama U. O₂-dependant and –independent photooxidation of quercetin in the presence and absence of riboflavin and effects of ascorbate on the fotooxidation. *Photochemistry and Photobiology*, 1985, 42: 89-91.

Takahama, Youngman et.al, 1984 – Takahama U., Youngman R.J., Elstner E.F. Transformation of quercetin by singlet oxygen generated by a photosensitized reaction, 1984, 7: 175-181.

Takei et al., 1994 – Takei M., Hiramatsu M., Mori A. Inhibitory effects of calcium antagonists on mitochondrial swelling induced by lipid peroxidation or amchidonic acid in the rat brain in vitro. *Neurochemical research*, 1994, 19(9): 1199-1206.

Tripathi, Rastogi, 1981 – Tripathi V.D., Rastogi R.P. Flavonoids in biology and medicine. *J Sci Ind Res.*, 1981, 40: 116-24

Tsujimoto, Shimizu, 2007 – Tsujimoto Y., Shimizu S. Role of the mitochondrial membrane permeability transition in cell death. *Apoptosis*, 2007, 12(5): 835-40. DOI: 10.1007/s10495-006-0525-7

Vianello et al., 2012 – Vianello A., Casolo V., Petrussa E., Peresson C., Patui S., Bertolini A., Passamonti S., Braidot E., Zancani M. The mitochondrial permeability transition pore (PTP) – an example of multiple molecular exaptation? *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1817(11): 2072-86. DOI: 10.1016/j.bbabi.2012.06.620

References

Akao et al., 2001 – Akao M., Ohler A., O'Rourke B., Marban E. (2001). Mitochondrial ATF-sensitive potassium channels inhibit apoptosis induced by oxidative stress in cardiac cells. *Circ. research.*, 88: 1267.

Akopova et al., 2011 – Akopova O.V., Kolchinskaya L.I., Nosar V.I., Smirnov A.N., Malysheva M.K., Mankovska I.N., Sagach V.F. (2011). The effect of permeability transition pore opening on reactive oxygen species production in rat brain mitochondria. *Український біохімічний журнал*, 83(6).

Akopova i dr., 2011 – Akopova, O.V., Kolchinskaya, L.I., Nosar', V.I., Smirnov, A.N., Malysheva, M.K., Man'kovskaya, I.N., Sagach, V.F. (2011). Vliyanie otkrytiya mitokhondrial'noi pory na produktsiyu aktivnykh form kisloroda v mitokhondriyakh mozga kryss. *Ukr. biokhim. zhurnal*, 83(6): 46-55. [in Russian]

Akopova i dr., 2013 – Akopova, O.I., Nosar', V.I., Man'kovskaya, I.N., Sagach, V.F. (2013). Vliyanie Ca²⁺-indutsirovannogo otkryvaniya tsiklosporin chuvstvitel'noi pory na potreblenie kisloroda i funktsional'noe sostoyanie mitokhondrii pecheni kryss. *Ukr. biokhim. zhurnal*, 85(5): 37-49. [in Russian]

Asrarov i dr., 2015 – Asrarov, M.I., Komilov, E.Dzh., Ergashev, N.A., Pozilov, M.K., Eshbakova, K.A., Toshmatov, Z.A., Tashbekova, M.Kh. (2015). K mekhanizmu deistviya flavona lyuteolina na funktsii mitokhondrii pecheni kryss. *Vopr. biol. med. i farm. khimii*, 12: 38-43. [in Russian]

Brewer, 2011 – Brewer M.S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comp. rev. food science & food safety*. 10(4): 221-247. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x

Chesnokova i dr., 2009 – Chesnokova, N.P., Morrison, V.V., Ponukalina, E.V., Afanas'eva, G.A., Bizenkova, M.N., Barsukov, V.Yu., Morozova, O.L., Polutova, N.V., Zhevak, T.N. (2009). O roli aktivatsii svobodnoradikal'nogo okisleniya v strukturnoi i funktsional'noi dezorganizatsii biosistem v usloviyakh patologii. *Fundamental'nye issledovaniya*, 5: 122-130. [in Russian]

Council for International Organizations... – (Internet) 2012. International guiding principles for biomedical research involving animals. (Cited 5 August 2014). Available at: <http://www.cioms.ch/images/stories/CIOMS/IGP2012.pdf>

Danilenko i dr., 2010 – Danilenko, L.M., Lokrovskii, M.V., Korolev, A.E., Kochkarov, V.I., Romanova, T.A., Tatarenkova, I.A. (2010). Mitokhondrial'nye atf-zavisimye kalievye kanaly kak tochka prilozheniya deistviya pri distantnom preconditsionirovani. *Nauchnye vedomosti. Seriya Meditsina, Farmatsiya*. 22(93): 12/2: 15-18. [in Russian]

[Dave et al., 2008](#) – Dave Z., Byfield M., Bossy-Wetzel E. (2008). Assessing mitochondrial outer membrane permeabilization during apoptosis. *Methods*, 46(4): 319-23. DOI: 10.1016/j.ymeth.2008.10.019

[Facundo et al., 2007](#) – Facundo H.T., de Paula J.G., Kowaltowski A.J. (2007). Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels are redox-sensitive pathways that control reactive oxygen species production. *Free Radic Biol Med.* 42(7): 1039-48. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.01.001

[Ferranti et al., 2003](#) – Ferranti R., da Silva M.M., Kowaltowski A.J. (2003). Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel opening decreases reactive oxygen species generation. *FEBS Lett.*, 536(1-3): 51-5. DOI: 10.1016/S0014-5793(03)00007-3

[Fornazari et al., 2008](#) – Fornazari M., de Paula J.G., Castilho R.F., Kowaltowski A.J. (2008). Redox properties of the adenosine triphosphate-sensitive K⁺ channel in brain mitochondria. *J. Neurosci. Res.* 86(7): 1548-56. DOI: 10.1002/jnr.21614

[Gaiibov i dr., 2012](#) – Gaiibov, U.G., Kamaev, F.G., Aripov, T.F. (2012). Issledovanie vzaimodeistviya gossipola s DFPG v razlichnykh rastvoritelyakh metodom YaMR. *Doklady Akademii Nauk RUz*, 3: 49-53. [in Russian]

[Gaiibov i dr., 2017](#) – Gaiibov, U.G., Komilov, E.Dzh., Ergashev, N.A., Rakhimov, R.N., Abdullazhanova, N.G., Asrarov, M.I., Aripov, T.F. (2017). Vliyanie polifenol'nogo soedineniya PS-1 na pronitsaemost' membran mitokhondrii pecheni krys. *Doklady Akademii Nauk RUz*, №2. [in Russian]

[Gaiibov i dr., 2017](#) – Gaiibov, U.G., Komilov, E.Dzh., Ergashev, N.A., Rakhimov, R.N., Abdullazhanova, N.G., Asrarov, M.I., Aripov, T.F. (2017). Antioksidantnye i membranoaktivnye svoystva PS-1. *Uzbekskii biologicheskii zhurnal*, 2: 19-23. [in Russian]

[Garlid, Halestrap, 2012](#) – Garlid K.D., Halestrap A.P. (2012). The mitochondrial K(ATP) channel--fact or fiction? *J Mol Cell Cardiol.*, 52(3): 578-83. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2011.12.011

[Hund, Mohler, 2011](#) – Hund T.J., Mohler P.J. (2011). Differential roles for SUR subunits in KATP channel membrane targeting and regulation. *Am. J Physiol Heart Circ Physiol.* 300(1): 33-5. DOI: 10.1152/ajpheart.01088.2010

[Jiménez et al., 2004](#) – Jiménez A., Selga A., Torres J.L., Julià L. (2004). Reducing activity of polyphenols with stable radicals of the TTM series. Electron transfer versus H-abstraction reactions in flavan-3-ols. *Org Lett.*, 6(24): 4583-6. DOI: 10.1021/ol048015f

[Lobo et al., 2010](#) – Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.*, 4(8): 118-26. DOI: 10.4103/0973-7847.70902

[Meng et al., 2016](#) – Meng L.M., Ma H.J., Guo H., Kong Q.Q., Zhang Y. (2016). The cardioprotective effect of naringenin against ischemia-reperfusion injury through activation of ATP-sensitive potassium channel in rat. *Can J Physiol Pharmacol.*, 94(9): 973-8. DOI: 10.1139/cjpp-2016-0008

[Mylonas, Kouretas, 1999](#) – Mylonas C., Kouretas D. (1999). Lipid peroxidation and tissue damage. *In Vivo*, 13(3): 295-309.

[Nadeev, Goncharov, 2014](#) – Nadeev, A.D., Goncharov, N.V. (2014). Aktivnye formy kisloroda v kletkakh serdechno-sosudistoi sistemy. *Kompleksnye problemy serdechno-sosudistyykh zabolevaniy*, 4: 80-94. DOI: 10.17802/2306-1278-2014-4-80-94 [in Russian]

[Novikov, Levchenkova, 2013](#) – Novikov, V.E., Levchenkova, O.S. (2013). Novye napravleniya poiska lekarstvennykh sredstv s antigipoksicheskoi aktivnost'yu i misheni dlya ikh deistviya. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*, 76(5): 37-47. [in Russian]

[Peterson, 1977](#) – Peterson G.L. (1977). A simplification of the protein assay method of Lowry et al. Which is more generally applicable. *Analytical biochemistry*, 83(2): 346-56. DOI: 10.1016/0003-2697(77)90043-4

[Pochinok i dr., 1985](#) – Pochinok, T.V., Tarakhovskii, M.L., Portnyagina, V.A., Denisova, M.F., Vonsyatskii, V.A., Aleksandrov, A.N., Mel'nichuk, V.A. (1985). Ekspres-metod opredeleniya antiradikal'noi aktivnosti lekarstvennykh veshchestv. *Khim. Farm. zhurn.*, 5: 565-567. [in Russian]

[Pozhilova, Levchenkova idr., 2014](#) – Pozhilova, E.V., Levchenkova, O.S., Novikov, V.E. (2012). Regulyatornaya rol' mitokhondrial'noi pory i vozmozhnosti ee farmakologicheskoi modulyatsii. *Obzory po klin. farm. i lekar. terapii*, 12: 13-19. [in Russian]

[Riedl et al., 2002](#) – Riedl K.M., Carando S., Alessio H.M., Carthy M.Mc. (2002). Antioxidant Activity of Tannins and Tannin-Protein Complexes: Assessment In Vitro and In Vivo. *Free radicals*

in *Food.*, 807: 188-200.

Rustamova i dr., 2005 – Rustamova, R.P., Irgasheva, G.M., Khushbaktova, Z.A., Klemesheva, L.S., Shirinova, I.A., Almatov, K.T. (2005). Vliyanie nekotorykh flavonov na energeticheskii metabolizm mitokhondrii. *Soobshchenie 1. Vopr. biol., med. i farm. khim.* 4: 39-45. [in Russian]

Samavati et al., 2002 – Samavati L., Monick M.M., Sanlioglu S., Buettner G.R., Oberley L.W., Hunninghake G.W. (2002). Mitochondrial K(ATP) channel openers activate the ERK kinase by an oxidant-dependent mechanism. *Am J Physiol.*, 283(1): 273-81. DOI: 10.1152/ajpcell.00514.2001

Schneider et al., 1948 – Schneider W.C., Hageboom G.H., Pallade G.E. (1948). Cytochemical studies of mammalian tissues; isolation of intact mitochondria from rat liver; some biochemical properties of mitochondria and submicroscopic particulate material. *J. Biol. Chem.*, 172(2): 619-35.

Solovyova, Kuznetsova, 2015 – Solovyova N.V., Kuznetsova T.Y. (2015). Quantum chemical modeling of antioxidant activity of glutathione interacting with hydroxyl- and superoxide anion radicals. *Ukr.biochem. j.*, 87(2): 156-162. DOI: 10.15407/ubj87.02.156

Takahama, 1984 – Takahama U. (1984). Hydrogen peroxide-dependent oxidation of flavonols by intact spinach chloroplasts. *Plant Physiol.*, 74: 852-855.

Takahama, 1985 – Takahama U. (1985). O₂-dependant and –independent photooxidation of quercetin in the presence and absence of riboflavin and effects of ascorbate on the fotooxidation. *Photochemistry and Photobiology*, 42: 89-91.

Takahama, Youngman et.al, 1984 – Takahama U., Youngman R.J., Elstner E.F. (1984). Transformation of quercetin by singlet oxygen generated by a photosensitized reaction, 7: 175-181.

Takei et al., 1994 – Takei M., Hiramatsu M., Mori A. (1994). Inhibitory effects of calcium antagonists on mitochondrial swelling induced by lipid peroxidation or amchidonic acid in the rat brain in vitro. *Neurochemical research*, 19(9): 1199-1206.

Tripathi, Rastogi, 1981 – Tripathi V.D., Rastogi R.P. (1981). Flavonoids in biology and medicine. *J Sci Ind Res.*, 40: 116-24

Tsujimoto, Shimizu, 2007 – Tsujimoto Y., Shimizu S. (2007). Role of the mitochondrial membrane permeability transition in cell death. *Apoptosis*, 12(5): 835-40. DOI: 10.1007/s10495-006-0525-7

Tsybul'skii i dr., 2011 – Tsybul'skii, A.V., Popov, A.M., Artyukov, A.A., Kostetskii, E.Ya., Krivoshepa, O.N., Mazeika, A.N., Kozlovskaya, E.P. (2011). Sravnitel'noe izuchenie lechebnogo deistviya lyuteolina, rozmarinovoii kisloty i ekhinokhroma A pri eksperimental'noi kardiopatologii, indutsirovannoi stressom. *Biomed. khimiya.*, 57(3): 314-325. [in Russian]

Vadzyuk, Kosterin, 2008 – Vadzyuk, O.B., Kosterin, S.A. (2008). Indutsirovannoe diazoksidom nabukhanie mitokhondrii miometriya krys kak svidetel'stvo aktivatsii ATF-chuvstvitel'nogo K⁺-kanala. *Ukr. biokhim. zhurn*, 80(5): 45-51. [in Russian]

Vianello et al., 2012 – Vianello A., Casolo V., Petrusa E., Peresson C., Patui S., Bertolini A., Passamonti S., Braidot E., Zancani M. (2012). The mitochondrial permeability transition pore (PTP) – an example of multiple molecular exaptation? *Biochim Biophys Acta*, 1817(11): 2072-86. DOI: 10.1016/j.bbabi.2012.06.620

Vladimirov, 2002 – Vladimirov, Yu.A. (2002). Narushenie bar'ernykh svoistv vnutrennei i naruzhnoi membran mitokhondrii, nekroz i apoptoz. *Biologicheskie membrany*, 19(5): 356-377. [in Russian]

Антиоксидантные и мембраноактивные свойства 1,4,6 три-о-галлоил-2,3-валонил-β-d-глюкозы

Улугбек Г. Гайибов^{а,*}, Эсохон Дж. Комилов^а, Нурали А. Эргашев^а, Рахматилла Н. Рахимов^а, Нодира Г. Абдуллажанова^а, Музаффар И. Асраров^а, Тахир Ф. Арипов^а

^а Институт Биоорганической химии АН РУз имени акад. А.С. Садыкова, Ташкент, Узбекистан

* Корреспондирующий автор

Адреса электронной почты: gayibov.ulugbek@gmail.com (У.Г. Гайибов)

Аннотация. Функциональные параметры митохондрий, такие как циклоспоринчувствительная мегапора (mPTP), АТФ-зависимый K⁺-канал (mitoKATP), а также ингибирование свободно-радикального окисления мембран в условиях нормоксии играют важную роль при функционировании митохондрий, и клетки в целом. Нарушение нормального функционирования данных параметров возникает при различных патологических состояниях. Таким образом, для изучения действия нового полифенольного соединения *1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкозы*, как объекта корректировки функций митохондрий в патологических состояниях, в данной работе исследовано влияние данного соединения на АТФ-зависимый K⁺-канал и на циклоспоринчувствительную пору (mitochondrial permeability transition pore) в митохондриях из печени крыс. Также изучение антиоксидантной активности *1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкозы* показало, что данное соединение обладает высокой антиоксидантной активностью при Fe²⁺+аскорбат-индуцированном набухании митохондрий.

Ключевые слова: mPTP, mitoATP, антиоксидантная активность, антирадикальная активность, полифенольные соединения, гипоксия.

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
European Journal of Medicine. Series B
Has been issued since 2014.
E-ISSN: 2413-7464
2018, 5(1): 16-24

DOI: 10.13187/ejm.s.b.2018.1.16
www.ejournal27.com



Modern Results of Target Therapy on Metastatic Skin Melanoma (Literature Overview)

Gulnar Tleugabilova ^{a, *}, Alibek Abdrashov ^a

^a Kazakh Medical University of Continuing Education, the Republic of Kazakhstan

Abstract

A review of literature data showed that due to the achievements of molecular biology, practical oncologists presented with a number of markers or «targets» for targeted therapy, which allowed individualizing antitumor treatment, improved its effectiveness and quality of patient's life. Previously using standard treatment schemes helped to achieve a frequency of objective responses in 7-12 % of cases, while by applying targeted drugs, this indicator has grown to 50 %.

Keywords: skin melanoma, MAPK, signaling pathways, mutation of BRAF genes, targeted therapy.

1. Введение

Меланома кожи традиционно считается одной из самых агрессивных, устойчивых к химиотерапии, склонных к метастазированию опухолей, с неблагоприятным прогнозом. По прогнозу Всемирной организации здравоохранения, в ближайшие 10 лет заболеваемость меланомой кожи в мире увеличилась на 25 % (Davis, Schlessinger, 2012; Проценко, Новик, 2014).

В США 10-15 % вновь выявленных случаев меланомы имеют метастазы. Пятилетняя выживаемость пациентов с метастатической меланомой составляет 10-15 % (Chakraborty, Wieland, 2013; Miler, Mihm, 2006).

На сегодняшний день по данным онкологической службы республики Казахстан (РК) рак кожи (в том числе меланома) находятся на втором месте в структуре онкопатологии среди населения. Показатель заболеваемости раком кожи (без меланомы) в 2014 г. составил 19,8 ‰ (19,3 ‰ – 2013 г). Заболеваемость раком кожи и меланомы определилась первым рангом в Восточно-Казахстанской и Карагандинской областях. Заболеваемость раком кожи была высокой в Восточно-Казахстанской (41,8 ‰), Северо-Казахстанской (31,9 ‰), Карагандинской (31,7 ‰), Костанайской (27,5 ‰), Акмолинской (24,7 ‰), областях и в г. Алматы (30,9 ‰) (Нургазиев, Байпеисов, 2015; Джамалдинов, Тлеугабилова, 2014).

В 2017 г. в РК на диспансерном учете состояло более 200 тыс. пациентов, ежегодно регистрируется 320-350 новых случаев. Несмотря на то, что заболеваемость меланомой кожи от общего числа онкозаболеваний составляет менее 2 %, а от онкодерматологии не более 4-10 %, смертность составляет 80 % от всех новообразований кожи (В Казахстане растет заболеваемость меланомой...; Bertolotto, 2013).

* Corresponding author

E-mail addresses: gulnar_tb@mail.ru (G. Tleugabilova), alibek.kz_91@mail.ru (A. Abdrashov)

Все известные этиологические факторы меланомы кожи можно разделить на экзогенные (факторы окружающей внешней среды) и эндогенные (факторы внутренней среды организма). Развитие молекулярно-генетической диагностики помогло понять этиологическую гетерогенность меланомы кожи. Эпидемиологические данные имеют противоречивые данные с одной стороны – это то, что ультрафиолетовое облучение является главным внешним фактором, а с другой – меланома кожи часто развивается и на закрытых участках тела. Озлокачествление невусов происходит в 25 % случаев, в 75 % случаев меланома кожи возникает из отдаленных кожных меланоцитов (Bertolotto, 2013).

По некоторым литературным данным в 5-14 % случаев меланома кожи является наследственным заболеванием (Goldstein, Tucker, 2001; Hansson, 2010).

С введением в клиническую практику молекулярной онкологии, появилась возможность рационального использования таргетных препаратов при метастатических формах меланомы.

2. Обсуждение

Таргетная терапия – это воздействие на опухолевые «мишени» (белки, рецепторы, гены), имеющие важнейшее («критическое») значение для развития злокачественной опухоли. Принцип таргетной терапии основан на патогенетических нарушениях, ответственных за опухолевую трансформацию и прогрессию. Приобретение клеткой неопластических свойств характеризуется непрерывной и устойчивой стимуляцией сигнальных путей, инициирующих клеточную пролиферацию и ряд других биологических эффектов-адгезию, инвазию, ангиогенез. Наблюдается также дисфункция со стороны элементов, обеспечивающих контроль клеточного цикла-рост ингибирующих факторов (TGF- β) ингибиторов циклинзависимых киназ (p21, p16), генов-супрессоров и их белковых продуктов p53, PTEN, pRb), вызывающих остановку цикла в G-, S-, G-, или M-фазах или естественную гибель клеток (апоптоз) (Нургазиев, Тлеугабилова, 2015).

Внутриклеточные сигнальные пути представляют из себя сложный каскад механизмов, и направлены на передачу сигналов к ядру клетки, для стимуляции пролиферации, миграции, неоангиогенеза и обеспечивают выживаемость клетки. Изменение или мутация в одной из этих цепочек, имеют далеко идущие последствия.

Всего в организме несколько сигнальных путей, к хорошо изученным относятся: PI3K, Wnt, цАМФ и MAPK. Каждая из этих сигнальных путей имеют свои уникальности. Но в данный момент, хотелось бы остановиться на MAPK (mitogen – activated protein kinase), так как ингибиторы BRAF действуют именно на этот сигнальный путь (Рисунок 1).

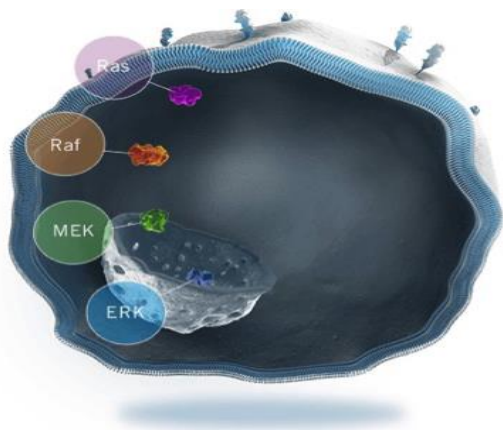


Рис. 1. MAPK (mitogen-activated protein kinase) сигнальный каскадный путь

Сигнальный путь Ras-Raf-MEK-ERK представляет собой цепь последовательно взаимодействующих белков, в том числе MEK (mitogen-activated protein kinase), которые передают сигнал с поверхности клеточного рецептора клетки внутрь ядра, к ДНК. Участники сигнального пути взаимодействуют между собой с помощью фосфорилирования и

дефосфорилирования. Эти процессы и являются механизмами активации и деактивации белков сигнального каскада (Писарева, 2017).

Активация упомянутого каскада может происходить как за счет вовлечения рецепторов (факторов роста, находящихся на поверхности опухолевой клетки), так и вследствие мутации в генах семейства RAS, RAF, участвующих в регуляции клеточного роста. В случае мутации белки RAS теряют способность гидролизовать связанный с ними ГТФ (гуанозинтрифосфат) в ГДФ (гуанозиндифосфат), что сопровождается утратой механизма негативной ауторегуляции. Имеющиеся нарушения приводят к постоянной активации RAS/RAF/MEK/МАК сигнального каскада и, как следствие, злокачественной трансформации клеток. Активирующие RAS- мутации встречаются достаточно часто при злокачественных опухолях, примером является K-RAS. Частота RAS-мутаций (N-RAS) при меланоме не велика, составляет около 15-20 %, причем не зависит от инсоляции, гистологического типа и локализации опухоли. Наиболее изученными эффекторами белка RAS являются RAF и PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase). Семейство серин/треонинкиназ RAF включает три белка: RAF, BRAF и GRAB: RAF является первичным звеном в сигнальном каскаде RAS и MARK (Fecber, Cummings, 2007).

В 2002 г. рядом ученых была выявлена высокая частота BRAF онкогенных мутаций при меланоме: от 62 % до 72 % (Davies, Bignell, 2002; Pollock, Meltzer, 2002). Однако при ранней стадии заболевания мутации BRAF отмечены только в 10 % случаев и это позволило предположить, что BRAF мутации не могут участвовать в инициации большинства меланом, но отражают прогрессирование заболевания, что может иметь важное прогностическое значение. Примечательно, что в большинстве случаев мутации N-RAS и BRAF не присутствуют вместе в одной меланоме, предполагается их функциональная избыточность. Наличие мутаций BRAF описано и при других злокачественных опухолях (раке щитовидной железы, раке яичников, колоректальном раке).

Открытие новых мишеней послужило началу многочисленных исследований. На Рисунке 2 показаны основные молекулярные мишени и исследуемые таргетные препараты при меланоме (Fecber, Cummings, 2007).

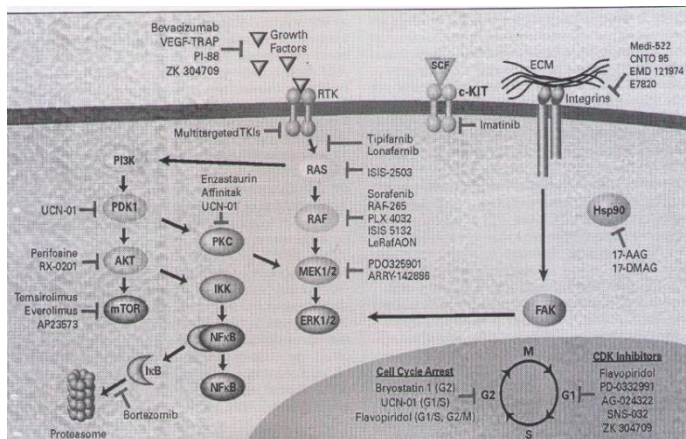


Рис. 2. Основные молекулярно-генетические мишени и исследуемые таргетные препараты

Поразительные результаты исследований эффективности препарата PLX4032, действие которого селективно направлено против мутации BRAF V600E, были представлены на 15-ом конгрессе ECCO и 34 –ом конгрессе ESMO в 2009 году. Исследования I и II фазы продемонстрировали, что применение PLX4032 в дозе 960 мг дважды в день позволяет достичь объективных ответов у 70 % ранее леченных больных метастатической меланомой с мутацией BRAF V600E, а медиана времени без прогрессирования увеличилась до 6 месяцев. Основными видами токсичности были кожная сыпь, боль, слабость. Таким образом, результаты исследований PLX4032 дали надежду на появление нового высокоэффективного препарата для лечения меланомы. В конце 2009 г. начато исследование III фазы применения PLX4032, как первой линии терапии метастатической меланомы (Flaberty, Puzanov, 2009; Jackson, 2009).

В настоящее время насчитывается 26 исследований по применению таргетной терапии у больных меланомой с наличием мутации BRAF. Внимания заслуживает также препарат ACD6244, селективный ингибитор белка MEK, способствующий прерыванию сигнального каскада на уровне BRAF/MAP/.

Patel S. с соавторами провели анализ результатов использования ACD6244 в сочетании с химиотерапией. Показана прямая зависимость эффективности лечения от наличия BRAF мутации. При таком типе лечебного ответа не наблюдалось, частота объективных ответов при наличии BRAF мутации составила 20 % (у 5 из 25 больных). Медиана времени до прогрессирования составила соответственно 6 и 9 месяцев (Patel, Lasar, 2010).

Применение сорафениба-ингибитора тирозинкиназ семейства RAF (BRAF, GRAF), рецепторов VEGFR, PDGFR, C-kit и эрлотиниба – ингибитора EGFR в монорежиме при метастатической меланоме оказалось неэффективным.

Ранее проведенные исследования по оценке эффективности иматиниба (тирозинкиназного ингибитора PDGFR, C-kit, BCR –ABL) также не оказались позитивными. Однако отмечено, что при редких формах меланомы: акральной и меланоме слизистых оболочек, наличие мутаций C-kit может иметь клиническое значение. Частота C-kit при меланоме слизистых оболочек акральных областей составляет от 11 % до 21 %. Следует отметить, что число мутаций увеличивается до 70 % у пациентов азиатского региона (Guo, Si, 2010).

Описан практически полный регресс опухоли у больного с метастатической меланомой прямой кишки при наличии C-kit мутации, сохраняющийся в течении года, на фоне лечения иматинибом (Hodi, Friedlander, 2008).

Данные исследований, представленных на ASKO в 2010 г., подтвердили эффективность сунитиниба при меланоме с C-kit мутацией. Медиана общей выживаемости «перешагнула» 8-месячный порог, а продолжительность времени до прогрессирования у трех пациентов составила более 12 месяцев (Minor, O Day, 2010; Tiyani, Luadadio, 2010).

Таким образом, изучение эффективности таргетных препаратов (иматиниба, сунитиниба) при меланоме слизистых оболочек и акральной области при наличии C-kit мутации является на сегодняшний день перспективным направлением.

В 2010г. начинается новое мультицентровое исследование II фазы (N1LOMEL) эффективности нилотиниба, как первой линии нерезектабельной или метастатической меланомы с мутацией C-kit.

Prickett T. с соавторами опубликовали интересные данные о наличии мутации ERBB4 (HER4), определяющей чувствительность опухоли к лапатинибу при меланоме в 19 % случаев (Prickett, Agrawal, 2009).

Высокоэффективным экспериментальным препаратом, способствующим увеличению общей выживаемости больных с метастатической меланомой, на ASKO в 2010г. заявлен ипилимумаб как возможный новый стандарт в лечении этого заболевания. Ипилимумаб является моноклональным гуманизированным антителом против Т-лимфоцитассоциированного антигена 4 (CTLA-4) В исследование было включено 676 пациентов с метастатической или нерезектабельной меланомой. Использование ипилимумаба в сочетании с пептидной вакциной привело к увеличению медианы выживаемости до 10 месяцев по сравнению с 6,4 месяцами в группе пациентов, леченных только вакциной (P <001). Монотерапия ипилимумабом в сравнении с лечением вакциной продемонстрировала следующие показатели: общая выживаемость больных в течение 12 месяцев составила 46 % против 25 %, а в течение 24 месяцев – 24 % против 14 %. Ипилимумаб обладает умеренной токсичностью, причем от 10 % до 15 % составляют иммунозависимые осложнения 3-4 степени, требующие назначения супрессивной терапии, включая стероиды. Авторами планируются дальнейшие исследования эффективности терапии меланомы, в том числе комбинированной: Ipilimumab+PLX4032, Ipilimumab + Tremelimumab (Hodi, O Day, 2010).

Ингибиторы BRAF V600 действуют на сигнальный путь Ras-Raf-MEK-ERK. Первым зарегистрированным BRAF ингибитором является вемурафениб, вторым – дабрафениб. Оба препарата селективно связываются с мутированной BRAF-киназой, блокируя постоянно активированные сигнальные пути и их нисходящую активность (Davis, Schlessinger, 2012).

Авторы McArthur G.A. et al сравнивали оба препарата с дакарбазином (BRIM 3 и BREAK3). В сравнительных исследованиях BRIM 3 и BREAK3 оба препарата показали почти

одинаковые результаты, относительный риск составил 0,38 и 0,35 соответственно. Медиана выживаемости без прогрессирования на таргетных препаратах составил 6,9 месяцев, а на дакарбазине 1,6 месяцев (McArthur, 2014; Hauschild, Grob, 2012).

Нужно отметить и о мутациях внутри кодона BRAF V600. Самым распространенным считается мутация BRAF V600E, по некоторым данным частота замены валина на глутаминовую кислоту встречается в 80-90 % случаях, редко встречаются мутации в кодоне BRAF V600K (замена валина на лизин), BRAF V600 (замена валина на аргинин), BRAF V600D (замена валина на аспаргиновую кислоту), BRAF V600M (замена валина на метионин). Есть мнение, что вемурафениб более активен по отношению к мутации в кодоне BRAF V600E, и в то же время дабрафениб такую избирательность не проявлял, и был одинаково эффективен по отношению к BRAF V600E/K (El Osta, Falchook, 2011; Amanuel, Grieu, 2012).

Развитие толерантности к ингибиторам BRAF V600 натолкнула на мысль ингибировать не только онкоген BRAF в сигнальном пути Ras-Raf-MEK-ERK, но и киназу MEK. Как уже выше было упомянуто, сигнал от Raf к MEK может передаваться не только по пути BRaf, но и через ARaf и CRaf. В результате появилась комбинация BRAF и MEK ингибиторов. Вемурафениб в комбинации с кобиметенибом, дабрафениба в комбинации с траметенибом. В исследовании с BRIM выживаемость без прогрессирования составила 9,9 месяцев для вемурафениба с кобиметенибом. В исследовании COMBI-d в комбинации дабрафениба с траметенибом показали схожие результаты, медиана выживаемости без прогрессирования составила 9,3 месяца (Larkin, 2014; COMBI-d...). Рисунок 3.

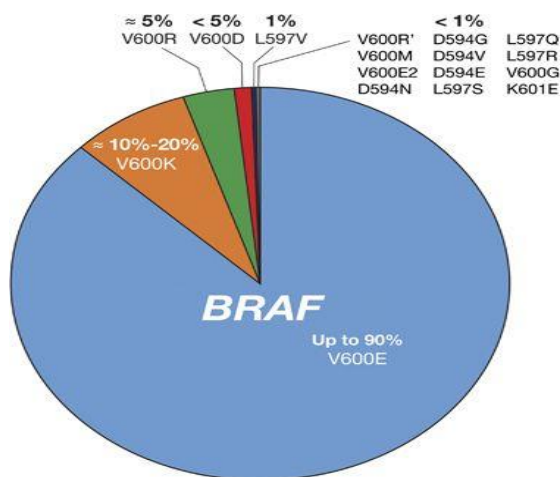


Рис. 3. Мутации внутри кодона BRAF V 600 (Bradish, Cheng, 2014).

3. Заключение

Таким образом, благодаря достижениям фундаментальных наук, в первую очередь молекулярной генетики, появилась надежда на прогресс в лечении такой «малоперспективной» до последнего времени опухоли, как меланома.

Литература

В Казахстане растет заболеваемость меланомой... – В Казахстане растет заболеваемость меланомой и раком кожи: как предотвратить болезнь [Электронный ресурс]. URL: <https://tengrinews.kz/medicine/kazakhstan-rastet-zabolevaemost-melanomoy-rakom-koji-318146>

Джамалдинов, Тлеугабилова, 2014 – Джамалдинов Д.Д., Тлеугабилова Г.А. Заболеваемость меланомой в Республике Казахстан в зависимости от солнечной активности. XVIII Российский онкологический конгресс. Журнал «Злокачественные опухоли», 2014, №3(10). С. 313-314.

Нургазиев, Байпеисов, 2015 – Нургазиев К.Ш., Байпеисов Д.М., Ауэзова Э.Т. и др. Показатели онкологической службы республики Казахстан за 2014 г. (статистические материалы), 2015, Алматы, С. 123.

Нургазиев, Тлеугабилова, 2015 – Нургазиев К.Ш., Тлеугабилова Г.А. и др. (2015). Меланома кожи. Алматы, С. 13.

Писарева, 2017 – Писарева Е.Е. Анализ мутаций KRAS и BRAF в опухолях, Новосибирск – 2017, 2017, С. 17-20.

Проценко, Новик, 2014 – Проценко С.А., Новик А.В. Современные возможности персонализированной терапии метастатической меланомы кожи. *Современная онкология*. 2014. №3. Т.16. С. 28-35.

Amanuel, Grieu, 2012 – Amanuel B., Grieu F., Kular J. Incidence of BRAF p.Val600Glu and p. Val600Lys mutations in a consecutive series of 183 metastatic melanoma patients from a high incidence region. *Pathology*, 2012, 44: 357-9.

Bertolotto, 2013 – Bertolotto C. Melanoma: from melanocyte to genetic alterations and clinical options. *Scientifica*, 2013: 635203.

Bradish, Cheng, 2014 – Bradish J.R., Cheng L. Molecular pathology of malignant melanoma: changing the clinical practice paradigm toward a personalized approach. *Hum Pathol*, 2014, 45:1315–1326.

Chakraborty, Wieland, 2013 – Chakraborty R., Wieland C.N., Comfere N.I. Molecular targeted therapies in metastatic melanoma. *Pharmgenomics Pers Med*, 2013, 6: 49-56.

COMBI-d... – COMBI-d: A randomized, double-blinded, Phase III study comparing the combination of dabrafenib and trametinib to dabrafenib and trametinib placebo as first-line therapy in patients (pts) with unresectable or metastatic BRAFV600E/K mutation-positive cutaneous melanoma [Electronic resource]. URL: http://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/jco.2014.32.15_suppl.9011

Davies, Bignell, 2002 – Davies H., Bignell G. R., Cox C. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*, 2002, 417(6892): 949–954.

Davis, Schlessinger, 2012 – Davis M.J., Schlessinger J.J. *Cell Biology*, 2012, 199: 15-19.

El Osta, Falchook, 2011 – El Osta H., Falchook G., Tsimberidou A. BRAF mutations in advanced cancers: clinical characteristics and outcomes. *PLoS One*, 2011, 6: e25806.

Fecber, Cummings, 2007 – Fecber L., Cummings S., Keefe M., Alani R. Toward a Molecular Classification of Melanoma // *Journal of Clinical Oncology*, 2007, Vol. 25,5, №12. pp. 1606-1620.

Flaberty, Puzanov, 2009 – Flaberty K., Puzanov J., Sjsman J. Phase I study of PLX4032 Proof of concept for V600E BRAF mutation as a therapeutic target in human cancer // *J. Clin. Oncol*, 2009, Vol. 27,15, p. P. 9000.

Goldstein, Tucker, 2001 – Goldstein A.M., Tucker M.A. Genetic epidemiology of cutaneous melanoma. *Arch Dermatol*, 2001, 137(11): 1493–6.

Guo, Si, 2010 – Guo J., Si L., Kong Y. A phase II study of imatinib for advanced melanoma patients with KIT aberrations. *Supp. to J. Of Clinical Oncology*, 2010, Vol. 28. № 15s. Part. I. P. 617, Abs. 8527.

Hansson, 2010 – Hansson J. Familial cutaneous melanoma. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 685:134–45.

Hauschild, Grob, 2012 – Hauschild A., Grob J.J., Demidov L.V. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomized controlled trial. *Lancet*, 2012, 380 (9839): 358–65.

Hodi, Friedlander, 2008 – Hodi F., Friedlander P., Corless C. Major Response to Imatinib Mesylate in KIT – Mutated Melanoma // *Journal of Clinical Oncology*, 2008, № 12, Vol. 26, pp. 2046-2051.

Hodi, O Day, 2010 – Hodi F., O Day S., McDermott D. Re-induction with ipilimumab gp 100 peptide vaccine or combination of both from phase III randomized, double- blind, multicenter study of previously treated patients with unresectable stage III or IV melanoma // *Support to Journal of Clinical Oncology*, 2010, № 15, Vol. 28. P. 613.

Jackson, 2009 – Jackson J. PLX4032 Target Melanomas with BRAF Mutation: Clinical Trials on Melanoma and Other Cancers Show Great Results // *J. Online*, 2009, Vol. 28.

Larkin, 2014 – Larkin J. Combined Vemurafenib and Cobimetinib in BRAF-Mutated Melanoma, *N Engl J Med*, 2014.

McArthur, 2014 – McArthur G.A. Safety and efficacy of vemurafenib in BRAFV600E and BRAFV600K mutation-positive melanoma (BRIM-3): extended follow-up of a phase 3, randomised, open-label study. *Lancet Oncology*, 2014, 15 (3): 323-332.

Miler, Mihm, 2006 – Miler A.J., Mihm M.C. *Melanoma. NenglJMed*, 2006, 355: 51-65.

Minor, O Day, 2010 – Minor D., O Day S., Kasbani -Sabet M. Sunitinib therapy for metastatic melanomas with KIT aberrations // *Support to Journal of Clinical Oncology*, 2010, № 15, Vol. 28. P. 622.

Patel, Lasar, 2010 – Patel S, Lasar A., Maboney S. Clinical responses to AZD6244 (ARRY 142886) – based combination therapy stratified by gene mutations in patients with metastatic melanoma // *Support to J. of Clinical Oncology*, 2010, № 15. Vol. 28, P. 611.

Pollock, Meltzer, 2002 – Pollock P.M., Meltzer P.S. (2002). A genome- based strategy uncovers frequent BRAF mutations in melanoma // *Cancer. Cell*, 2002, Vol.2, P. 5-7.

Prickett, Agrawal, 2009 – Prickett T., Agrawal N., Wei X. Analysis of tyrosine kinome in melanoma reveals recurrent mutations in ERBB4 // *Nat Genet.*, 2009, Vol. 41(10), pp. 1127-1132.

Tiyani, Luadadio, 2010 – Tiyani L., Luadadio M., Mastrangeto M. Final results a pilot study using sunitinib malate in patients with stage IV uveal melanoma // *Support to Journal of Clinical Oncology*, 2010, Vol. 28. P. 630.

References

Amanuel, Grieu, 2012 – Amanuel, B., Grieu, F., Kular, J. (2012). Incidence of BRAF p.Val600Glu and p. Val600Lys mutations in a consecutive series of 183 metastatic melanoma patients from a high incidence region. *Pathology*, 44: 357-9.

Bertolotto, 2013 – Bertolotto, C. (2013). Melanoma: from melanocyte to genetic alterations and clinical options. *Scientifica*: 635203.

Bradish, Cheng, 2014 – Bradish, J.R., Cheng, L. (2014). Molecular pathology of malignant melanoma: changing the clinical practice paradigm toward a personalized approach. *Hum. Pathol.*, 45: 1315–1326.

Chakraborty, Wieland, 2013 – Chakraborty R., Wieland C.N., Comfere N.I. (2013). Molecular targeted therapies in metastatic melanoma. *Pharmgenomics Pers Med*, 6: 49-56.

COMBI-d... – COMBI-d: A randomized, double-blinded, Phase III study comparing the combination of dabrafenib and trametinib to dabrafenib and trametinib placebo as first-line therapy in patients (pts) with unresectable or metastatic BRAFV600E/K mutation-positive cutaneous melanoma [Electronic resource]. URL: http://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/jco.2014.32.15_suppl.9011

Davies, Bignell, 2002 – Davies H., Bignell G. R., Cox C. (2002). Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*, 417(6892): 949–954.

Davis, Schlessinger, 2012 – Davis M.J., Schlessinger J.J. (2012). *Cell Biology*, 199: 15-19.

Dzhamaldinov, Tleugabilova, 2014 – Dzhamaldinov, D.D., Tleugabilova, G.A. (2014). Zabolevaemost' melanomoi v Respublike Kazakhstan v zavisimosti ot solnechnoi aktivnosti. XVIII Rossiiskii onkologicheskii kongress. *Zhurnal «Zlokachestvennye opukholi»*, №3(10). pp. 313-314. [in Russian]

El Osta, Falchook, 2011 – El Osta H., Falchook G., Tsimberidou A. (2011). BRAF mutations in advanced cancers: clinical characteristics and outcomes. *PLoS One*, 6: e25806.

Fecber, Cummings, 2007 – Fecber L., Cummings S, Keefe M., Alani R. (2007). Toward a Molecular Classification of Melanoma. *Journal of Clinical Oncology*, Vol. 25.5, №12. pp. 1606-1620.

Flaberty, Puzanov, 2009 – Flaberty K., Puzanov J., Sjsman J. (2009). Phase I study of PLX4032 Proof of concept for V600E BRAF mutation as a therapeutic target in human cancer. *J. Clin. Oncol*, Vol. 27, 15 p.

Goldstein, Tucker, 2001 – Goldstein A.M., Tucker M.A. (2001). Genetic epidemiology of cutaneous melanoma. *Arch. Dermatol.*, 137(11): 1493–6.

Guo, Si, 2010 – Guo J., Si L., Kong Y. (2010). A phase II study of imatinib for advanced melanoma patients with KIT aberrations. *Supp. to J. Of Clinical Oncology*, Vol. 28. № 15. Part. I. P. 617, Abs. 8527.

Hansson, 2010 – Hansson J. (2010). Familial cutaneous melanoma. *Adv Exp Med Biol*, 685: 134–45.

Hauschild, Grob, 2012 – Hauschild A., Grob J.J., Demidov L.V. (2012). Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomized controlled trial. *Lancet*, 380 (9839): 358–65.

[Hodi, Friedlander, 2008](#) – Hodi F., Friedlander P., Corless C. (2008). Major Response to Imatinib Mesylate in KIT – Mutated Melanoma. *Journal of Clinical Oncology*, № 12, Vol. 26, pp. 2046-2051.

[Hodi, O Day, 2010](#) – Hodi F., O Day S., McDermott D. (2010). Re-induction with ipilimumab gp 100 peptide vaccine or combination of both from phase III randomized, double-blind, multicenter study of previously treated patients with unresectable stage III or IV melanoma. *Support to Journal of Clinical Oncology*, № 15, Vol. 28. P. 613.

[Jackson, 2009](#) – Jackson J. (2009). PLX4032 Target Melanomas with BRAF Mutation: Clinical Trials on Melanoma and Other Cancers Show Great Results. *J. Online*, Vol. 28.

[Larkin, 2014](#) – Larkin J. (2014). Combined Vemurafenib and Cobimetinib in BRAF-Mutated Melanoma, *N Engl J Med*.

[McArthur, 2014](#) – McArthur G.A. (2014). Safety and efficacy of vemurafenib in BRAFV600E and BRAFV600K mutation-positive melanoma (BRIM-3): extended follow-up of a phase 3, randomised, open-label study. *Lancet Oncology*, 15 (3): 323-332.

[Miler, Mihm, 2006](#) – Miler A.J., Mihm M.C. *Melanoma. NenglJMed*, 2006, 355: 51-65.

[Minor, O Day, 2010](#) – Minor D., O Day S., Kasbani -Sabet M. (2010). Sunatinib therapy for metastatic melanomas with KIT aberrations. *Support to Journal of Clinical Oncology*, № 15, Vol. 28. P. 622.

[Nurgaziev, Baipeisov, 2015](#) – Nurgaziev, K.Sh., Baipeisov, D.M., Auezova, E.T. i dr. (2015). Pokazateli onkologicheskoi sluzhby respubliki Kazakhstan za 2014 g. (statisticheskie materialy), Almaty, P. 123. [in Russian]

[Nurgaziev, Tleugabilova, 2015](#) – Nurgaziev, K.Sh., Tleugabilova, G.A. i dr. (2015). Melanoma kozhi. Almaty, P. 13. [in Russian]

[Patel, Lasar, 2010](#) – Patel S, Lasar A., Maboney S. (2010). Clinical responses to AZD6244 (ARRY 142886) – based combination therapy stratified by gene mutations in patients with metastatic melanoma. *Support to J. of Clinical Oncology*, № 15. Vol. 28, P. 611.

[Pisareva, 2017](#) – Pisareva, E.E. (2017). Analiz mutatsii KRAS i BRAF v opukholyakh, Novosibirsk – 2017, pp. 17-20. [in Russian]

[Pollock, Meltzer, 2002](#) – Pollock P.M., Meltzer P.S. (2002). A genome- based strategy uncovers frequent BRAF mutations in melanoma. *Cancer. Cell*, Vol.2, P. 5-7.

[Prickett, Agrawal, 2009](#) – Prickett, T., Agrawal, N., Wei, X. (2009). Analysis of tyrosine kinome in melanoma reveals recurrent mutations in ERBB4. *Nat Genet.*, Vol. 41(10), pp. 1127-1132.

[Protsenko, Novik, 2014](#) – Protsenko, S.A., Novik, A.V. (2014). Sovremennyye vozmozhnosti personalizirovannoi terapii metastaticheskoi melanomy kozhi. *Sovremennaya onkologiya*. 2014. №3. T.16. pp. 28-35. [in Russian]

[Tiyani, Luadadio, 2010](#) – Tiyani, L., Luadadio, M., Mastrangeto, M. (2010). Final results a pilot study using sunitinib malate in patients with stage IV uveal melanoma. *Support to Journal of Clinical Oncology*, Vol. 28. P. 630.

[V Kazakhstane rastet zaboлеваemost' melanomoi...](#) – V Kazakhstane rastet zaboлеваemost' melanomoi i rakom kozhi: kak predotvratit' bolezni' [Elektronnyi resurs]. URL: <https://tengrinews.kz/medicine/kazakhstane-rastet-zaboлеваemost-melanomoy-rakom-koji-318146> [in Russian]

Современные достижения таргетной терапии метастатической меланомы кожи (литературный обзор)

Гульнар Акынғалиевна Тлеугабилова ^{a, *}, Алибек Сабырбекугли Абдрашов ^a

^a Казахский медицинский университет непрерывного образования, Республика Казахстан

* Корреспондирующий автор

Адреса электронной почты: gulnar_tb@mail.ru (Г.А. Тлеугабилова), alibek.kz_91@mail.ru (А.С. Абдрашов)

Аннотация. Обзор литературных данных показал, что благодаря достижениям молекулярной биологии, практическим онкологам представлен ряд маркеров или «мишеней» для таргетной терапии, благодаря чему появилась возможность индивидуализации противоопухолевого лечения, повышения его эффективности и улучшения качества жизни больных. Если раньше при использовании стандартных схем лечения удавалось добиться частоты объективных ответов в 7-12 % случаев, то сейчас с внедрением в практику таргетных препаратов, этот показатель вырос до 50 %.

Ключевые слова: меланома кожи, MAPK сигнальные пути, мутация генов BRAF, таргетная терапия.

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
European Journal of Medicine. Series B
Has been issued since 2014.
E-ISSN: 2413-7464
2018, 5(1): 25-49

DOI: 10.13187/ejm.s.b.2018.1.25
www.ejournal27.com



Investigation of the Mechanisms of Positive Inotropic Effect of (–)-Epigallocatechin 3-O-gallate

Shunkor S. Khushmatov^{a,*}, Pulat B. Usmanov^a, Khurshida K. Nadjimova^a,
Ulugbek G. Gayibov^a, Nodira G. Abdulladjanova^a

^aInstitute of the Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences, Republic of Uzbekistan

Abstract

The aim of the present study was to determine mechanism of the inotropic effect of (–)-epigallocatechin 3-O-gallate (EGCG) in the rat myocardium. EGCG was isolated from seeds grapes (*Vitis vinifera* L.). Isometric tension forces of preparations of isolated papillary muscle were recorded using a force transducer (Type F30/Model D-79232; Hugo Sachs Elektronik, Germany). EGCG (15–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) showed dose-dependent a positive inotropic effects in rat papillary muscle contractility. The condition where the maximal effected concentration (150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) of EGCG, the isometric developed force of papillary muscle preparation was decreased from $67,5\pm 6,2\%$ in comparison with the control group ($p < 0,05$; $n = 3-4$). In these conditions, the EC_{50} value (the values of concentration for 50 % of the maximal effect) EGCG was $22,39\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ or pD_2 ($-\log EC_{50}$) = 4,652. In the experiments lead by means of specific experimental technique of a mechanical stretching of myocardium showed, that EGCG (150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) was increased amplitudes II phase (SFR, *slow force response*) from $33,7\pm 4,9\%$ in comparison with the control group. Pretreatment with amiloride hydrochlorid (1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), a nonselective inhibitor of NHE-1, attenuated the positive inotropic effect of EGCG in the isolated rat papillary muscles. In conclusion, the present study demonstrates that, the positive inotropic effect of EGCG (15–150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) in isometrically contracting papillary muscles seems to be mediated by $\text{NHE-1} \rightarrow [\text{Na}^+]_{in} \uparrow \rightarrow \text{NCX1} \rightarrow [\text{Ca}^{2+}]_{in} \uparrow$ pathway. These data may serve as a basis for further detailed pharmacological mechanism of action of this compound.

Keywords: inotropic effect, papillary muscle, EGCG, NHE-1, NCX1.

1. Введение

В Восточной народной медицине тысячелетиями использовали экстракты многих видов растений для лечения различных заболеваний. При этом, среди важнейших классов природных соединений, обуславливающих лечебный эффект лекарственных растений, значительное место занимают полифенольные соединения. В связи с этим, более подробное изучение механизма кардиофармакологического действия полифенольных соединений, выделенных из разного рода растений и выявление среди них перспективных для создания эффективных кардиоактивных лекарственных средств является актуальной проблемой в фармакологии (Хушматов, 2015; Khushmatov, 2015; Khushmatov, 2017).

* Corresponding author

E-mail addresses: Khushmatov_Sh.S@bk.ru (Sh.S. Khushmatov)

Виноград (*Vitis vinifera* L.) – богатейший источник флавоноидов, содержащий множество полифенольных соединений. Фитохимический анализ показывает, что в составе винограда (*Vitis vinifera* L.) содержится широкий диапазон биологически активных веществ, которые определяют фармакологические лечебные свойства экстракта этого растения. Итак, в косточках *Vitis vinifera* L. выявлено наличие флавоноидов, антоцианов, танины, фенольные кислоты, полифенолы, в том числе катехины (Птицын, 2007; Leifert, Abeywardena, 2007). Полифенольные соединения входящие в состав экстракта винограда (*Vitis vinifera* L.) обладают широким спектром фармакологических свойств (Nagle et al., 2006; Sahin et al., 2010; Hamlaoui et al., 2012; Olchowik et al., 2012; Hsieh et al., 2013; Nimse, Pal, 2015; Singh et al., 2016; Rasines–Perea, Teissedre, 2017).

В настоящее время проведено большое количество экспериментальных исследований по изучению фармакологической активности различных компонентов, выделенных из экстракта косточек винограда. Установлено, что полифенолы, в том числе (–)-эпигаллокатехин-3-О-галлат (EGCG) содержащийся в экстракте косточек винограда (*Vitis vinifera* L.) способен предотвратить рост раковых клеток (Chen, 2012; Sonoda et al., 2014; Kumazoe, Tachibana, 2016), а также снижают вероятность возникновения сердечно-сосудистых заболеваний и является потенциальным агентом при создании фармакологических препаратов для профилактики и лечения множества болезней (Xia et al., 2010; Dinicola et al., 2014; Georgiev et al., 2014).

А также, известно, что долголетие жителей Средиземноморского региона связано с продуктами питания богатыми полифенольными соединениями, входящих в состав винограда (Schini–Kerth et al., 2010). Присутствием полифенольных соединений, в том числе EGCG в составе красного вина, был объяснён так называемый «французским парадоксом». Кардиоваскулярные патологии относительно редко встречаются у жителей Франции, регулярно употребляющих красное вино (Ferrieres, 2004; Барабой, 2009).

Один из главных компонентов экстракта косточек винограда (*Vitis vinifera* L.) – EGCG, как и некоторые другие полифенольные соединения является эффективным индуктором Nrf₂, индуцируемым активацией антиоксидантных ферментов (глутатион-S-трансферазы, глутатионпероксидазы, гемоксигеназы-1 и др.). Кроме того, предполагается, что кардиопротекторное действие EGCG реализуется вследствие активации системы Keap₁ → Nrf₂ → ARE (Mann et al., 2007; Зенков и др., 2015).

2. Релевантность

Несмотря, на многочисленные исследования действий EGCG на экспериментальных животных в условиях *in vitro* и *in vivo*, в настоящее время считается недостаточным механизмы кардиоваскулярных фармакологических действий EGCG для использования в качестве фармацевтического препарата в клинической практике (Li et al., 2012).

Целью настоящего исследования является изучение механизма действий EGCG (Рисунок 1), выделенного из косточек винограда (*Vitis vinifera* L.) на функциональную активность миокарда крысы.

3. Материалы и методы

Эксперименты проводились в лаборатории биофизики клетки в Институте биоорганической химии им. акад. А.С.Садыкова АН РУз. Эксперименты выполнялись в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с использованием животных», принятыми Международным советом медицинских научных обществ (CIOMS) в 1985 г.

3.1. Приготовление препарата мышцы и регистрация функциональной активности

В экспериментах использовали белых беспородных крысах самцах (150–200 гр.), выращенные в условиях вивария лаборатории фармакологии института биоорганической химии АН РУз при стандартном доступе к корму и воде. Перед экспериментом животных (*n*=16) обездвигивали легким эфирным наркозом (~20 мг/кг массы внутрибрюшинно), после декапитации животных и вскрытия грудной клетки, быстро извлекали сердце и препараты папиллярных мышц помещали в аэрированные физиологические растворы Кребса–Хензеля следующего состава (в миллимолях): NaCl – 118; KCl – 4,7; CaCl₂ – 2,5;

$MgSO_4$ – 1,2; KH_2PO_4 – 1,1; глюкоза – 5,5; $NaHCO_3$ – 25, при поддержание температуре $+36\pm 0,5^\circ C$ с помощью термостата U1 (Болгария) ($pH=7,4$) (Рисунок 2).

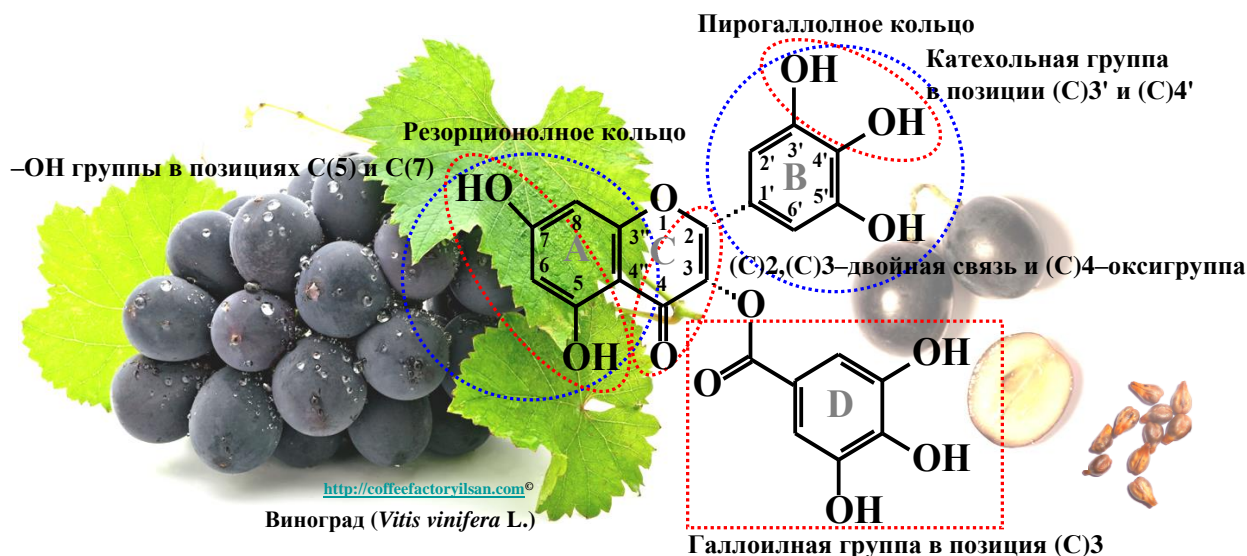


Рис. 1. Химическая структурная формула (–)–эпигаллокатехин–3–О– галлата (EGCG) (2R, 3R)–5,7–дигидрокси–2–(3, 4, 5–тригидроксибензил)–3, 4–дигидро–2Н–хромен–3–иль 3, 4, 5–тригидроксибензоат. При этом –ОН группы расположены в позициях С(3)–, С(5)–, С(7)–, С(3')–, С(4')–, С(5')– и галлатный эфир в позиции С(3); Эмпирическая формула соединения – $C_{22}H_{18}O_{11}$. М. м.=458,372 г/моль) (Пирниязов и др., 2003).



Рис. 2. Приготовление изолированных мышечных препаратов папиллярной мышцы сердца крысы. После декапитации и вскрытия грудной клетки, извлекали сердце и вскрывали полость правого желудочка и отпрепарировали папиллярную мышцу. Для экспериментов выбирали препараты длиной ~2–4 мм, диаметром ~0,5–0,8 мм. При этом препарат мышцы закрепляли неподвижно в экспериментальной камере и один конец подсоединяли к штоку датчика натяжения F30 (Модел D–79232; *Hugo Sachs Elektronik*, Германия) с помощью капроновой петли, закрепленные на его обоих концах препарата.

Растворы оксигенировали карбогеном (O_2 –95 %, CO_2 –5 %) и постоянная перфузия физиологического раствора обеспечивали с помощью перистальтического насоса «LKB Bromma» (Швеция). Изучение влияния EGCG на активность миокарда в условиях *in vitro* с применением методики механографии в изометрическом режиме с помощью преобразователя силы сокращения мышцы типа F30 (Модел D–79232; *HSE*, Германия), сигнал с датчика натяжения подавался на усилитель (TAM–A, *HSE*, Германия) и регистрировали в цифровом формате (Logger_Lite *.gmb1) при помощи преобразователя

АЦП/ЦАП (LabPro Logger Lite 1.2 (Vernier Software & Technology, Beaverton, США) со специальным программным обеспечением в компьютере IBM PC (Мусаев и др., 2009). Растяжение препарата мышцы осуществляли с помощью микроманипулятора («Mitutoyo»; Япония), привязанного с изометрическим датчиком. Мышцу раздражали с помощью платиновых электродов и стимулятора ЭСЛ-2 (Россия) импульсами прямоугольной формы частотой 0,1–1 Гц, длительностью 10 мс и амплитудой, превышающей пороговую на ~20 % в течение ~45–60 мин. до установления стабильных электромеханических характеристик сокращения препарата мышц. Базовая частота стимулирующих импульсов составляла 0,1 Гц. После периода стабилизации находили длину препарата, при которой мышца развивает максимальное изометрическое напряжение (L_{max}), и в этих условиях выполняли все эксперименты (Рисунок 3).

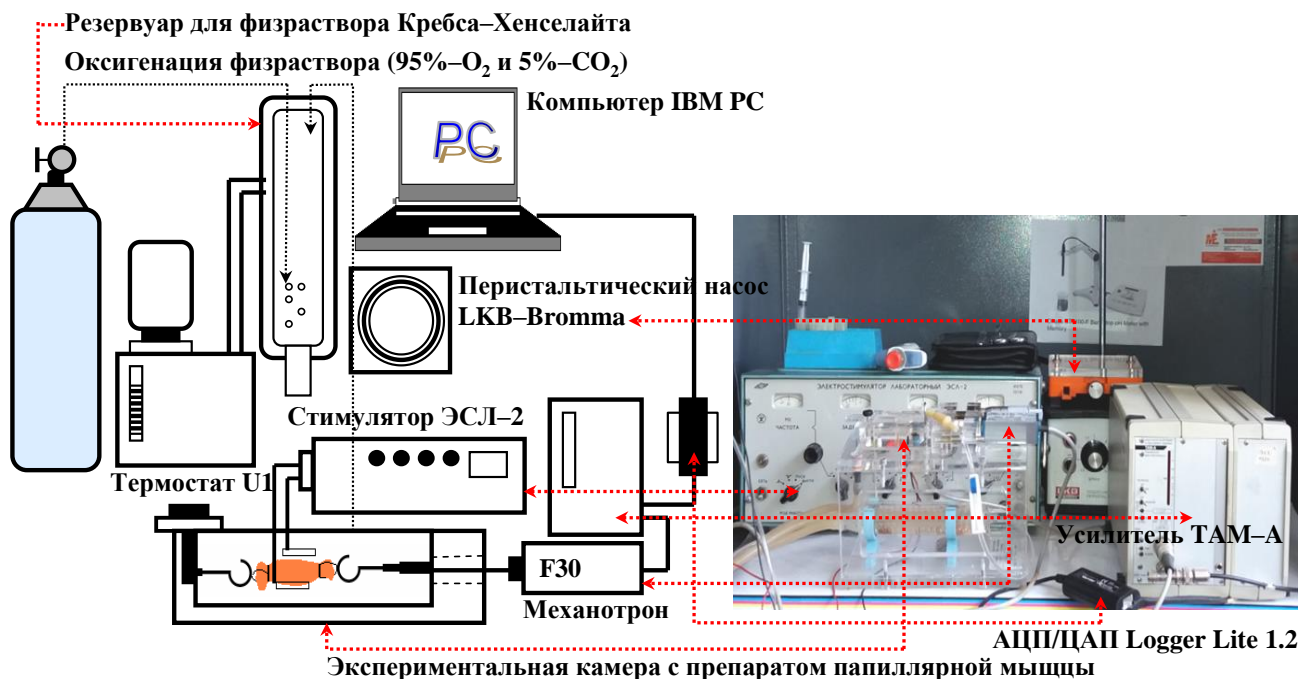


Рис. 3. Блок–схема установки для изучения инотропного действия биологически активных соединений на функциональную активность препарата папиллярной мышцы сердца крысы (объяснение в тексте).

3.2. Использованные химические реагенты

В работе использовались следующие реактивы: нифедипин гидрохлорид, (±)–пропранолол гидрохлорид («Sigma Chemical Company»; США), диметилсульфоксид (ДМСО), NiCl₃, GdCl₃, амилорид гидрохлорид («Sigma–Aldrich»; Германия). Остальные реактивы: NaCl, KCl, CaCl₂, MgSO₄, KH₂PO₄, NaHCO₃, глюкоза, производства России. Все использованные реактивы имеют квалификации «ХЧ» и «ЧДА». EGCG растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO). При этом в инкубационной среде концентрации ДМСО не больше 0,01 % и в этой концентрации ДМСО не действует на функциональную активность препарата миокарда. Для изучения кумулятивного инотропного эффекта EGCG добавляли в диапазоне концентраций 1–150 мкМ в экспериментальном ячеек в объеме 5 мл с помощью одноканального механического дозатора PROLINE® («Biohit»; Финляндия). Нифедипин гидрохлорид, (±)–пропранолол гидрохлорид, NiCl₃, амилорид гидрохлорид растворяли в дистиллированной воде, перегоняемым с помощью дистиллятора марки WSE/4S (MRC, Германия).

3.3. Протоколы экспериментов:

1. На первом этапе экспериментов изучали дозозависимое (1–150 мкМ) инотропное действие EGCG на сократительную активность изолированной папиллярной мышцы сердца крысы. При этом, рассчитывали EC_{50} (концентрация вызывающая подавление силы сокращения на 50 %) для EGCG;

2. В экспериментах изучено участие Ca^{2+} -каналов L-типа, локализованными в сарколемме кардиомиоцитов при инотропном действии EGCG. При этом с целью блокады Ca^{2+} -каналов были применены нифедипин гидрохлорида (0,01 мкМ) – селективный антагонист Ca^{2+} -каналов (Chiba et al., 1978).

3. Изучали участие β -АР кардиомиоцитов при инотропном действии EGCG с помощью пропранолола гидрохлорида (10 мкМ) – блокатора β -АР;

4. Для изучения влияния EGCG на активность Na^+/H^+ -обменника (NHE-1) была использована специфическая методика на изолированной папиллярной мышце крысы, описанная Perez et al., 2011 (Perez et al., 2011). Изучение роли NHE-1 в инотропном эффекте EGCG в экспериментах использовали неселективный антагонист NHE-1 – амилорида гидрохлорида (1 мМ) (Lagadic-Gossmann, Feuvray, 1990).

А также, для оценки роли $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника (NCX1) при воздействии EGCG использовали неселективного блокатора этой системы – хлорида никеля (NiCl_2) в концентрациях 10 мМ.

3.4. Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ OriginLab OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060-4401, США). Инотропную активность используемых химических реагентов и EGCG рассчитывали процентное (%) отношение амплитуды силы сокращения от контрольного значения с доверительным интервалом (\pm). При этом данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее, m – стандартная ошибка. Для выявления достоверности изменений до и после влияния алкалоида использовали парный t -критерий Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,01$ и $p < 0,05$.

4. Результаты и их обсуждение

В экспериментах установлено, что EGCG в диапазоне концентрации 15–150 мкМ при частоте стимуляции в 0,1–1 Гц демонстрировал положительный инотропный эффект. При этом, в концентрации 150 мкМ (1 Гц) EGCG увеличивал силу сокращения папиллярной мышцы на $67,5 \pm 6,2$ % относительно контрольного показателя. В этих условиях значение EC_{50} для EGCG составляло 22,39 мкМ или $pD_2 (-\log EC_{50}) = 4,652$ (Рисунок 4).

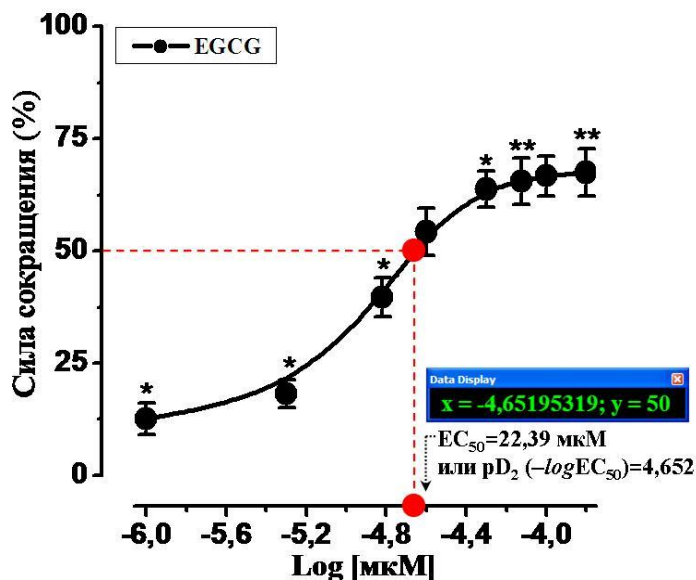


Рис. 4. Кривые доза–эффект EGCG. По оси ординат – сила сокращения мышцы, выраженная в процентах от максимальной. По оси абсцисс – логарифм концентрации EGCG в среде инкубации (мкМ). Стимуляция препарата проводилась с частотой 1 Гц. При этом * – $p < 0,05$ и ** – $p < 0,01$ ($n = 3-4$)

Одной из причин положительного действия большинства фармакологических агентов является вызываемое ими увеличение концентрации внутриклеточного $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах в результате активации функции Ca^{2+}_L -каналов сарколеммы. Для проверки возможного взаимодействия EGCG с Ca^{2+}_L -каналами нами было изучено их влияние на эффекты нифедипина – специфического блокатора Ca^{2+}_L -каналов (Chiba et al., 1978).

Как показали наши исследования, предварительная инкубация блокатора Ca^{2+}_L -каналов нифедипина (0,01 мкМ) не устраняла положительный инотропный эффект EGCG (150 мкМ). При этом, было обнаружено, что в присутствии нифедипина (0,01 мкМ) положительный инотропный эффект EGCG (150 мкМ) сохраняется (145,8±4,7% от эффекта нифедипина), что эти результаты могут свидетельствовать о том, что положительный инотропный эффект EGCG не связан с его действием на Ca^{2+}_L -каналы кардиомиоцитов (Рисунок 6, Рисунок 7).

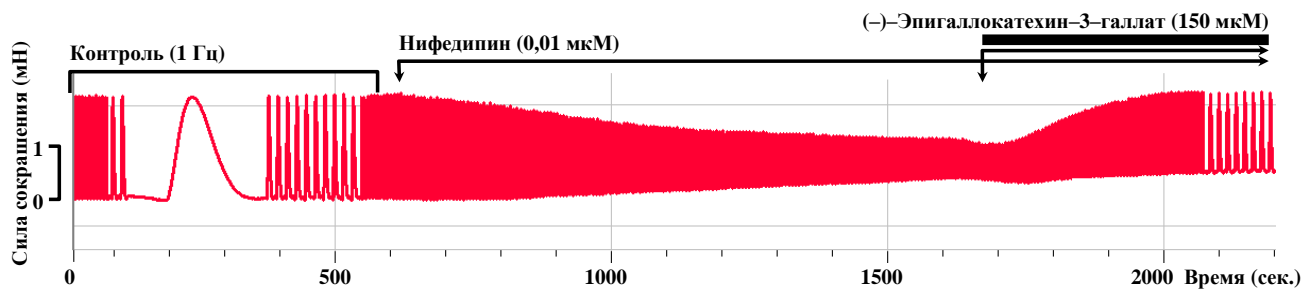


Рис. 6. Действие EGCG (150 мкМ) на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы в присутствии блокатора потенциал-зависимых Ca^{2+}_L -каналов – нифедипина (0,01 мкМ). Оригинальная запись сократительных ответов папиллярной мышцы, стрелками указан момент добавления нифедипина (0,01 мкМ) и EGCG (150 мкМ).

Установлено, что β -адренергическая (β -АР) стимуляция при действии некоторых биологически активных веществ, оказывает положительное инотропное действие на миокард млекопитающих, которое обусловлено активацией каскада реакции β -АР → активация аденилатциклаза → $[cAMP]_{in} \uparrow$ → активация ПКА → $[Ca^{2+}]_{in} \uparrow$ (Хушматов и др., 2016). Для анализа возможного взаимодействия EGCG с β -АР кардиомиоцитов нами было изучено его влияние на эффекты (\pm)-пропранолола гидрохлорида (10 мкМ) – специфического блокатора β -АР.

При предварительной инкубации препаратов мышцы (\pm)-пропранололом (10 мкМ), блокатора β -адренорецептора, наблюдается незначительное уменьшение положительного инотропного эффекта EGCG (150 мкМ). При этом амплитуда силы сокращения папиллярной мышцы при действии EGCG (150 мкМ) увеличивается на 159,2±6,1% относительно эффекта (\pm)-пропранолола (10 мкМ) (Рисунок 7).

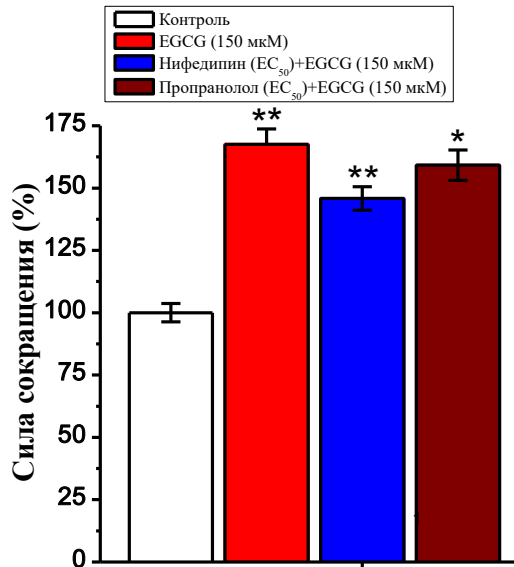


Рис. 7. Влияние нифедипина (0,01 мкМ) – блокатора потенциал–зависимых Ca^{2+}_L -каналов и (\pm)–пропранолола (10 мкМ), блокатора β -АР эффекта EGCG (150 мкМ) на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы. Сила сокращения мышцы, выраженная в процентах от максимальной (* $p < 0,01$ и * $p < 0,05$) ($n=3-4$). Стимуляция препарата проводилась с частотой 1 Гц.

Анализируя полученные экспериментальные данные, можно предположить, что положительное инотропное действие EGCG не связано с его действием на активность β -АР кардиомиоцитов.

Возможно, увеличение силы сокращения при действии биологически активных веществ, также может вносить свой вклад в увеличение активности обратной функции $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника (NCX1). И так, на следующих сериях экспериментов мы изучали действие EGCG на активность NCX1. Для проверки возможного взаимодействия EGCG с NCX1 нами было изучено их влияние на эффекты NiCl_3 (10 мМ) – неспецифического блокатора NCX1 (Beyer et al., 1988; Kihara et al., 1994).

Было обнаружено, что в присутствии NiCl_3 (10 мМ) положительный инотропный эффект EGCG (150 мкМ) сохраняется, но и значительно уменьшается, что эти результаты могут свидетельствовать о том, что положительный инотропный эффект EGCG частично связан с его действием на $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник кардиомиоцитов (Рисунок 8).

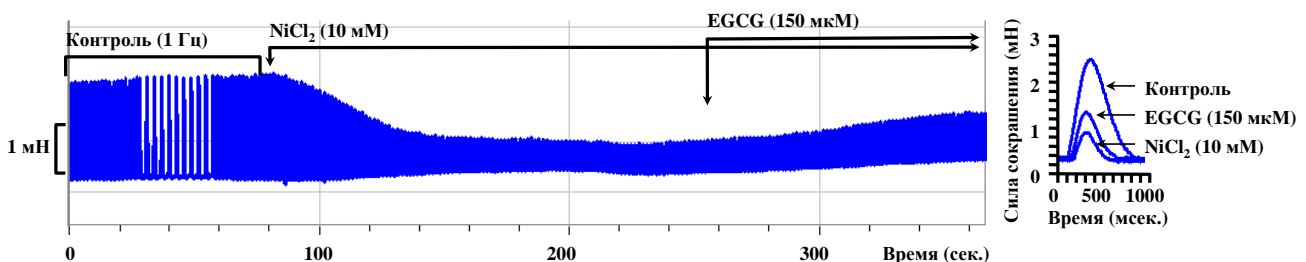


Рис. 8. Действие EGCG (150 мкМ) на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы в присутствии блокатора NCX1 – NiCl_3 (10 мМ). Оригинальная запись сократительных ответов папиллярной мышцы, стрелками указан момент добавления NiCl_3 (10 мМ) и EGCG (150 мкМ).

А также, предположительно, что положительный инотропный эффект EGCG может быть связан с активацией NHE-1 и NCX1 (Rodney et al., 2009).

Модуляция активности Na^+/H^+ -обменника при действии EGCG. Одним из основных принципов современной кардиопротекции является модуляция активности Na^+/H^+ -обменника изоформы 1 (NHE-1). В связи с этим, изучение и характеристика активации/ингибиции функциональной активности NHE-1, как одной из важных фармакологической мишени, и регулируемую с помощью биологически активных веществ является перспективным направлением для создания кардиопротекторных средств (Dhein, Salameh, 1999; Stagg, Terracciano, 2005; Спасов и др., 2013; Тимофеева, 2015).

NHE-1 функционирует как электронейтральный трансмембранный обменник $[\text{Na}^+]_{in}$ на $[\text{H}^+]_{out}$ со стехиометрией 1:1, и является основным регулятором гомеостаза $[\text{pH}]_{in}$ в условиях ацидоза и ишемии/реперфузии, а также участвует в регуляции концентрации $[\text{Na}^+]_{in}$ в кардиомиоцитах (Weiss et al., 1990; Bers et al., 2003; Piper et al., 2004; Fliegel, 2005; Pedersen et al., 2006; Malo, Fliegel, 2006; Fliegel, 2009). Структура/функция и регуляция NHE-1 подробно описана в некоторых обзорных статьях (Karmazyn et al., 1999; Petrecca et al., 1999; Балаболкин, Белоярцева, 2001; Cingolani et al., 2001; Shigekawa, Iwamoto, 2001). При активации NHE-1 повышается концентрация $[\text{Na}^+]_{in}$ и активируются реверсионные функции NCX1, которые аккумулируют $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ в обмен $[\text{Na}^+]_{in}$ и происходит увеличение силы сокращения миокарда (Pierce, Meng, 1992; Karmazyn, Moffat, 1993; Fliegel, Dyck, 1995; Bluhm, 1998). Патологического изменение $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ гомеостаза приводит к аритмии, апоптозу/некрозу, инфаркту миокарда, ишемии-реперфузии (Karmazyn, 1988), при этом модуляторы NHE-1 являются перспективными агентами в кардиопротекции (Baudouin, Bateman, 1988; Vasilets et al., 1989; Karmazyn et al., 2005; Sarigianni et al., 2010).

Для изучения влияния EGCG на активность NHE-1 была использована специфическая методика растяжения миокарда на изолированной папиллярной мышце крысы, описанная Perez et al., 2011 (Perez et al., 2011). При этом в течение стабилизации (~45–60 мин.) с помощью микроманипулятора («Mitutoyo»; Япония), установленных в экспериментальной ячейке, прогрессивно растягивали препараты папиллярной мышцы до появления максимальной амплитуды силы сокращения (L_{max}) ~98–100%. При этом растяжение препарата папиллярной мышцы продолжалось до тех пор, пока рост активной составляющей силы либо практически останавливался, либо падал, и соответствующую длину считали максимальной (L_{max} или L_o) (Кондратьев и др., 2008; Смолук, Проценко, 2011).

Известно, что максимальная сила сокращения миокарда (L_{max}) связано с оптимальной длиной саркомера, который генерирует мышечное волокно, где наибольшее активное изометрическое напряжение и Ca^{2+} -чувствительность миофиламентов будут оптимальными (Allen, Kentish, 1985). И так, в ходе дальнейшего растяжения миокарда его изометрическое напряжение падает (Кондратьев и др., 2008). Начальную длину мышцы (L_{max}) уменьшали до ~88–90 % и после стабилизации вновь возвращали к исходному уровню как описанны в работах (Kentish, Wrzosek, 1998; Alvarez et al., 1999; Kockskamper et al., 2008; Villa-Abrille et al., 2010) (Рисунок 9).

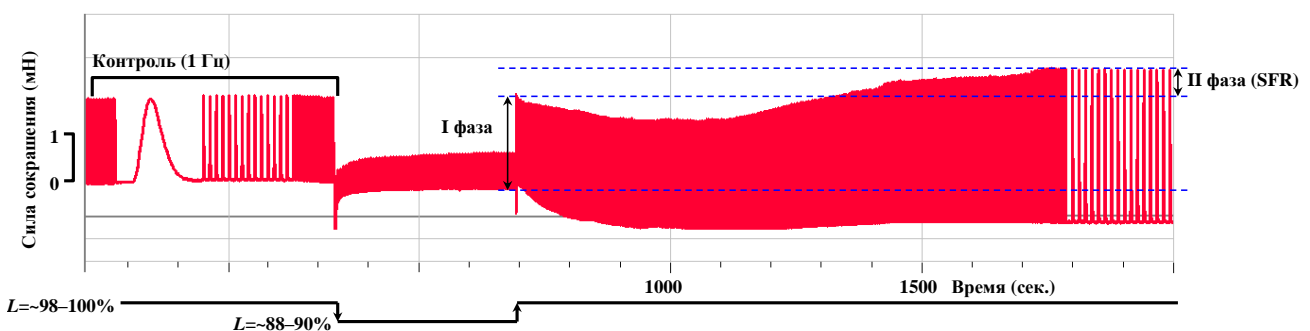


Рис. 9. Изменение изометрического напряжения изолированной папиллярной мышцы при растяжении от ~98–100 % до ~88–90 % и после, стабилизации вновь возвращение на 100 %. Оригинальная запись сократительных ответов папиллярной мышцы, при этом показано изменение амплитуды силы при растяжении с I фазой (быстрое увеличение на $12,6 \pm 3,3$ % относительно контроля) и II фазой (SFR; на 38,6 % относительно контроля). Частота стимуляции 1 Гц.

Известно, что механическое изменение длины миокарда происходит моментально быстро, т.е. через одно сокращение, увеличение амплитуды силы мышцы, называемая быстрым ответом (I фаза), известное как закон Франка–Старлинга (Ait–Mou et al., 2016) и вслед за I фазой, происходит дальнейшее увеличение силы сокращений (II фаза), известное как медленный ответный эффект (SFR – *Slow force response*), называемая эффектом Анрена (Von Anrep, 1912; Parmley, Chuck, 1973; Villa–Abrille et al., 2010; Katz, 2002; Коновалов, 2013). Установлено, что механизмы развития быстрого ответа миокарда при растяжении связано с увеличением Ca^{2+} -чувствительности миофиламентов (Calaghan, White, 1999) во II фазе при активации ангиотензин образующего фермента (ACE) через активацию реакции сигнального каскада интегринов (Cingolani et al., 2013) увеличивается концентрация ангиотензина–II (Ang II), который в свою очередь активирует ангиотензиновый рецептор (AT–1) и происходит увеличение внутриклеточной концентрации эндотелина–1 (ET–1), который активирует минералокортикоидный рецептор (MR), который стимулирует рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), активирующий митохондриальный оксидативный стресс, индуцирующего генерацию АФК (Garciaarena et al., 2008; Caldiz et al., 2011; Caldiz et al., 2011; Neves et al., 2016). А также, установлено, что ET–1 прямо активирует фермент НАД(Ф)·Н–оксидазу, обуславливающий генерацию АФК (Pimentel et al., 2001; Goette et al., 2002; Caldiz et al., 2007), АФК активируют фосфорилирование NHE–1 через окислительно–восстановительную сигнальную трансдукцию ERK_{1/2}–киназа → p₉₀RSK (Perez et al., 2001; Calaghan, White, 2001; Brookes et al., 2004; Von Lewinski et al., 2004; Cingolani et al., 2006; Zhang et al., 2009; Diaz et al., 2014; Yeves et al., 2015). В регуляции активности NHE–1 через фосфорилирование, кроме ERK 1/2–киназа → p₉₀RSK, участвует MAPK, Rho–связанная киназа (ROCK), Nck–взаимодействующая киназа (NIK), Ca^{2+} /кальмодулин зависимая киназа II (CaMKII) (Malo, Fliegel, 2006; Fliegel, 2009). Кроме того, изменение электромеханических параметров миокарда при механическом растяжении, связаны с активацией неселективных ионных каналов (т.е. пропускаемых ионов Na^+ , Ca^{2+} и K^+), чувствительных к растяжению – SAC_{NSC} (Zhang et al., 2000; Reed, Kohl, 2014). При этом, выявлено, что амплитуда SFR примерно ~30–40 % связано с активацией SAC_{NSC} и, уменьшается при инкубации препарата мышцы блокатором SAC_{NSC} – GdCl₃ (10–20 мкМ) или стрептомицином (Nicolosi et al., 2001; Ward, Allen, 2005; Ward et al., 2008). В экспериментах использовали ингибитор SAC_{NSC} – хлорида гадолиния (III) (10 мкМ) (Lab et al., 1994; Tavi et al., 1996; Ward, Allen, 2005).

В экспериментах, проведенных с помощью методики механического растяжения миокарда было показано, что EGCG (150 мкМ) увеличивает амплитуду I фазы дополнительно на $14,3 \pm 4,4$ %, и амплитуду I фазы (SFR) на $33,7 \pm 4,9$ % относительно контрольного показателя ($n=3-4$, $p<0,05$) (Рисунок 10).

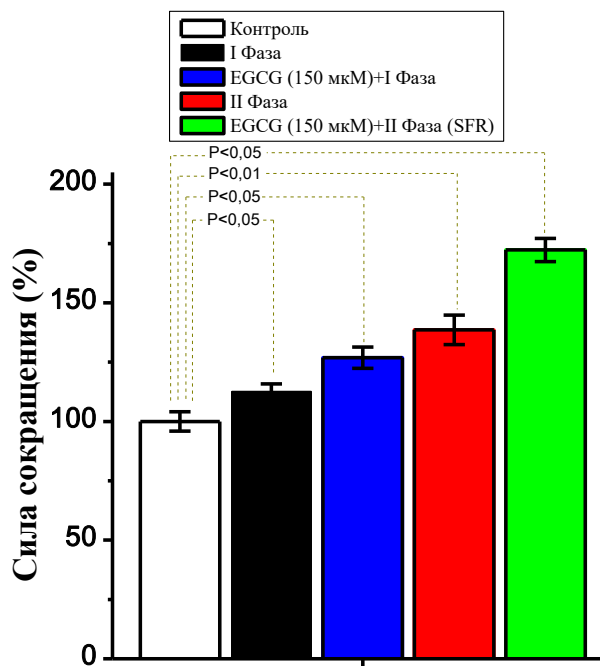


Рис. 10. Действие EGCG (150 мкМ) на сократительную активность миокарда при механическом растяжении ($n=3-4$).

Таким образом, при механическом растяжении быстрого увеличения амплитуды силы сокращения миокарда (I фаза) связано с увеличением Ca^{2+} -чувствительного миофиламента (Allen, Kentish, 1985) и медленного увеличения силы в течение ~10–15 минут (II фаза: SFR) связанного с медленным увеличением $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ через активацию $\text{NHE-1} \rightarrow \text{NCX1}$ (Alvarez et al., 1999; Chatterjee et al., 2015). Увеличение концентрации $[\text{Na}^+]_{in}$ в ~1,5–2 раза в цитоплазме и даже, на ~10 %, происходит в условиях гипоксии при увеличении внутриклеточной концентрации кислых метаболитов, снижения внутриклеточного pH и возникновения ацидоза, активирующий NHE-1 , который вызывает активацию NCX1 , в реверсионном режиме, следствием которого становится увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ (Долгих, 2005).

Одним из известных ингибиторов NHE-1 является амилорид (Dhein, Salameh, 1999; Гурова и др., 2011; Гурова и др., 2012) и в экспериментах выявлено, что блокаторы NHE-1 (амилорид и др.) оказывают кардиопротекторные действия (Kaplan et al., 1995). При этом кардиопротекторное действие амилорида связано с блокированием NHE-1 и, как следствие, уменьшением повреждающего действия чрезмерной активации NHE-1 во время ишемии/реперфузии (Weiss et al., 1990). Таким образом, изменение динамики активации NHE-1 является одним из основных факторов, приводящих к перегрузке $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ в кардиомиотах. Поэтому актуальным направлением является поиск и исследование модуляторов NHE-1 в качестве потенциальных фармакологических агентов, способствующих кардиопротекторному действию.

Итак, в экспериментах блокирование NHE-1 мы проводили амилорид гидрохлоридом (1 мМ). При этом амилорид гидрохлорид (1 мМ) добавляли в среду инкубации и инкубировали ~5 минут до добавления EGCG (150 мкМ). В наших экспериментах показано, что амилорид (1 мМ) незначительно действует на сократительную активность изолированной папиллярной мышцы крысы. Полученные данные сопоставимы с литературными данными (Otani et al., 1990). При этом, инкубация амилоридом (1 мМ) – блокатор NHE-1 оказывает ингибирующее действие на SFR. В тоже время, в этих условиях положительный инотропный эффект EGCG значительно уменьшается (Рисунок 11, Рисунок 12).

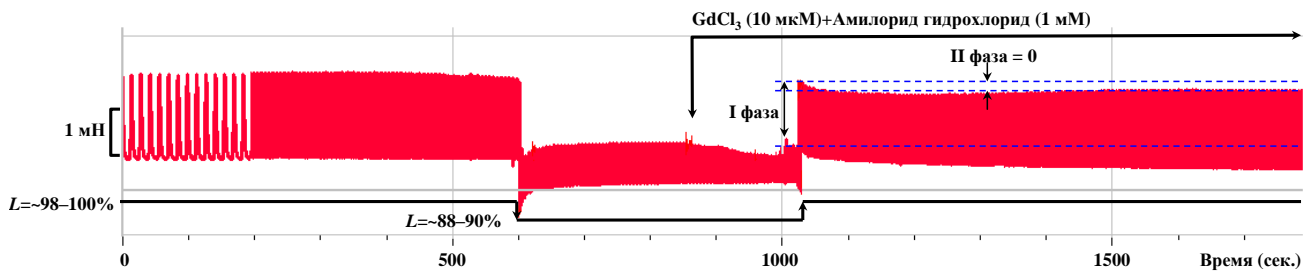


Рис. 11. Действие EGCG (150 мкМ) на сократительную активность миокарда при механическом растяжении в условиях блокады NHE-1 с амилоридом (1 мМ). Оригинальная запись

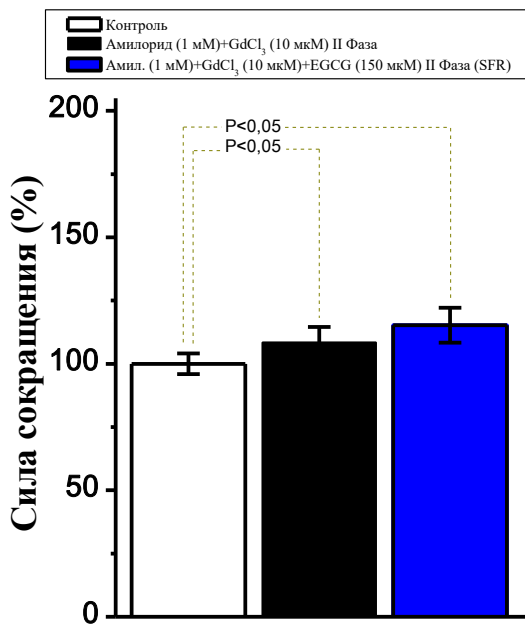


Рис. 12. Действие ингибирующего эффекта амилорида (1 мМ) на положительный инотропный эффект EGCG (150 мкМ) на SFR ($n=3-4$)

Функционирование NCX1 в «прямом» режиме направлена на удаление Ca^{2+} из цитоплазмы в обмен против градиента концентрации Na^+ в стехиометрии $1\text{Ca}^{2+}/3\text{Na}^+$. В условиях увеличения $[\text{Na}^+]_{in}$, обусловленных активацией NHE-1 при снижении $[\text{pH}]_{in}$ или стимуляции каскада реакции при механическом растяжении, инициирует «обратное» реверсионное функционирование NCX1, повышая внутриклеточную концентрацию $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$.

Анализ литературных и полученных экспериментальных данных показывает, что на основе положительного инотропного действия EGCG может лежать активация реверсионной функции NCX1 через модуляцию активности NHE-1, приводящая к изменению внутриклеточной концентрации ионов $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ и модуляции сократительной активности кардиомиоцитов (Рисунок 13).

А также, в литературных данных показано, что EGCG уменьшает активность Na^+/K^+ -АТФазы (Ochiai et al., 2009; Feng et al., 2012), активирует RyR2 (Feng et al., 2010; Feng et al., 2012), увеличивает Ca^{2+} -чувствительный миофиламент в кардиомиоцитах (Wang et al., 2016).

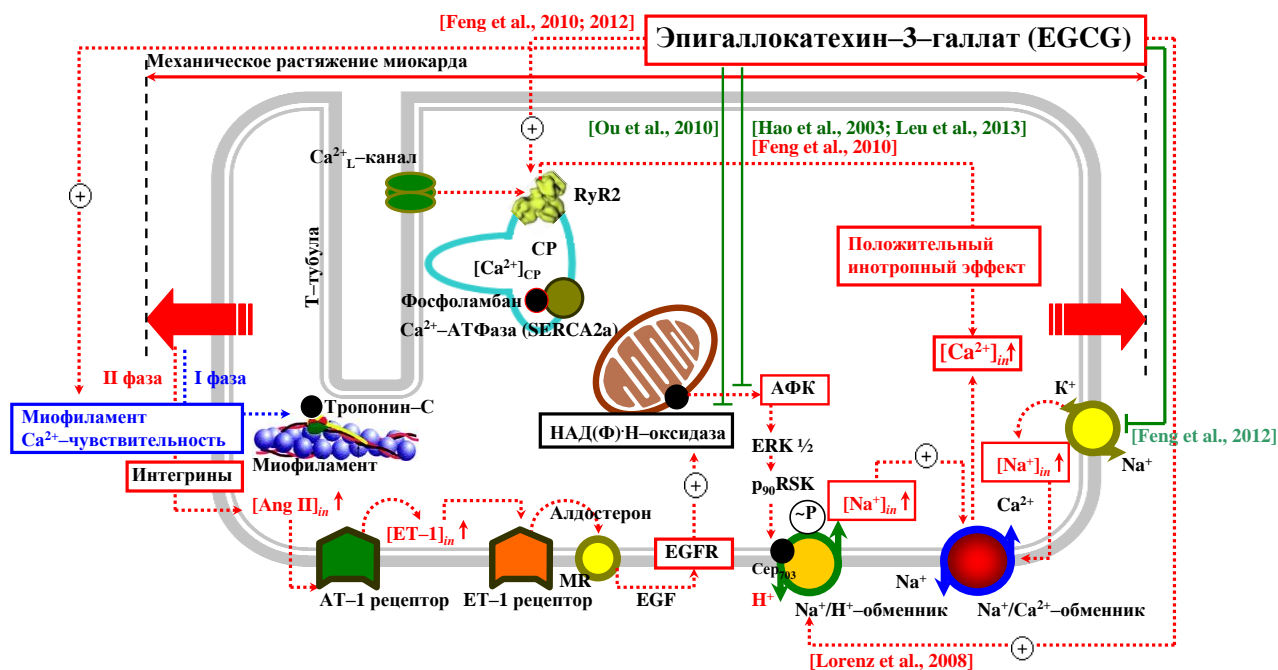


Рис. 13. Гипотетический механизм инотропного действия EGCG. При этом, $[Ca^{2+}]_{in}$ – внутриклеточная концентрация ионов Ca^{2+} ; Ang II – ангиотензина-II; AT-1 – ангиотензиновый рецептор; EGF – эпидермальный фактор роста; EGFR – рецептор эпидермальный фактор роста; ERK 1/2 – внеклеточно сигнал-регулируемые киназы 1 и 2/внеклеточно-регулируемая MAP-киназы 1 и 2; ET-1 – эндотелин-1; MR – минералокортикоидный рецептор; p90RSK – редокс чувствительная p90 рибосомальная киназа s6; RyR2 – рианодинный рецептор саркоплазматического ретикулума; SERCA2a – Ca^{2+} -АТФаза саркоплазматического ретикулума; АФК – активных форм кислорода; НАД(Ф)-Н – никотинамидадениндинуклеотидфосфата; CP – саркоплазматический ретикулум.

5. Заключение

Анализ литературных и полученных экспериментальных данных показывает, что на основе положительного инотропного действия EGCG может лежать комплексная модуляция функций NCX1 через активацию NHE-1 и блокады Na^+/K^+ -АТФазы, а также активацию Ca^{2+} -транспортирующих систем CP (RyR2), приводящая к изменению внутриклеточной концентрации ионов $[Ca^{2+}]_{in}$ и увеличение сократительной активности кардиомиоцитов (рис. 13).

И так, EGCG является одним из перспективных агентов для создания эффективного фармакологического препарата обладающего комплексным кардиопротекторным действием (McKay, Blumberg, 2007; Othman et al., 2017). Полученные результаты могут иметь важное значение при поиске и создании лекарственных средств с кардиопротекторными свойствами на основе EGCG.

6. Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы исследований АН РУз (Проект ФА-Ф-6-004 «Комплексная характеристика механизмов модуляции перспективных мишеней сердечных и гладкомышечных клеток для разработки адекватных подходов терапии сердечно-сосудистых заболеваний»). Авторы выражают искреннюю благодарность руководителю экспериментально-технологической лаборатории Института биоорганической химии им. акад. А.С.Садыкова АН РУз – д.х.н., проф. С.М.Мавлянову за любезное предоставление (–)–эпигаллокатехин-3–галлата.

7. Конфликт интересов

Конфликт интересов не заявляется.

Список использованных сокращений: EGCG – (–)-epigallocatechin 3-O-gallate; HSE – Hugo Sachs Elektronik; $[Ca^{2+}]_i$ – внутриклеточная концентрация ионов Ca^{2+} ; ACE (Angiotensin-converting enzyme) ангиотензин образующий фермент; Ang II – (Angiotensin II) ангиотензин-II; ARE – (Antioxidant response element) промоторный антиоксидант-респонсивный элемент; CaM – (Calmodulin) кальмодулин; CIOMS – (The Council for International Organizations of Medical Sciences) Международный совет медицинских научных обществ; EGF – (Epidermal growth factor) эпидермальный фактор роста; EGFR – (epidermal growth factor receptor) рецептор эпидермальный фактор роста; eNOS – (Endothelial nitric oxide synthase) эндотелиальная синтаза оксида азота; ERK $\frac{1}{2}$ – (Extracellular signal-regulated protein kinases/Extracellular regulated MAP kinase) внеклеточный сигнал-регулируемые киназы 1 и 2/ внеклеточно-регулируемое MAP-киназы 1 и 2; ET-1 – (Endothelin-1) эндотелин-1; Jak2 – (Janus kinase 2) янус-киназа 2; Keap1 – (Kelch ECH associating protein-1) репрессорный белок; L-NAME – (N ω -nitro-L-arginine methyl ester) N ω -нитро-L-аргинин метиловый эфир; MR – (Mineralocorticoid receptor) минералокортикоидный рецептор; NF- κ B – (Nuclear factor κ B) ядерный фактор каппа-би; NHE-1 – (Sodium/hydrogen exchanger-1) натрий/протонный обменник первой изоформы; Nrf2 – (Nuclear factor erythroid 2-related factor) фактор транскрипции 2; p90RSK – (Redox-sensitive kinases/p90 ribosomal S6 kinase) редокс чувствительный p90 рибосомальная киназа s6; RyR2 – (Ryanodine receptor 2) рианодиновый рецептор; SACNSC – (Stretch-activated non-selective cation channels) неселективный катионный канал активируемых с растяжением (чувствительные к растяжению/механозависимые); SERCA2a – (Sarco(end)plasmic reticulum Ca^{2+} ATPase 2) Ca^{2+} -АТФаза сарко-эндоплазматического ретикулума; SFR – (Slow force response) медленный инотропный эффект; β -AR – (Beta-adrenergic receptors) β -адренорецептор; АН РУз – Академии Наук Республики Узбекистан; АФК – активные формы кислорода (на англоязычных литературах ROS – Reactive oxygen species); ГЦ – растворимая гуанилатциклаза; ДМСО – диметилсульфоксид; EC $_{50}$ – (half maximal effective concentration) концентрация, вызывающий эффект на 50%; MAPK – (Mitogen-activated protein kinase) митоген-активируемая протеинкиназа; НАД(Ф)•Н – никотинамидадениндинуклеотидфосфат; ПКС – протеинкиназа C; PKG – протеинкиназа G; CP – саркоплазматический ретикулум; цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат.

Литература

- Балаболкин, Белоярцева, 2001 – Балаболкин М.И., Белоярцева, М.Ф. Роль Na^+/H^+ -обменника в патогенезе сахарного диабета 2 типа. *Сахарный диабет*, 2001, 2: 49–55.
- Барабой, 2009 – Барабой, В.А. Фенольные соединения виноградной фенольные соединения виноградной лозы: структура, антиоксидантная активность, применение. *Биотехнология*, 2009, 2(2): 67–75.
- Гурова и др., 2011 – Гурова, Н.А., Спасов, А.А., Питерсен, А.С. Метод изучения влияния новых соединений на активность натрий/водородного обменника. *Вестник ВолГМУ*, 2011, 2(38): 70–72.
- Гурова и др., 2012 – Гурова, Н.А., Питерсен, А.С., Федорчук, В.Ю., Косолапова, Д.В. Влияние амилорида на активность Na^+/H^+ -обменника тромбоцитов. *Волгоградский научно-медицинский журнал*, 2012, 2: 19–21.
- Долгих, 2005 – Долгих, В.Т. Патогенетическая значимость перегрузки кардиомиоцитов Ca^{2+} в развитии постреанимационной недостаточности сердца. *Бюллетень СО РАМН*, 2005, 3(117): 7–13.
- Зенков и др., 2015 – Зенков, Н.К., Колпаков, А.Р., Меньщикова, Е.Б. Редокс-чувствительная система Keap $_1$ /Nrf $_2$ /ARE как фармакологическая мишень при сердечно-сосудистой патологии. *Сибирский научный медицинский журнал*, 2015, 35(5): 5–25.
- Кондратьев и др., 2008 – Кондратьев, Д.В., Казанский, В.Е., Камкин, А.Г. Роль кальция в реакции сердца на механическое воздействие. *Успехи физиологических наук*, 2008, 39(3): 3–28.
- Коновалов, 2013 – Коновалов, П.В. Медленный инотропный ответ в неоднородном миокарде. Автореферат дисс. ... к.б.н. (03.03.01–физиология). 2013: 3–5.
- Мусаев и др., 2009 – Мусаев, М.М., Усманов, П.Б., Рахматов, Ф.А., Хушматов, Ш.С. Программа для ЭВМ «Анализ кинетики мышечного сокращения». Государственное

патентное ведомство РУз. Свидетельство № DGU 01873. 18.12.2009 г. *Официальный бюллетень*, 2009, 1(9): 170–171.

Пирниязов и др., 2003 – Пирниязов, А.Ж., Абдулладжанова, Н.Г., Мавлянов, С.М., Камаев, Ф.Г., Долимов, Д.Н. (2003). Полифенолы косточек *Vitis vinifera*. *Химия природных соединений*, 2003, 4: 281–285.

Птицын, 2007 – Птицын, А.В. Технология выделения флавоноидов винограда *Vitis vinifera* сорта «Изабелла» для косметики и изучение их свойств // Автореферат дисс. ... к.х.н. (03.00.23–биотехнология), 2007: 3–18.

Смолюк, Проценко, 2011 – Смолюк, Л.Т., Проценко, Ю.Л. Вязкоупругий гистерезис папиллярной мышцы // *Российский журнал биомеханики*, 2011, 15(2:52): 24–31.

Спасов и др., 2013 – Спасов, А.А., Гурова, Н.А., Харитонов, М.В. Структура и биологическая роль NHE-1. Фармакологическая регуляция его активность. *Экспериментальная и клиническая фармакология*, 2013, 76(1): 43–48.

Тимофеева, 2015 – Тимофеева, А.С. Фармакологические свойства производных циклических гуанидинов – ингибиторов Na^+/H^+ -обмена. Дисс. ... к. мед.н. (14.03.06–фармакология, клиническая фармакология). 2015: 190.

Хушматов и др., 2016 – Хушматов, Ш.С., Агзамова, М.А., Баратов, К.А., Инагамов, У.К., Исаев, И.М. Кардиотоническое действие циклоартанового гликозида – астрагалозида VII. *European Journal of Medicine*, 2016, 5(1): 18–25.

Хушматов, 2015 – Хушматов, Ш.С., Махмудов, Р.П., Мавлянов, С.М. Сравнительное изучение инотропной и антиаритмической активности флавоноидов – кверцетина, рутина и (+)катехина. *Российский кардиологический журнал*, 2015, 11(127): 35–41.

Ait-Mou et al., 2016 – Ait-Mou, Y., Hsu, K., Farman, G.P., Kumar, M., Greaser, M.L., Irving, T.C., De Tombe P.P. Titin strain contributes to the Frank-Starling law of the heart by structural rearrangements of both thin- and thick-filament proteins. *PNAS*, 2016, 1–6.

Allen, Kentish, 1985 – Allen, D.G., Kentish, J.C. The cellular basis of the length-tension relation in cardiac muscle. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 1985, 17: 821–840.

Alvarez et al., 1999 – Alvarez, B.V., Perez, N.G., Ennis, I.L., De Hurtado, M.C.C., Cingolani, H.E. Mechanisms underlying the increase in force and Ca^{2+} transient that follow stretch of cardiac muscle: a possible explanation of the Anrep effect. *Circ Res.*, 1999, 85: 716–722.

Baudouin, Bateman, 1988 – Baudouin, S.V., Bateman, N.T. Effect of amiloride on contractility of rat cardiac muscle exposed to chronic hypercapnia and acute acidosis. *Cardiovasc. Res.*, 1988, 22(11): 754–758.

Bers et al., 2003 – Bers, D.M., Barry, W.H., Despa, S. Intracellular Na^+ regulation in cardiac myocytes. *Cardiovascular Research*, 2003, 57(4): 897–912.

Beyer et al., 1988 – Beyer, T., Hergeroder, W., Ravens, U. Effects of bivalent cations on post-rest adaptation in guinea-pig heart muscle. *Gen. Physiol. Biophys.*, 1988, 7: 329–344.

Bluhm, 1998 – Bluhm, W.F., Lew, W.Y.W., Garfinkel, A., McCulloch, A.D. Mechanisms of length history-dependent tension in an ionic model of the cardiac myocyte. *Am. J. Physiol.*, 1998, 274 (*Heart Circ Physiol*, 43): H1032–H1040.

Brookes et al., 2004 – Brookes, P.S., Yoon, Y., Robotham, J.L., Anders, M.W., Sheu, S.-S. Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2004, 287: C817–C833.

Calaghan, White, 1999 – Calaghan, S.C., White, E. The role of calcium in the response of cardiac muscle to stretch. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 1999, 71: 59–90.

Calaghan, White, 2001 – Calaghan, S.C., White, E. Contribution of angiotensin II, endothelin 1 and the endothelium to the slow force response to stretch in ferret papillary muscle. *Pflugers. Arch*, 2001, 441: 514–520.

Caldiz et al., 2007 – Caldiz, C.I., Garcarena, C.D., Dulce, R.A., Novaretto, L.P., Yeves, A.M., Ennis, I.L., Cingolani, H.E., Chiappe de Cingolani, G., Perez, N.G. Mitochondrial reactive oxygen species activate the slow force response to stretch in feline myocardium. *J. Physiol.*, 2007, 584: 895–905.

Caldiz et al., 2011 – Caldiz, C.I., Diaz, R.G., Nolly, M.B., De Cingolani, G.E.C., Ennis, I.L., Cingolani, H.E., Perez, N.G. Mineralocorticoid receptor activation is crucial in the signalling pathway leading to the Anrep effect. *The Journal of Physiology*, 2011, 589(24): 6051–6061.

Chatterjee et al., 2015 – Chatterjee, S., Fujiwara, K., Perez, N.G., Ushio–Fukai, M., Fisher, A.B. (2015). Mechanosignaling in the vasculature: emerging concepts in sensing, transduction and physiological responses. *Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol.*, 2015, 308: H1451–H1462.

Chen, 2012 – Chen, J. (2012). Prevention of obesity–associated colon cancer by (–)–epigallocatechin–3 gallate and curcumin. *Transl. Gastrointest. Cancer*, 2012, 1(3): 243– 249.

Chiba et al., 1978 – Chiba S., Furukawa Y., Kobayashi M. Effect of nifedipine on frequency–force relationship in isolated dog left ventricular muscle. *Japan J. Pharmacol*, 1978, 28(783): 1–3.

Cingolani et al., 2001 – Cingolani, H.E., Perez, N.G., De Hurtado, M.C.C. An autocrine/paracrine mechanism triggered by myocardial stretch induces changes in contractility. *News Physiol. Sci.*, 2001, 16: 88–91.

Cingolani et al., 2006 – Cingolani, H.E., Villa–Abrille, M.C., Cornelli, M., Nolly, A., Ennis, I.L., Garcarena, C., Suburo, A.M., Torbidoni, V., Correa, M.V., De Hurtado, M.C.C., Aiello, E.A. The positive inotropic effect of angiotensin II role of endothelin–1 and reactive oxygen species. *Hypertension*, 2006, 47: 727–734.

Cingolani et al., 2013 – Cingolani, H.E., Perez, N.G., Cingolani, O.H., Ennis, I.L. The Anrep effect: 100 years later. *Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol.*, 2013, 304: H175–H182.

Dhein, Salameh, 1999 – Dhein, S., Salameh, A. Na⁺/H⁺–exchange inhibition by cariporide (HOE 642): a new principle in cardiovascular medicine. *Cardiovascular Drug Reviews*, 1999, 17(2): 134–146.

Diaz et al., 2014 – Diaz, R.G., Perez, N.G., Morgan, P.E., Villa–Abrille, M.C., Caldiz, C.I., Nolly, M.B., Portiansky, E.L., Ennis, I.L., Cingolani, H.E. Myocardial mineralocorticoid receptor activation by stretching and its functional consequences. *Hypertension*, 2014, 63: 112–118.

Dinicola et al., 2014 – Dinicola, S., Cucina, A., Antonacci, D., Bizzarri, M. Anticancer Effects of grape seed extract on human cancers: a review. *J. Carcinog. Mutagen*, 2014, S8: 1–14.

Ennis et al., 2013 – Ennis, I.L., Aiello, E.A., Cingolani, H.E., Perez, N.G. The autocrine/paracrine loop after myocardial stretch: mineralocorticoid receptor activation. *Current Cardiology Reviews*, 2013, 9: 230–240.

Feng et al., 2010 – Feng, W., Cherednichenko, G., Ward, C.W., Padilla, I.T., Cabrales, E., Lopez, J.R., Eltit, J.M., Allen, P.D., Pessah, I.N. Green tea catechins are potent sensitizers of ryanodine receptor type 1 (RyR1). *Biochemical Pharmacology*, 2010, 80: 512–521.

Feng et al., 2012 – Feng, W., Hwang, H.S., Kryshnal, D.O., Yang, T., Padilla, I.T., Tiwary, A.K., Puschner, B., Pessah, I.N., Knollmann, B.C. Coordinated regulation of murine cardiomyocyte contractility by nanomolar (–)–epigallocatechin–3–gallate, the major green tea catechin. *Mol Pharmacol*, 2012, 82: 993–1000.

Ferrieres, 2004 – Ferrieres, J. The french paradox: lessons for other countries. *Heart*, 2004, 90: 107–111.

Fliegel, 2005 – Fliegel L. The Na⁺/H⁺–exchanger isoform 1. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 2005, 37(1): 33–37.

Fliegel, 2009 – Fliegel, L. Regulation of the Na⁺/H⁺–exchanger in the healthy and diseased myocardium. *Expert Opin. Ther. Targets*, 2009, (1): 55–68.

Fliegel, Dyck, 1995 – Fliegel, L., Dyck, J.R.B. Molecular biology of the cardiac sodium/hydrogen exchanger. *Cardiovasc Res.*, 1995, 29: 155–159.

Garcarena et al., 2008 – Garcarena, C.D., Caldiz, C.I., Correa, M.V., Schinella, G.R., Mosca, S.M., De Cingolani, G.E.C., Cingolani, H.E., Ennis, I.L. Na⁺/H⁺–exchanger–1 inhibitors decrease myocardial superoxide production via direct mitochondrial action. *J. Appl. Physiol.*, 2008, 105: 1706–1713.

Georgiev et al., 2014 – Georgiev, V., Ananga, A., Tsoleva, V. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. *Nutrients*, 2014, 6: 391–415.

Goette et al., 2002 – Goette, A., Lendeckel, U., Klein, H.U. Signal transduction systems and atrial fibrillation. *Cardiovascular Research*, 2002, 54: 247–258.

Hamlaoui et al., 2012 – Hamlaoui, S., Mokni, M., Limam, N., Zouaoui, K., Ben Rayana, M.C., Carrier, A., Limam, F., Amri, M., Marzouki, L., Aouani, E. Protective effect of grape seed and skin extract on garlic–induced erythrocyte oxidative stress. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2012, 63(4): 381–388.

Hsieh et al., 2013 – Hsieh, S.-R., Hsu, C.-S., Lu, C.-H., Chen, W.-C., Chiu, C.-H., Liou, Y.-M. Epigallocatechin-3-gallate-mediated cardioprotection by Akt/GSK-3 β /caveolin signalling in H9c2 rat cardiomyoblasts. *Journal of Biomedical Science*, 2013, 20(86): 1–13.

Kaplan et al., 1995 – Kaplan, S.H., Yang, H., Gilliam, D.E., Shen, J., Lemasters, J.J., Cascio, W.E. Hypercapnic acidosis and dimethyl amiloride reduce reperfusion induced cell death in ischaemic ventricular myocardium. *Cardiovasc Res*, 1995, 29: 231–238.

Karmazyn et al., 1999 – Karmazyn, M., Gan, X.T., Humphreys, R.A., Yoshida, H., Kusumoto, K. The myocardial Na⁺/H⁺-exchange structure, regulation, and its role in heart disease. *Circ Res*, 1999, 85: 777–786.

Karmazyn et al., 2005 – Karmazyn, M., Sawyer, M., Fliegel, L. The Na⁺/H⁺-exchanger: a target for cardiac therapeutic intervention. *Current Drug Targets – Cardiovascular & Haematological Disorders*, 2005, 5: 1–13.

Karmazyn, 1988 – Karmazyn, M. Amiloride enhances postischemic ventricular recovery: possible role of Na⁺/H⁺-exchange. *Am. J. Physiol. (Heart Circ. Physiol.)*, 24, 1988: 255. H608–H615.

Karmazyn, Moffat, 1993 – Karmazyn, M., Moffat, M.P. Role of Na⁺/H⁺-exchange in cardiac physiology and pathophysiology: mediation of myocardial reperfusion injury by the pH paradox. *Cardiovasc. Res.*, 1993, 27: 915–924.

Katz, 2002 – Katz A.M. Ernest Henry Starling, his predecessors, and the «Law of the Heart». *Circulation*, 2002, 106: 2986–2992.

Kentish, Wrzosek, 1998 – Kentish, J.C., Wrzosek, A. Changes in force and cytosolic Ca²⁺ concentration after length changes in isolated rat ventricular trabeculae. *Journal of Physiology*, 1998, 506(2): 431–444.

Khushmatov, 2015 – Khushmatov, Sh.S., Eshbakova, K.A., Alimova, D. The inotropic effects of 3',4'-dimethyl quercetin in isolated rat papillary muscle. *European Journal of Medicine*, 2015, 9(3): 170–179.

Khushmatov, 2017 – Khushmatov, Sh.S., Usmanov, P.B., Inogamov, U.K., Toshmatov, Z.O., Aisa, H.A., Eshbakova, K.A. Possible involvement of NO-synthase in inotropic effect of 4',5'-dihydroxy-7-methoxyflavon in rat cardiac muscle. *Open Access Journal of Translational Medicine & Research (USA)*, 2017, 1(3):00014: 2/1–2/7.

Kihara et al., 1994 – Kihara, Y., Sasayama, S., Inoko, M., Morgan, J.P. Sodium/calcium exchange modulates intracellular calcium overload during posthypoxic reoxygenation in mammalian working myocardium. Evidence from aequorin-loaded ferret ventricular muscles. *J. Clin. Invest.*, 1994, 93(3): 1275–1284.

Kockskamper et al., 2008 – Kockskamper, J., Khafaga, M., Grimm, M., Elgner, A., Walther, S., Kockskamper, A., Von Lewinski, D., Post, H., Grossmann, M., Dorge, H., Gottlieb, P.A., Sachs, F., Eschenhagen, T., Schondube, F.A., Pieske, B. Angiotensin II and myosin light-chain phosphorylation contribute to the stretch-induced slow force response in human atrial myocardium. *Cardiovascular Research*, 2008, 79: 642–651.

Kumazoe, Tachibana, 2016 – Kumazoe, M., Tachibana, H. Anti-cancer effect of EGCG and its mechanisms. *Functional Foods in Health and Disease*, 2016, 6(1): 70–78.

Lab et al., 1994 – Lab, M.J., Zhou, B.Y., Spencer, C.I., Horner, S.M., Seed, W.A. Effects of gadolinium on length-dependent force in guinea-pig papillary muscle. *Exp. Physiol.*, 1994, 79: 249–255.

Lagadic-Gossmann, Feuvray, 1990 – Lagadic-Gossmann, D., Feuvray, D. Decreased sensitivity of contraction to changes of intracellular pH in papillary muscle from diabetic rat hearts. *Journal of Physiology*, 1990, 422: 481–497.

Leifert, Abeywardena, 2007 – Leifert, W.R., Abeywardena, M.Y. Cardioprotective actions of grape polyphenols. *Nutrition Research*, 2007, 28: 729–737.

Li et al., 2012 – Li, M., Liu, J.T., Pang, X.M., Han, C.J., Mao, J.J. Epigallocatechin-3-gallate inhibits angiotensin II and interleukin-6-induced C-reactive protein production in macrophages. *Pharmacol Rep.*, 2012, 64(4): 912–918.

Malo, Fliegel, 2006 – Malo M.E., Fliegel, L. Physiological role and regulation of the Na⁺/H⁺-exchanger. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 2006, 84(11): 1081–1095.

Mann et al., 2007 – Mann, G.E., Rowlands, D.J., Li, F.Y.L., De Winter, P., Siow, R.C.M. Activation of endothelial nitric oxide synthase by dietary isoflavones: Role of NO in Nrf₂-mediated antioxidant gene expression. *Cardiovascular Research*, 2007, 75: 261–274.

McKay, Blumberg, 2007 – McKay, D.L., Blumberg, J.B. Roles for epigallocatechin gallate in cardiovascular disease and obesity: an introduction // *Journal of the American College of Nutrition*, 2007, 26(4): 362S–365S.

Nagle et al., 2006 – Nagle, D.G., Ferreira, D., Zhou, Y.D. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG): chemical and biomedical perspectives. *Phytochemistry*, 2006, 67: 1849–1855.

Neves et al., 2016 – Neves, J.S., Leite-Moreira, A.M., Neiva-Sousa, M., Almeida-Coelho, J., Castro-Ferreira, R., Leite-Moreira, A.F. Acute myocardial response to stretch: what we (don't) know. *Front Physiol.*, 2016, 6(408): 1–11.

Nicolosi et al., 2001 – Nicolosi, A.C., Kwok, C.S., Contney, S.J., Olinger, G.N., Bosnjak, Z.J. Gadolinium prevents stretch-mediated contractile dysfunction in isolated papillary muscles. *Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol.*, 2001, 280: P.H1122–H1128.

Nimse, Pal, 2015 – Nimse, S.B., Pal, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv.*, 2015, 5: 27986–28006.

Ochiai et al., 2009 – Ochiai, H., Takeda, K., Soeda, S., Tahara, Y., Takenaka, H., Abe, K., Hayashi, Y., Noguchi, S., Inoue, M., Schwarz, S., Schwarz, W., Kawamura, M. Epigallocatechin-3-gallate is an inhibitor of Na⁺/K⁺-ATPase by favoring the E1 conformation. *Biochem. Pharmacol.*, 2009, 78: 1069–1074.

Olchowik et al., 2012 – Olchowik, E., Lotkowski, K., Mavlyanov, S., Abdullajanova, N., Ionov, M., Bryszewska, M., Zamaraeva, M. Stabilization of erythrocytes against oxidative, and hypotonic stress by tannins isolated from sumac leaves (*Rhus typhina* L.) and grape seeds (*Vitis vinifera* L.). *Cellular and Molecular Biology Letters*, 2012, 7(3): 333–348.

Otani et al., 1990 – Otani, H., Uriu, T., Hara, M., Inoue, M., Omori, K., Cragoe, E.J., Inagaki, C. Effects of inhibitors of protein kinase C and Na⁺/H⁺-exchange on α₁-adrenoceptor-mediated inotropic responses in the rat left ventricular papillary muscle. *Br J Pharmacol*, 1990, 100: 207–210.

Othman et al., 2017 – Othman, A.I., Elkomy, M.M., El-Missiry, M.A., Dardor M. Epigallocatechin-3-gallate prevents cardiac apoptosis by modulating the intrinsic apoptotic pathway in isoproterenol-induced myocardial infarction. *European Journal of Pharmacology*, 2017, 794: 27–36.

Parmley, Chuck, 1973 – Parmley, W.W., Chuck L. Length-dependent changes in myocardial contractile state. *Am. J. Physiol.*, 1973, 224: 1195–1199.

Pedersen et al., 2006 – Pedersen, S.F., O'Donnell, M.E., Anderson, S.E., Cala, P.M. Physiology and pathophysiology of Na⁺/H⁺-exchange and Na⁺-K⁺-2Cl⁻-cotransport in the heart, brain, and blood. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2006, 291: R1–R25.

Perez et al., 2001 – Perez, N.G., De Hurtado, M.C., Cingolani, H.E. Reverse mode of the Na⁺/Ca²⁺-exchange after myocardial stretch: underlying mechanism of the slow force response. *Circ Res*, 2001, 88: 376–382.

Perez et al., 2011 – Perez, N.G., Nolly, M.B., Roldan, M.C., Villa-Abrille, M.C., Cingolani, E., Portiansky, E.L., Alvarez, B.V., Ennis, I.L., Cingolani H.E. Silencing of NHE-1 blunts the slow force response to myocardial stretch. *J. Appl. Physiol.*, 2011, 111: 874–880.

Petrecca et al., 1999 – Petrecca, K., Atanasiu, R., Grinstein, S., Orlowski, J., Shrier, A. Subcellular localization of the Na⁺/H⁺-exchanger NHE-1 in rat myocardium. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 1999, 276: H709–H717.

Pierce, Meng, 1992 – Pierce, G.N., Meng, H. The role of sodium-proton exchange in ischemic/reperfusion injury in the heart. *Am J Cardiovasc Pathol*, 1992, 4: 91–102.

Pimentel et al., 2001 – Pimentel, D.R., Amin, J.K., Xiao, L., Miller, T., Viereck, J., Oliver-Krasinski, J., Baliga, R., Wang, J., Siwik, D.A., Singh, K., Pagano, P., Colucci, W.S., Sawyer, D.B. Reactive oxygen species mediate amplitude-dependent hypertrophic and apoptotic responses to mechanical stretch in cardiac myocytes. *Circ Res.*, 2001, 89: 453–460.

Piper et al., 2004 – Piper, H.M., Abdallah, Y., Schafer, C. The first minutes of reperfusion: a window of opportunity for cardioprotection. *Cardiovascular Research*, 2004, 61: 365–371.

Rasines-Perea, Teissedre, 2017 – Rasines-Perea, Z., Teissedre, P.-L. Grape polyphenols' effects in human cardiovascular diseases and diabetes. *Molecules*, 2017, 22(68): 1–19.

Reed, Kohl, 2014 – Reed, A., Kohl, P., Peyronnet, R. Molecular candidates for cardiac stretch-activated ion channels. *Global Cardiology Science and Practice*, 2014, 14: 19. 1–17.

Rodney et al., 2009 – Rodney, G.G., Cabrales, E., Pessah, I.N., Feng, W. Cardiac Ca²⁺ release channel/RyR2 – molecular mechanism of green tea extract epigallocatechin-3-gallate. *Biophysical Journal*, 2009, 577–Pos B456: 96(3:1). 112a.

Sahin et al., 2010 – Sahin, K., Tuzcu, M., Gencoglu, H., Dogukan, A., Timurkan, M., Sahin, N., Aslan, A., Kucuk O. Epigallocatechin-3-gallate activates Nrf2/HO-1 signaling pathway in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Life Sciences*. 2010. 87. pp. 240–245.

Sarigianni et al., 2010 – Sarigianni, M., Tsapas, A., Mikhailidis, D.P., Kaloyianni, M., Koliakos, G., Fliegel, L., Paletas K. Na⁺/H⁺-exchanger-1: a link with atherogenesis? *Expert Opin Investig Drugs*, 2010, 19(12): 1545–1556.

Schini-Kerth et al., 2010 – Schini-Kerth, V.B., Auger, C., Etienne-Selloum, N., Chataigneau, T. Cardiovascular Pharmacology – Endothelial control. Chapter 6 – Polyphenol-induced endothelium-dependent relaxations: Role of NO and EDHF, 2010, 60: 133–175.

Shigekawa, Iwamoto, 2001 – Shigekawa, M., Iwamoto, T. Cardiac Na⁺/Ca²⁺-exchange. Molecular and pharmacological aspects. *Circulation Research*, 2001, 88: 864.

Singh et al., 2016 – Singh, N.A., Mandal, A.K.A., Khan Z.A. Potential neuroprotective properties of epigallocatechin-3-gallate (EGCG). *Nutrition Journal*, 2016, 15(60): 2–17.

Sonoda et al., 2014 – Sonoda, J.-I., Ikeda, R., Baba, Y., Narumi, K., Kawachi, A., Tomishige, E., Nishihara, K., Takeda, Y., Yamada, K., Sato, K., Motoya T. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate, attenuates the cell viability of human non-small-cell lung cancer A549 cells via reducing Bcl-xL expression. *Experimental and therapeutic medicine*, 2014, E8: 59–63.

Stagg, Terracciano, 2005 – Stagg M.A., Terracciano C.M.N. Less Na⁺/H⁺-exchanger to treat heart failure: a simple solution for a complex problem? *Cardiovascular Research*, 2005, 65(1): 10–12.

Tavi et al., 1996 – Tavi, P., Laine, M., Weckstrom, M. Effect of gadolinium on stretch-induced changes in contraction and intracellularly recorded action- and afterpotentials of rat isolated atrium. *British Journal of Pharmacology*, 1996, 118: 407–413.

Vasilets et al., 1989 – Vasilets, L.A., Mokh, V.P., Khodorov, B.I. Prevention of reperfusion-induced arrhythmia by Na⁺/H⁺-exchange block. *Kardiologiia*, 1989, 29(2): 91–94.

Villa-Abrille et al., 2010 – Villa-Abrille, M.C., Caldiz, C.I., Ennis, I.L., Nolly, M.B., Casarini, M.J., De Cingolani, G.E.C., Cingolani, H.E., Perez, N.G. The Anrep effect requires transactivation of the epidermal growth factor receptor. *J. Physiol.*, 2010, 588(9): 1579–1590.

Von Anrep, 1912 – Von Anrep, G. On the part played by the suprarenals in the normal vascular reactions of the body. *J. Physiol.*, 2012, 45: 307–317.

Von Lewinski et al., 2004 – Von Lewinski, D., Stumme, B., Fialka, F., Luers, C., Pieske, B. Functional relevance of the stretch-dependent slow force response in failing human myocardium. *Circ. Res.*, 2004, 94: 1392–1398.

Wang et al., 2016 – Wang, X., Zhang, Z., Wu, G., Nan, C., Shen, W., Hua, Y., Huang, X. Green tea extract catechin improves internal cardiac muscle relaxation in RCM mice. *Journal of Biomedical Science*, 2016, 23:51: 1–8.

Ward et al., 2008 – Ward, M.L., Williams, I.A., Chu, Y., Cooper, P.J., Ju, Y.K., Allen, D.G. Stretch-activated channels in the heart: contributions to length-dependence and to cardiomyopathy. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 2008, 97(2–3): 232–249.

Ward, Allen, 2005 – Ward, M.L., Allen, D.G. Mechanisms underlying the stretch-dependent slow inotropic response in isolated mouse myocardium. *Proceedings of the Australian Physiological Society*, 2005, 36: 105.

Weiss et al., 1990 – Weiss, R.G., Lakatta, E.G., Gerstenblith, G. Effects of amiloride on metabolism and contractility during reoxygenation in perfused rat hearts. *Circulation Research*, 1990, 66: 1012–1022.

Xia et al., 2010 – Xia, E.-Q., Deng, G.-F., Guo, Y.-J., Li, H.-B. Biological activities of polyphenols from Grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 2010, 11: 622–646.

Yeves et al., 2015 – Yeves, A.M., Caldiz, C.I., Aiello, E.A., Villa-Abrille, M.C., Ennis, I.L. Reactive oxygen species partially mediate high dose angiotensin II-induced positive inotropic effect in cat ventricular myocytes. *Cardiovasc Pathology*, 2015, 24(4): 236–240.

Zhang et al., 2000 – Zhang, Y.H., Youm, J.B., Sung, H.K., Lee, S.H., Ryu, S.Y., Ho, W.K., Earm, Y.E. Stretch-activated and background non-selective cation channels in rat atrial myocytes. *J. Physiol.*, 2000, 523: 607–619.

Zhang et al., 2009 – Zhang, Y.H., Dingle, L., Hall, R., Casadei, B. The role of nitric oxide and reactive oxygen species in the positive inotropic response to mechanical stretch in the mammalian myocardium. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2009, 1787: 811–817.

References

Khushmatov i dr., 2015 – Khushmatov, Sh.S., Maxmudov, R.R., Mavlyanov, S.M. (2015). Sravnitelnoe izuchenie inotropnoy i antiaritmicheskoy aktivnosti flavonoidov – kversetina, rutina i (+)kateksina. *Rossiyskiy kardiologicheskiy jurnal*. 11(127): 35–41. [in Russian]

Khushmatov, 2017 – Khushmatov, Sh.S., Usmanov, P.B., Inogamov, U.K., Toshmatov, Z.O., Aisa, H.A., Eshbakova, K.A. (2017). Possible involvement of NO-synthase in inotropic effect of 4',5'-dihydroxy-7-methoxyflavon in rat cardiac muscle. *Open Access Journal of Translational Medicine & Research (USA)*, 1(3):00014: 2/1–2/7.

Khushmatov, 2015 – Khushmatov, Sh.S., Eshbakova, K.A., Alimova, D. (2015). The inotropic effects of 3',4'-dimethyl quercetin in isolated rat papillary muscle. *European Journal of Medicine*, 9(3): 170–179.

Ptitsyn, 2007 – Ptitsyn, A.V. (2007). Texnologiya vydeleniya flavonoidov vinograda *Vitis vinifera* sorta «Izabella» dlya kosmetiki i izuchenie ih svoystv. Avtoreferat diss. ... k.x.n. (03.00.23–biotexnologiya): 3–18. [in Russian]

Leifert, Abeywardena, 2007 – Leifert, W.R., Abeywardena, M.Y. (2007). Cardioprotective actions of grape polyphenols. *Nutrition Research*, 28: 729–737.

Nagle et al., 2006 – Nagle, D.G., Ferreira, D., Zhou, Y.D. (2006). Epigallocatechin-3-gallate (EGCG): chemical and biomedical perspectives. *Phytochemistry*, 67: 1849–1855.

Singh et al., 2016 – Singh, N.A., Mandal, A.K.A., Khan Z.A. (2016). Potential neuroprotective properties of epigallocatechin-3-gallate (EGCG). *Nutrition Journal*, 15(60): 2–17.

Sahin et al., 2010 – Sahin, K., Tuzcu, M., Gencoglu, H., Dogukan, A., Timurkan, M., Sahin, N., Aslan, A., Kucuk O. (2010). Epigallocatechin-3-gallate activates Nrf2/HO-1 signaling pathway in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Life Sciences*. 2010. 87. – P.240–245.

Hamlaoui et al., 2012 – Hamlaoui, S., Mokni, M., Limam, N., Zouaoui, K., Ben Rayana, M.C., Carrier, A., Limam, F., Amri, M., Marzouki, L., Aouani, E. (2012). Protective effect of grape seed and skin extract on garlic-induced erythrocyte oxidative stress. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 63(4): 381–388.

Olchowik et al., 2012 – Olchowik, E., Lotkowski, K., Mavlyanov, S., Abdullajanova, N., Ionov, M., Bryszewska, M., Zamaraeva, M. (2012). Stabilization of erythrocytes against oxidative and hypotonic stress by tannins isolated from sumac leaves (*Rhus typhina* L.) and grape seeds (*Vitis vinifera* L.). *Cellular and Molecular Biology Letters*, 7(3): 333–348.

Hsieh et al., 2013 – Hsieh, S.-R., Hsu, C.-S., Lu, C.-H., Chen, W.-C., Chiu, C.-H., Liou, Y.-M. (2013). Epigallocatechin-3-gallate-mediated cardioprotection by Akt/GSK-3 β/caveolin signalling in H9c2 rat cardiomyoblasts. *Journal of Biomedical Science*, 20(86): 1–13.

Nimse, Pal, 2015 – Nimse, S.B., Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv*, 5: 27986–28006.

Rasines-Perea, Teissedre, 2017 – Rasines-Perea, Z., Teissedre, P.-L. (2017). Grape polyphenols' effects in human cardiovascular diseases and diabetes. *Molecules*, 22(68): 1–19.

Chen, 2012 – Chen, J. (2012). Prevention of obesity-associated colon cancer by (-)-epigallocatechin-3 gallate and curcumin. *Transl. Gastrointest. Cancer*, 1(3): 243–249.

Sonoda et al., 2014 – Sonoda, J.-I., Ikeda, R., Baba, Y., Narumi, K., Kawachi, A., Tomishige, E., Nishihara, K., Takeda, Y., Yamada, K., Sato, K., Motoya T. (2014). Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate, attenuates the cell viability of human non-small-cell lung cancer A549 cells via reducing Bcl-xL expression. *Experimental and therapeutic medicine*, E8: 59–63.

Kumazoe, Tachibana, 2016 – Kumazoe, M., Tachibana, H. (2016). Anti-cancer effect of EGCG and its mechanisms. *Functional Foods in Health and Disease*, 6(1): 70–78.

Xia et al., 2010 – Xia, E.-Q., Deng, G.-F., Guo, Y.-J., Li, H.-B. (2010). Biological activities of polyphenols from Grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11: 622–646.

- Dinicola et al., 2014 – Dinicola, S., Cucina, A., Antonacci, D., Bizzarri, M. (2014). Anticancer Effects of grape seed extract on human cancers: a review. *J. Carcinog. Mutagen*, S8: 1–14.
- Georgiev et al., 2014 – Georgiev, V., Ananga, A., Tsolova, V. (2014). Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. *Nutrients*, 6: 391–415.
- Schini–Kerth et al., 2010 – Schini–Kerth, V.B., Auger, C., Etienne–Selloum, N., Chataigneau, T. (2010). Cardiovascular Pharmacology – Endothelial control. Chapter 6 – Polyphenol–induced endothelium–dependent relaxations: Role of NO and EDHF. 60: 133–175.
- Ferrieres, 2004 – Ferrieres, J. (2004). The french paradox: lessons for other countries. *Heart*, 90: 107–111.
- Baraboy, 2009 – Baraboy, V.A. (2009). Fenolnye soedineniya vinogradnoy lozy: struktura, antioksidantnaya aktivnost, primenenie. *Biotekhnologiya*, 2(2): 67–75. [in Russian]
- Mann et al., 2007 – Mann, G.E., Rowlands, D.J., Li, F.Y.L., De Winter, P., Siow, R.C.M. (2007). Activation of endothelial nitric oxide synthase by dietary isoflavones: Role of NO in Nrf₂–mediated antioxidant gene expression. *Cardiovascular Research*, 75: 261–274.
- Zenkov i dr., 2015 – Zenkov, N.K., Kolpakov, A.R., Menshikova, Y.B. (2015). Redoks–chuvstvitelnaya sistema Keap₁/Nrf₂/ARE kak farmakologicheskaya mishen pri serdechno–sosudistoy patologii. *Sibirskiy nauchniy meditsinskiy jurnal*, 35(5): 5–25. [in Russian]
- Li et al., 2012 – Li, M., Liu, J.T., Pang, X.M., Han, C.J., Mao, J.J. (2012). Epigallocatechin–3–gallate inhibits angiotensin II and interleukin–6–induced C–reactive protein production in macrophages. *Pharmacol Rep*, 64(4): 912–918.
- Pirniyazov i dr., 2003 – Pirniyazov, A.J., Abdulladjanova, N.G., Mavlyanov, S.M., Kamaev, F.G., Dolimov, D.N. (2003). Polifenoly kostochek *Vitis vinifera*. *Ximiya prirodnyx soedineniy*. 4: 281–285. [in Russian]
- Musaev i dr., 2009 – Musaev, M.M., Usmanov, P.B., Raxmatov, F.A., Khushmatov, Sh.S. (2009). Programma dlya EVM «Analiz kinetiki myshechnogo sokrasheniya». Gosudarstvennoe patentnoe vedomstvo RUz. Sviditelstvo № DGU 01873. 18.12.2009 g. *Ofitsialniy byulleten*. 1(9): 170–171. [in Russian]
- Chiba et al., 1978 – Chiba S., Furukawa Y., Kobayashi M. (1978). Effect of nifedipine on frequency–force relationship in isolated dog left ventricular muscle. *Japan J. Pharmacol.*, 28(783): 1–3.
- Perez et al., 2011 – Perez, N.G., Nolly, M.B., Roldan, M.C., Villa–Abrille, M.C., Cingolani, E., Portiansky, E.L., Alvarez, B.V., Ennis, I.L., Cingolani H.E. (2011). Silencing of NHE–1 blunts the slow force response to myocardial stretch. *J. Appl. Physiol.*, 111: 874–880.
- Lagadic–Gossmann, Feuvray, 1990 – Lagadic–Gossmann, D., Feuvray, D. Decreased sensitivity of contraction to changes of intracellular ph in papillary muscle from diabetic rat hearts. *Journal of Physiology*, 422: 481–497.
- Khushmatov i dr., 2016 – Khushmatov, Sh.S., Agzamova, M.A., Baratov, K.A., Inagamov, U.K., Isaev, I.M. (2016). Kardiotonicheskoe deystvie sikloartanovogo glikozida – astragalozida VII. *European Journal of Medicine*. 5(1): 18–25. [in Russian]
- Beyer et al., 1988 – Beyer, T., Hergeroder, W., Ravens, U. (1988). Effects of bivalent cations on post–rest adaptation in guinea–pig heart muscle. *Gen. Physiol. Biophys*, 7: 329–344.
- Kihara et al., 1994 – Kihara, Y., Sasayama, S., Inoko, M., Morgan, J.P. (1994). Sodium/calcium exchange modulates intracellular calcium overload during posthypoxic reoxygenation in mammalian working myocardium. Evidence from aequorin–loaded ferret ventricular muscles. *J. Clin. Invest.*, 93(3): 1275–1284.
- Rodney et al., 2009 – Rodney, G.G., Cabrales, E., Pessah, I.N., Feng, W. (2009). Cardiac Ca²⁺ release channel/RyR2 – molecular mechanism of green tea extract epigallocatechin–3–gallate. *Biophysical Journal*, 577–Pos B456: 96(3:1). 112a.
- Spasov i dr., 2013 – Spasov, A.A., Gurova, N.A., Xaritonova, M.V. (2013). Struktura i biologicheskaya rol NHE–1. Farmakologicheskaya regulyasiya yego aktivnost. *Eksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya*. 76(1): 43–48. [in Russian]
- Timofeeva, 2015 – Timofeeva, A.S. (2015). Farmakologicheskie svoystva proizvodnyx siklicheskiy guanidinov – inhibitorov Na⁺/H⁺–obmena. Diss. ... k.med.n. (14.03.06–farmakologiya, klinicheskaya farmakologiya): 190. [in Russian]

Dhein, Salameh, 1999 – Dhein, S., Salameh, A. (1999). Na⁺/H⁺-exchange inhibition by cariporide (HOE 642): a new principle in cardiovascular medicine. *Cardiovascular Drug Reviews*, 17(2): 134–146.

Stagg, Terracciano, 2005 – Stagg M.A., Terracciano C.M.N. (2005). Less Na⁺/H⁺-exchanger to treat heart failure: a simple solution for a complex problem? *Cardiovascular Research*, 65(1): 10–12.

Weiss et al., 1990 – Weiss, R.G., Lakatta, E.G., Gerstenblith, G. (1990). Effects of amiloride on metabolism and contractility during reoxygenation in perfused rat hearts. *Circulation Research*, 66: 1012–1022.

Bers et al., 2003 – Bers, D.M., Barry, W.H., Despa, S. (2003). Intracellular Na⁺ regulation in cardiac myocytes. *Cardiovascular Research*, 57(4): 897–912.

Piper et al., 2004 – Piper, H.M., Abdallah, Y., Schafer, C. (2004). The first minutes of reperfusion: a window of opportunity for cardioprotection. *Cardiovascular Research*, 61: 365–371.

Fliegel, 2005 – Fliegel L. (2005). The Na⁺/H⁺-exchanger isoform 1. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 37(1): 33–37.

Pedersen et al., 2006 – Pedersen, S.F., O'Donnell, M.E., Anderson, S.E., Cala, P.M. (2006). Physiology and pathophysiology of Na⁺/H⁺-exchange and Na⁺-K⁺-2Cl⁻-cotransport in the heart, brain, and blood. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 291: R1–R25.

Malo, Fliegel, 2006 – Malo M.E., Fliegel, L. (2006). Physiological role and regulation of the Na⁺/H⁺-exchanger. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 84(11): 1081–1095.

Fliegel, 2009 – Fliegel, L. (2009). Regulation of the Na⁺/H⁺-exchanger in the healthy and diseased myocardium. *Expert Opin. Ther. Targets*, (1): 55–68.

Karmazyn et al., 1999 – Karmazyn, M., Gan, X.T., Humphreys, R.A., Yoshida, H., Kusumoto, K. (1999). The myocardial Na⁺/H⁺-exchange structure, regulation, and its role in heart disease. *Circ. Res.*, 85: 777–786.

Petrecca et al., 1999 – Petrecca, K., Atanasiu, R., Grinstein, S., Orlowski, J., Shrier, A. (1999). Subcellular localization of the Na⁺/H⁺-exchanger NHE-1 in rat myocardium. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 276: H709–H717.

Balabolkin, Beloyarseva, 2001 – Balabolkin, M.I., Beloyarseva, M.F. (2001). Rol Na⁺/H⁺-obmennika v patogeneze saxarnogo diabeta 2 tipa. *Saxarniy diabet*. 2: 49–55. [in Russian]

Cingolani et al., 2001 – Cingolani, H.E., Perez, N.G., De Hurtado, M.C.C. (2001). An autocrine/paracrine mechanism triggered by myocardial stretch induces changes in contractility. *News Physiol Sci*, 16: 88–91.

Shigekawa, Iwamoto, 2001 – Shigekawa, M., Iwamoto, T. (2001). Cardiac Na⁺/Ca²⁺-exchange. Molecular and pharmacological aspects. *Circulation Research*, 88: 864.

Pierce, Meng, 1992 – Pierce, G.N., Meng, H. (1992). The role of sodium-proton exchange in ischemic/reperfusion injury in the heart. *Am. J. Cardiovasc. Pathol.*, 4: 91–102.

Karmazyn, Moffat, 1993 – Karmazyn, M., Moffat, M.P. (1993). Role of Na⁺/H⁺-exchange in cardiac physiology and pathophysiology: mediation of myocardial reperfusion injury by the pH paradox. *Cardiovasc. Res.*, 27: 915–924.

Fliegel, Dyck, 1995 – Fliegel, L., Dyck, J.R.B. (1995). Molecular biology of the cardiac sodium/hydrogen exchanger. *Cardiovasc. Res.*, 29: 155–159.

Bluhm, 1998 – Bluhm, W.F., Lew, W.Y.W., Garfinkel, A., McCulloch, A.D. (1998). Mechanisms of length history-dependent tension in an ionic model of the cardiac myocyte. *Am. J. Physiol.*, 274 (*Heart Circ Physiol*, 43): H1032–H1040.

Karmazyn, 1988 – Karmazyn, M. (1988). Amiloride enhances postischemic ventricular recovery: possible role of Na⁺/H⁺-exchange. *Am. J. Physiol. (Heart Circ Physiol)*, 24: 255. H608–H615.

Baudouin, Bateman, 1988 – Baudouin, S.V., Bateman, N.T. (1988). Effect of amiloride on contractility of rat cardiac muscle exposed to chronic hypercapnia and acute acidosis. *Cardiovasc. Res.*, 22(11): 754–758.

Vasilets et al., 1989 – Vasilets, L.A., Mokh, V.P., Khodorov, B.I. (1989). Prevention of reperfusion-induced arrhythmia by Na⁺/H⁺-exchange block. *Kardiologiya*, 29(2): 91–94.

Karmazyn et al., 2005 – Karmazyn, M., Sawyer, M., Fliegel, L. (2005). The Na⁺/H⁺-exchanger: a target for cardiac therapeutic intervention. *Current Drug Targets – Cardiovascular & Haematological Disorders*, 5: 1–13.

[Sarigianni et al., 2010](#) – Sarigianni, M., Tsapas, A., Mikhailidis, D.P., Kaloyianni, M., Koliakos, G., Fliegel, L., Paletas K. (2010). Na⁺/H⁺-exchanger-1: a link with atherogenesis? *Expert Opin Investig Drugs*, 19(12): 1545–1556.

[Kondratev i dr., 2008](#) – Kondratev, D.V., Kazanskiy, V.Y., Kamkin A.G. (2008). Rol kalsiya v reakcii serdsa na mexanicheskoe vozdeystvie. *Uspexi fiziologicheskix nauk*, 39(3): 3–28. [in Russian]

[Smolyuk, Protsenko, 2011](#) – Smolyuk, L.T., Protsenko, Yu.L. (2011). Vyazkouprugiy gisterezis papillyarnoy myshsy. *Rossiyskiy jurnal biomexaniki*, 15(2:52): 24–31. [in Russian]

[Allen, Kentish, 1985](#) – Allen, D.G., Kentish, J.C. (1985). The cellular basis of the length-tension relation in cardiac muscle. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 17: 821–840.

[Kentish, Wrzosek, 1998](#) – Kentish, J.C., Wrzosek, A. (1998). Changes in force and cytosolic Ca²⁺ concentration after length changes in isolated rat ventricular trabeculae. *Journal of Physiology*, 506(2): 431–444.

[Alvarez et al., 1999](#) – Alvarez, B.V., Perez, N.G., Ennis, I.L., De Hurtado, M.C.C., Cingolani, H.E. (1999). Mechanisms underlying the increase in force and Ca²⁺ transient that follow stretch of cardiac muscle: a possible explanation of the Anrep effect. *Circ Res.*, 85: 716–722.

[Kockskamper et al., 2008](#) – Kockskamper, J., Khafaga, M., Grimm, M., Elgner, A., Walther, S., Kockskamper, A., Von Lewinski, D., Post, H., Grossmann, M., Dorge, H., Gottlieb, P.A., Sachs, F., Eschenhagen, T., Schondube, F.A., Pieske, B. (2008). Angiotensin II and myosin light-chain phosphorylation contribute to the stretch-induced slow force response in human atrial myocardium. *Cardiovascular Research*, 79: 642–651.

[Villa-Abrille et al., 2010](#) – Villa-Abrille, M.C., Caldiz, C.I., Ennis, I.L., Nolly, M.B., Casarini, M.J., De Cingolani, G.E.C., Cingolani, H.E., Perez, N.G. (2010). The Anrep effect requires transactivation of the epidermal growth factor receptor. *J. Physiol.*, 588(9): 1579–1590.

[Ait-Mou et al., 2016](#) – Ait-Mou, Y., Hsu, K., Farman, G.P., Kumar, M., Greaser, M.L., Irving, T.C., De Tombe P.P. (2016). Titin strain contributes to the Frank-Starling law of the heart by structural rearrangements of both thin- and thick-filament proteins. *PNAS*, 1–6.

[Von Anrep, 1912](#) – Von Anrep, G. (2012). On the part played by the suprarenals in the normal vascular reactions of the body. *J. Physiol.*, 45: 307–317.

[Parmley, Chuck, 1973](#) – Parmley, W.W., Chuck L. (1973). Length-dependent changes in myocardial contractile state. *Am. J. Physiol.*, 224: 1195–1199.

[Katz, 2002](#) – Katz A.M. (2002). Ernest Henry Starling, his predecessors, and the «Law of the Heart». *Circulation*, 106: 2986–2992.

[Konovalov, 2013](#) – Konovalov, P.V. (2013). Medlennyi inotropniy otvet v neodnorodnom miokarde. Avtoreferat diss. ... k.b.n. (03.03.01–fiziologiya): 3–5. [in Russian]

[Calaghan, White, 1999](#) – Calaghan, S.C., White, E. (1999). The role of calcium in the response of cardiac muscle to stretch. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 71: 59–90.

[Cingolani et al., 2013](#) – Cingolani, H.E., Perez, N.G., Cingolani, O.H., Ennis, I.L. (2013). The Anrep effect: 100 years later. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 304: H175–H182.

[Garciaarena et al., 2008](#) – Garciaarena, C.D., Caldiz, C.I., Correa, M.V., Schinella, G.R., Mosca, S.M., De Cingolani, G.E.C., Cingolani, H.E., Ennis, I.L. (2008). Na⁺/H⁺-exchanger-1 inhibitors decrease myocardial superoxide production via direct mitochondrial action. *J. Appl. Physiol.*, 105: 1706–1713.

[Caldiz et al., 2011](#) – Caldiz, C.I., Diaz, R.G., Nolly, M.B., De Cingolani, G.E.C., Ennis, I.L., Cingolani, H.E., Perez, N.G. (2011). Mineralocorticoid receptor activation is crucial in the signalling pathway leading to the Anrep effect. *The Journal of Physiology*, 589(24): 6051–6061.

[Ennis et al., 2013](#) – Ennis, I.L., Aiello, E.A., Cingolani, H.E., Perez, N.G. (2013). The autocrine/paracrine loop after myocardial stretch: mineralocorticoid receptor activation. *Current Cardiology Reviews*, 9: 230–240.

[Neves et al., 2016](#) – Neves, J.S., Leite-Moreira, A.M., Neiva-Sousa, M., Almeida-Coelho, J., Castro-Ferreira, R., Leite-Moreira, A.F. (2016). Acute myocardial response to stretch: what we (don't) know. *Front Physiol*, 6(408): 1–11.

[Pimentel et al., 2001](#) – Pimentel, D.R., Amin, J.K., Xiao, L., Miller, T., Viereck, J., Oliver-Krasinski, J., Baliga, R., Wang, J., Siwik, D.A., Singh, K., Pagano, P., Colucci, W.S., Sawyer, D.B. (2001). Reactive oxygen species mediate amplitude-dependent hypertrophic and apoptotic responses to mechanical stretch in cardiac myocytes. *Circ. Res.*, 89: 453–460.

Goette et al., 2002 – Goette, A., Lendeckel, U., Klein, H.U. (2002). Signal transduction systems and atrial fibrillation. *Cardiovascular Research*, 54: 247–258.

Caldiz et al., 2007 – Caldiz, C.I., Garcarena, C.D., Dulce, R.A., Novaretto, L.P., Yeves, A.M., Ennis, I.L., Cingolani, H.E., Chiappe de Cingolani, G., Perez, N.G. (2007). Mitochondrial reactive oxygen species activate the slow force response to stretch in feline myocardium. *J. Physiol.*, 584: 895–905.

Brookes et al., 2004 – Brookes, P.S., Yoon, Y., Robotham, J.L., Anders, M.W., Sheu, S.–S. (2004). Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love–hate triangle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 287: C817–C833.

Perez et al., 2001 – Perez, N.G., De Hurtado, M.C., Cingolani, H.E. (2001). Reverse mode of the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ –exchange after myocardial stretch: underlying mechanism of the slow force response. *Circ. Res.*, 88: 376–382.

Calaghan, White, 2001 – Calaghan, S.C., White, E. (2001). Contribution of angiotensin II, endothelin 1 and the endothelium to the slow force response to stretch in ferret papillary muscle. *Pflugers. Arch.*, 441: 514–520.

Von Lewinski et al., 2004 – Von Lewinski, D., Stumme, B., Fialka, F., Luers, C., Pieske, B. (2004). Functional relevance of the stretch–dependent slow force response in failing human myocardium. *Circ. Res.*, 94: 1392–1398.

Cingolani et al., 2006 – Cingolani, H.E., Villa–Abrille, M.C., Cornelli, M., Nolly, A., Ennis, I.L., Garcarena, C., Suburo, A.M., Torbidoni, V., Correa, M.V., De Hurtado, M.C.C., Aiello, E.A. (2006). The positive inotropic effect of angiotensin II role of endothelin–1 and reactive oxygen species. *Hypertension*, 47: 727–734.

Zhang et al., 2009 – Zhang, Y.H., Dingle, L., Hall, R., Casadei, B. (2009). The role of nitric oxide and reactive oxygen species in the positive inotropic response to mechanical stretch in the mammalian myocardium. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1787: 811–817.

Diaz et al., 2014 – Diaz, R.G., Perez, N.G., Morgan, P.E., Villa–Abrille, M.C., Caldiz, C.I., Nolly, M.B., Portiansky, E.L., Ennis, I.L., Cingolani, H.E. (2014). Myocardial mineralocorticoid receptor activation by stretching and its functional consequences. *Hypertension*, 63: 112–118.

Yeves et al., 2015 – Yeves, A.M., Caldiz, C.I., Aiello, E.A., Villa–Abrille, M.C., Ennis, I.L. (2015). Reactive oxygen species partially mediate high dose angiotensin II–induced positive inotropic effect in cat ventricular myocytes. *Cardiovasc. Pathology*, 24(4): 236–240.

Zhang et al., 2000 – Zhang, Y.H., Youm, J.B., Sung, H.K., Lee, S.H., Ryu, S.Y., Ho, W.K., Earm, Y.E. (2000). Stretch–activated and background non–selective cation channels in rat atrial myocytes. *J. Physiol.*, 523: 607–619.

Reed, Kohl, 2014 – Reed, A., Kohl, P., Peyronnet, R. (2014). Molecular candidates for cardiac stretch–activated ion channels. *Global Cardiology Science and Practice*, 14: 19. 1–17.

Nicolosi et al., 2001 – Nicolosi, A.C., Kwok, C.S., Contney, S.J., Olinger, G.N., Bosnjak, Z.J. (2001). Gadolinium prevents stretch–mediated contractile dysfunction in isolated papillary muscles. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 280: P.H1122–H1128.

Ward, Allen, 2005 – Ward, M.L., Allen, D.G. (2005). Mechanisms underlying the stretch–dependent slow inotropic response in isolated mouse myocardium. *Proceedings of the Australian Physiological Society*, 36: 105P.

Ward et al., 2008 – Ward, M.L., Williams, I.A., Chu, Y., Cooper, P.J., Ju, Y.K., Allen, D.G. (2008). Stretch–activated channels in the heart: contributions to length–dependence and to cardiomyopathy. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 97(2–3): 232–249.

Lab et al., 1994 – Lab, M.J., Zhou, B.Y., Spencer, C.I., Horner, S.M., Seed, W.A. (1994). Effects of gadolinium on length–dependent force in guinea–pig papillary muscle. *Exp. Physiol.*, 79: 249–255.

Tavi et al., 1996 – Tavi, P., Laine, M., Weckstrom, M. (1996). Effect of gadolinium on stretch–induced changes in contraction and intracellularly recorded action– and afterpotentials of rat isolated atrium. *British Journal of Pharmacology*, 118: 407–413.

Chatterjee et al., 2015 – Chatterjee, S., Fujiwara, K., Perez, N.G., Ushio–Fukai, M., Fisher, A.B. (2015). Mechanosignaling in the vasculature: emerging concepts in sensing, transduction and physiological responses. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 308: H1451–H1462.

Dolgiĥ, 2005 – Dolgiĥ, V.T. (2005). Patogeneticheseskaya znachimost peregruzki kardiomiotsitov Ca^{2+} v razvitiĭ postreanimatsionnoy nedostatochnosti serdca. *Byulleten SO RAMN*. 3(117): 7–13. [in Russian]

Gurova i dr., 2011 – Gurova, N.A., Spasov, A.A., Pitsersen, A.S. (2011). Metod izucheniya vliyaniya novyx soedineniy na aktivnost natriy/vodorodnogo obmennika. *Vestnik VolGMU*. 2(38): 70–72. [in Russian]

Gurova i dr., 2012 – Gurova, N.A., Pitsersen, A.S., Fedorchuk, V.Y., Kosolapova, D.V. (2012). Vliyanie amilorida na aktivnost Na^+/H^+ -obmennika trombotsitov. *Volgogradskiy nauchno-meditsinskiy jurnal*. 2: 19–21.

Kaplan et al., 1995 – Kaplan, S.H., Yang, H., Gilliam, D.E., Shen, J., Lemasters, J.J., Cascio, W.E. (1995). Hypercapnic acidosis and dimethyl amiloride reduce reperfusion induced cell death in ischaemic ventricular myocardium. *Cardiovasc. Res.*, 29: 231–238.

Otani et al., 1990 – Otani, H., Uriu, T., Hara, M., Inoue, M., Omori, K., Cragoe, E.J., Inagaki, C. (1990). Effects of inhibitors of protein kinase C and Na^+/H^+ -exchange on α_1 -adrenoceptor-mediated inotropic responses in the rat left ventricular papillary muscle. *Br. J. Pharmacol.*, 100: 207–210.

Ochiai et al., 2009 – Ochiai, H., Takeda, K., Soeda, S., Tahara, Y., Takenaka, H., Abe, K., Hayashi, Y., Noguchi, S., Inoue, M., Schwarz, S., Schwarz, W., Kawamura, M. (2009). Epigallocatechin-3-gallate is an inhibitor of Na^+/K^+ -ATPase by favoring the E1 conformation. *Biochem. Pharmacol.*, 78: 1069–1074.

Feng et al., 2012 – Feng, W., Hwang, H.S., Kryshchal, D.O., Yang, T., Padilla, I.T., Tiwary, A.K., Puschner, B., Pessah, I.N., Knollmann, B.C. (2012). Coordinated regulation of murine cardiomyocyte contractility by nanomolar (-)-epigallocatechin-3-gallate, the major green tea catechin. *Mol. Pharmacol.*, 82: 993–1000.

Feng et al., 2010 – Feng, W., Cherednichenko, G., Ward, C.W., Padilla, I.T., Cabrales, E., Lopez, J.R., Eltit, J.M., Allen, P.D., Pessah, I.N. (2010). Green tea catechins are potent sensitizers of ryanodine receptor type 1 (RyR1). *Biochemical Pharmacology*, 80: 512–521.

Wang et al., 2016 – Wang, X., Zhang, Z., Wu, G., Nan, C., Shen, W., Hua, Y., Huang, X. (2016). Green tea extract catechin improves internal cardiac muscle relaxation in RCM mice. *Journal of Biomedical Science*, (2016).23:51. 1–8.

McKay, Blumberg, 2007 – McKay, D.L., Blumberg, J.B. (2007). Roles for epigallocatechin gallate in cardiovascular disease and obesity: an introduction. *Journal of the American College of Nutrition*, 26(4): 362S–365S.

Othman et al., 2017 – Othman, A.I., Elkomy, M.M., El-Missiry, M.A., Dardor M. (2017). Epigallocatechin-3-gallate prevents cardiac apoptosis by modulating the intrinsic apoptotic pathway in isoproterenol-induced myocardial infarction. *European Journal of Pharmacology*, 794: 27–36.

Изучение механизма положительное инотропное действия (-)-эпигаллокатехин-3-О-галлата

Шункор Садуллаевич Хушматов^{a, *}, Пулат Бекмуратович Усманов^a, Хуршида Кодировна Наджимова^a, Улутбек Гаппаржанович Гаипов^a, Нодира Гулямджановна Абдулладжанова^a

^a Институт биоорганической химии им. академика А.С.Садыкова, Академия наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан

Аннотация. Целью настоящего исследования явилось изучение механизма положительного инотропного действия (-)-эпигаллокатехин-3-О-галлата (EGCG), выделенного из косточек винограда (*Vitis vinifera* L.) на сократительную активность миокарда крыс. Регистрацию изометрической силы проводили с помощью механотрона

* Корреспондирующий автор

Адреса электронной почты: Khushmatov_Sh.S@bk.ru (Ш.С. Хушматов)

(F30/D-79232; HSE, Германия). Установлено, что EGCG (15–150 мкМ) вызывает положительный инотропный эффект ($p < 0,05$; $n = 3-4$). В концентрации 150 мкМ EGCG увеличивал сокращение папиллярной мышцы на $67,5 \pm 6,2$ % относительно контрольного показателя ($EC_{50} = 22,39$ мкМ или $pD_2 (-\log EC_{50}) = 4,652$). В экспериментах, проведенных с помощью специфической экспериментальной методики механического растяжения миокарда было показано, что EGCG (150 мкМ) увеличивает амплитуды II фазой (SFR, медленный инотропный ответ) на $33,7 \pm 4,9$ % относительно контрольного показателя. При этом, в присутствии амилорида гидрохлорида (1 мМ) – блокатора NHE-1 положительный инотропный эффект EGCG значительно уменьшается. Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что положительный инотропный эффект EGCG (15–150 мкМ) может быть связан с активацией каскада реакции NHE-1 \rightarrow $[Na^+]_i \uparrow$ \rightarrow NCX1 \rightarrow $[Ca^{2+}]_i \uparrow$.

Ключевые слова: инотропное действие, папиллярная мышца, EGCG, NHE-1, NCX1.

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
European Journal of Medicine. Series B
Has been issued since 2014.
E-ISSN: 2413-7464
2018, 5(1): 50-55

DOI: 10.13187/ejm.s.b.2018.1.50
www.ejournal27.com



Evaluation of the Role of Polymorphic Locus of rs1138272 *GSTP1* Gene in the Development of Complications in Patients with Chronic Bronchitis

Guzel F. Mukhammadiyeva ^{a, *}, Denis O. Karimov ^a, Tatyana G. Kutlina ^a, Yana V. Valova ^a, Eldar R. Kudoyarov ^a, Denis D. Karimov ^a

^a Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Russian Federation

Abstract

The results of the study of the association of the polymorphic locus rs1138272 of the *GSTP1* gene with the risk of developing impaired respiratory function in patients with chronic obstructive bronchitis of unprofessional genesis are presented. The study involved 98 patients with chronic obstructive bronchitis and 199 healthy individuals. Determination of polymorphism of the *GSTP1* gene was performed by the method of polymerase chain reaction, followed by analysis of the length of restriction fragments. It was shown that the homozygous genotype Ala/Ala of the polymorphic locus rs1138272 of the *GSTP1* gene was less common in the group of patients than in the control group ($\chi^2 = 3,92$, $P = 0,048$), and the frequency of the Val allele was higher in patients ($\chi^2 = 4,32$, $P = 0,038$). The findings suggest that the Ala/Ala genotype carriage of the *GSTP1* gene polymorphic rs1138272 locus is associated with a reduced risk of developing impaired respiratory function in patients with chronic obstructive bronchitis (OR = 0,51; 95 % CI 0,28-0,95), whereas the presence of the Val allele determines the predisposition to the formation of complications of this disease (OR = 1,92; 95 % CI 1,08-3,42).

Keywords: gene polymorphism; chronic obstructive bronchitis; complications; impaired respiratory function.

1. Введение

Хронический обструктивный бронхит (ХОБ) относится к наиболее распространенным хроническим заболеваниям органов дыхания. По данным Всемирной организации здравоохранения, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), куда, прежде всего, входит и ХОБ, ежегодно становится причиной смерти более 3 млн человек (**Chronic Obstructive...**). ХОБ свойственно диффузное воспалительное поражение бронхиального дерева, ведущее к нарушению легочной вентиляции по обструктивному типу и проявляющееся кашлем, одышкой, выделением мокроты. Заболевание характеризуется неуклонно прогрессирующим и инвалидизирующим течением. Может осложняться дыхательной недостаточностью, легочной гипертензией, и легочным сердцем. Выраженность клинических признаков у больных ХОБ постоянно нарастает и ухудшается прогноз заболевания (**Батаев, Дадаев, 2013; Чучалин, 2013**).

В возникновении и развитии ХОБ тесно взаимодействуют экзогенные и эндогенные факторы. К экзогенным факторам риска ХОБ относятся загрязнение воздуха, профессиональные вредности, курение. Среди экзогенных факторов существенную роль

*Corresponding author

E-mail addresses: ufniimt@mail.ru (G.F. Mukhammadiyeva)

играет генетическая предрасположенность. Важным элементом патогенеза любого мультифакторного заболевания, в том числе и ХОБ, является изучение вовлеченности молекулярно-генетических факторов. Известно, что есть много возможных генов, которые могли внести свой вклад в возникновение, течение и прогрессирование ХОБ. Обсуждается роль в развитии ХОБ таких факторов, как гены системы биотрансформации ксенобиотиков, семейства цитохрома P450, ферментов протеолиза-антипротеолиза (Рыбина и др., 2013; Ахмадишина и др., 2007; Янбаева и др., 2004).

Ген *GSTP1* кодирует глутатион-S-трансферазу P1, один из ферментов второй фазы системы детоксикации гидрофобных и электрофильных ксенобиотиков и канцерогенов, который осуществляет их превращение из активных метаболитов в нетоксичные водорастворимые компоненты. Ген *GSTP1* локализован на 11 хромосоме (11q13) и характеризуется полиморфизмом. Один из полиморфных вариантов гена *GSTP1* связан с нуклеотидной заменой С341Т в шестом экзоне (rs1138272), приводящей к замене аминокислоты аланин на валин в 114-м положении пептида (Ala114Val). Замена Ala114Val в аминокислотной последовательности приводит к изменению ферментативной активности фермента (Watson et al., 1998).

Цель работы. Провести анализ ассоциации полиморфного локуса rs1138272 гена *GSTP1* с риском развития нарушений функции внешнего дыхания (ФВД) у больных ХОБ непрофессионального генеза.

2. Материалы и методы

Было обследовано 98 больных ХОБ непрофессионального генеза с нарушениями ФВД в возрасте от 20 до 60 лет. Пациенты находились на лечении в отделении профессиональной аллергологии и иммунореабилитации клиники ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека». Группу контроля составили 199 практически здоровых лиц, жители Республики Башкортостан, отобранные по полу и возрасту, без хронических бронхолегочных заболеваний в анамнезе. Обследование выполнено с информированного согласия пациентов согласно Федеральному закону от 21.11.2011 N 323-ФЗ (ред. от 29.12.2015) "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации" (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.01.2016). Работа проведена с соблюдением этических стандартов, гарантирующих уважение ко всем субъектам исследований и защиту их здоровья и прав в соответствии с требованиями Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (ВМА) (64-ая Генеральная Ассамблея ВМА, Форталеза, Бразилия, октябрь 2013 г.).

Материалом для молекулярно-генетического анализа послужили образцы ДНК, выделенные из лимфоцитов периферической венозной крови стандартным фенольно-хлороформным методом. Полиморфизм гена *GSTP1* определяли методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестриционных фрагментов. В работе использовали праймеры и эндонуклеазы рестрикции, описанные ранее (Ishii et al., 1999). Продукты амплификации анализировали методом электрофореза в 3 %-ном агарозном геле и визуализировали бромистым этидием.

Статистическую обработку результатов проводили при помощи прикладного рабочего пакета статистического анализа «Statistica v.7.0». Сравнение частот аллелей и генотипов в исследуемых группах осуществляли по критерию χ^2 . Статистически значимыми считали различия при $P < 0,05$. Для выявления факторов повышенного и пониженного риска развития нарушений ФВД, проводили оценку показателя соотношения шансов (OR – odds ratio), а также границ его 95 % доверительного интервала (CI95%).

3. Результаты и их обсуждение

В ходе исследования проведен сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs1138272 гена *GSTP1* между выборкой больных ХОБ и контрольной группой (Таблица 1).

Таблица 1. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса rs1138272 гена *GSTP1* у больных с нарушениями ФВД и в группе контроля

Генотипы и аллели	Больные с нарушениями ФВД (98)		Контрольная группа (199)		χ^2	P
	абс.	%	абс.	%		
Ala/Ala	75	76,53	172	86,43	3,92	0,048
Ala/Val	22	22,45	27	13,57	3,14	0,076
Val/Val	1	1,02	0	0	0,13	0,717
Ala	172	87,76	371	93,22	4,32	0,038
Val	24	12,24	27	6,78	4,32	0,038

Гомозиготный генотип Ala/Ala встречался реже в группе больных, чем в контрольной группе (76,53 % и 86,43 % соответственно; $\chi^2 = 3,92$, $P = 0,048$), а частота аллеля Val была выше у больных (12,24 % и 6,78 % соответственно; $\chi^2 = 4,32$, $P = 0,038$). Оценка отношений шансов позволяет сделать вывод, что носительство генотипа Ala/Ala полиморфного локуса rs1138272 гена *GSTP1* ассоциируется с пониженным риском развития нарушений функции внешнего дыхания у больных ХОБ (OR = 0,51; 95 % CI 0,28-0,95), тогда как присутствие аллеля Val обуславливает предрасположенность к формированию осложнений данного заболевания (OR = 1,92; 95 % CI 1,08-3,42).

GSTP1 широко экспрессируется во многих эпителиальных тканях человека и является самой представленной изоформой глутатион-S-трансфераз в легких (Anttila et al., 1993). Полиморфизм Ala114Val гена *GSTP1* обуславливает продукцию фермента с пониженной активностью. Имеются данные о снижении экспрессии гена *GSTP1* у носителей минорного аллеля (Moyer et al., 2008). Результаты нашего исследования показали, что маркером риска к развитию нарушений функции внешнего дыхания у больных ХОБ является минорный аллель Val полиморфного локуса rs1138272 гена *GSTP1*. Полученные данные согласуются с результатами анализа ассоциации данного локуса с развитием бронхиальной астмы у детей, когда маркером риска является аллель Val полиморфного локуса rs1138272 гена *GSTP1* (MacIntyre et al., 2014). Данные литературы о роли полиморфного локуса rs1138272 гена *GSTP1* в развитии заболеваний органов дыхания немногочисленны и противоречивы. Для данного полиморфизма описана ассоциация с хронической обструктивной болезнью легких (Невзорова и др., 2013). Вместе с тем Л.З. Ахмадишина с соавторами (2009) не обнаружили ассоциаций полиморфного варианта гена *GSTP1* с развитием профессионального хронического бронхита (Ахмадишина и др., 2009).

4. Заключение

В результате проведенного анализа ассоциаций полиморфного локуса rs1138272 гена *GSTP1* было обнаружено, что генотип Ala/Ala является протективным маркером развития нарушений ФВД у больных ХОБ непрофессионального генеза, а аллель Val – маркером риска развития нарушений ФВД. Полученные данные свидетельствуют о тесной взаимосвязи полиморфного локуса rs1138272 гена *GSTP1* и особенностей формирования осложнений ХОБ. Результаты проведенного исследования могут являться дополнительным критерием при разработке профилактических мероприятий.

Литература

Ахмадишина и др., 2007 – Ахмадишина, Л.З., Корытина, Г.Ф., Кочетова, О.В., Мингазова, С.Р., Бакиров, А.Б., Викторова, Т.В. Полиморфизм генов цитохрома P450 (CYP1A1, CYP1A2, CYP2E1) и риск развития профессионального хронического бронхита. *Мед. Генетика*, 2007, 6(7): 32-37.

Ахмадишина и др., 2009 – Ахмадишина, Л.З., Целоусова, О.С., Корытина, Г.Ф., Викторова, Т.В. Роль полиморфных вариантов генов глутатион-S-трансфераз в развитии

предрасположенности к профессиональному хроническому бронхиту. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*, 2009, 1: 88-92.

Батаев, Дадаев, 2013 – Батаев, Х., Дадаев, М. Хронический обструктивный бронхит: патогенез, факторы формирования, фармакотерапия. *Врач*, 2013, 11: 22-24.

Невзорова и др., 2013 – Невзорова, В.А., Вахрушева, С.Е., Тилик, Т.В., Исаева, М.П. Полиморфизм генов глутатионтрансферазы GSTP1 и микросомальной эпоксидгидролазы ERNH1 у курильщиков и при ранних стадиях хронической обструктивной болезни легких. *Пульмонология*, 2013, 1: 32-37.

Рыбина и др., 2013 – Рыбина, Т.М., Омеляненко-Гонюлал, О.С., Амельченко, Е.В., Дудчик, Н.В., Денчук, Л.Н. Полиморфизм гена биотрансформации ксенобиотиков микросомальной эпоксидгидролазы у работников с профессиональными заболеваниями органов дыхания. *Здоровье и окружающая среда*, 2013, 23: 65-68.

Чучалин, 2013 – Пульмонология. Национальное руководство / под ред. А.Г. Чучалина. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2013. 800 с.

Янбаева и др., 2004 – Янбаева, Д.Г., Корытина, Г.Ф., Викторова, Т.В. Комплексный анализ генов ферментов протеолиза-антипротеолиза (PI, ААСТ, MMP1) у больных хроническими обструктивными заболеваниями органов дыхания. *Молекул. биол.*, 2004, 38(6), 973-979.

Anttila et al., 1993 – Anttila, S., Hirvonen, A., Vainio, H., Husgafvel-Pursiainen, K., Hayes, J.D., Ketterer, B. Immunohistochemical localization of glutathione S-transferases in human lung cancer. *Cancer Res.*, 1993, 53(23): 5643-5648.

Chronic Obstructive... – Chronic Obstructive Pulmonary Disease. World Health Organization. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-copd>. (Дата обращения: 03.10.2018).

Ishii et al., 1999 – Ishii, T., Matsuse, T., Teramoto, S., Matsui, H., Miyao, M., Hosoi, T., Takahashi, H., Fukuchi, Y., Ouchi, Y. Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*, 1999, 54(8): 693-696.

MacIntyre et al., 2014 – MacIntyre, E.A., Brauer, M., Melén, E., Bauer, C.P., Bauer, M., Berdel, D., Bergström, A. et al. GSTP1 and TNF Gene variants and associations between air pollution and incident childhood asthma: the traffic, asthma and genetics (TAG) study. *Environ Health Perspect.*, 2014, 122(4): 418-424.

Moyer et al., 2008 – Moyer, A.M., Salavaggione, O.E., Wu, T.Y., Moon, I., Eckloff, B.W., Hildebrandt, M.A., Schaid, D.J., Wieben, E.D., Weinshilboum, R.M. Glutathione S-transferase P1: gene sequence variation and functional genomic studies. *Cancer Res.*, 2008, 68(12): 4791-4801.

Watson et al., 1998 – Watson, M.A., Stewart, R.K., Smith, G.B., Massey, T.E., Bell, D.A. Human glutathione-S-transferase polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis*, 1998, 19(2): 275-280.

References

Akhmadishina et al., 2007 – Akhmadishina, L.Z., Korytina, G.F., Kochetova, O.V., Mingazova, S.R., Bakirov, A.B., Viktorova, T.V. (2007). Polimorfizm genov tsitokhroma R450 (CYP1A1, CYP1A2, CYP2E1) i risk razvitiya professional'nogo khronicheskogo bronkhita [Polymorphism of cytochrome P450 genes (CYP1A1, CYP1A2, CYP2E1) and susceptibility to chronic occupational bronchitis]. *Med. Genetika*, 6(7): 32-37. [in Russian]

Akhmadishina et al., 2009 – Akhmadishina, L.Z., Tselousova, O.S., Korytina, G.F., Viktorova, T.V. (2009). Rol' polimorfnykh variantov genov glutation-S-transferaz v razvitiy predraspolozhennosti k professional'nomu khronicheskomu bronkhitu [The role of polymorphic variants of the glutathione-S-transferases genes in predisposition to occupational chronic bronhitis]. *Byulleten' VSNTs SO RAMN*, 2009, 1: 88-92. [in Russian]

Anttila et al., 1993 – Anttila, S., Hirvonen, A., Vainio, H., Husgafvel-Pursiainen, K., Hayes, J.D., Ketterer, B. (1993). Immunohistochemical localization of glutathione S-transferases in human lung cancer. *Cancer Res.*, 53(23): 5643-5648.

Bataev, Dadaev, 2013 – Bataev, Kh., Dadaev, M. (2013). Khronicheskii obstruktivnyi bronkhit: patogenez, faktory formirovaniya, farmakoterapiya [Chronic obstructive bronchitis: pathogenesis, development factors, pharmacotherapy]. *Vrach*, 11: 22-24. [in Russian]

Chronic Obstructive... – Chronic Obstructive Pulmonary Disease. World Health Organization. [Electronic resource]. URL: [http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-\(copd\)](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-(copd)). (accessed: 03.10.2018).

Chuchalin, 2013 – Pul'monologiya. Natsional'noe rukovodstvo [Pulmonology. National leadership]. pod red. A.G. Chuchalina (2013). M.: GOETAR-Media, 800 s. [in Russian]

Ishii et al., 1999 – Ishii, T., Matsuse, T., Teramoto, S., Matsui, H., Miyao, M., Hosoi, T., Takahashi, H., Fukuchi, Y., Ouchi, Y. (1999). Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*, 54(8): 693-696.

Janbaeva et al., 2004 – Janbaeva, D.G., Korytina, G.F., Viktorova, T.V. (2004). Kompleksnyj analiz genov fermentov proteoliza-antiproteoliza (PI, AACT, MMP1) u bol'nyh hronicheskimi obstruktivnymi zabolevanijami organov dyhanija [Complex analysis for antiprotease-protease enzyme gene polymorphisms in patients with chronic obstructive pulmonary diseases]. *Molekul. biol.*, 38(6), 973-979. [in Russian]

MacIntyre et al., 2014 – MacIntyre, E.A., Brauer, M., Melén, E., Bauer, C.P., Bauer, M., Berdel, D., Bergström, A. et al. (2014). GSTP1 and TNF Gene variants and associations between air pollution and incident childhood asthma: the traffic, asthma and genetics (TAG) study. *Environ Health Perspect.*, 122(4): 418-424.

Moyer et al., 2008 – Moyer, A.M., Salavaggione, O.E., Wu, T.Y., Moon, I., Eckloff, B.W., Hildebrandt, M.A., Schaid, D.J., Wieben, E.D., Weinshilboum, R.M. (2008). Glutathione S-transferase P1: gene sequence variation and functional genomic studies. *Cancer Res.*, 68(12): 4791-4801.

Nevzorova et al., 2013 – Nevzorova, V.A., Vakhrusheva, S.E., Tiliq, T.V., Isaeva, M.P. (2013). Polimorfizm genov glyutationtransferazy GSTP1 i mikrosomal'noi epoksidgidrolazy EPHX1 u kuril'shchikov i pri rannikh stadiyakh khronicheskoi obstruktivnoi bolezni legkikh [Polymorphism of GSTP1 and EPHX1 genes in smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease stages I and II]. *Pul'monologiya*, 1: 32-37. [in Russian]

Rybina et al., 2013 – Rybina, T.M., Omel'yanenko-Gonyulal, O.S., Amel'chenko, E.V., Dudchik, N.V., Denchuk, L.N. (2013). Polimorfizm gena biotransformatsii ksenobiotikov mikrosomal'noi epoksidgidrolazy u rabotnikov s professional'nymi zabolevanijami organov dykhaniya [Polymorphism of epoxide hydrolase gene in workers with occupational respiratory diseases] *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda*, 23: 65-68. [in Russian]

Watson et al., 1998 – Watson, M.A., Stewart, R.K., Smith, G.B., Massey, T.E., Bell, D.A. (1998). Human glutathione-S-transferase polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis*, 19(2): 275-280.

Оценка роли полиморфного локуса rs1138272 гена GSTP1 в развитии осложнений у больных хроническим бронхитом

Гузель Фанисовна Мухаммадиева ^{a,*}, Денис Олегович Каримов ^a,
Татьяна Георгиевна Кутлина ^a, Яна Валерьевна Валова ^a,
Эльдар Ренатович Кудояров ^a, Денис Дмитриевич Каримов ^a

^aУфимский НИИ медицины труда и экологии человека, Российская Федерация

Аннотация. Представлены результаты исследования ассоциации полиморфного локуса rs1138272 гена GSTP1 с риском развития нарушений функции внешнего дыхания у больных хроническим обструктивным бронхитом непрофессионального генеза. Обследовано 98 пациентов с хроническим обструктивным бронхитом и 199 практически здоровых лиц. Определение полиморфизма гена GSTP1 проводили методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом длины рестрикционных фрагментов. Показано, что гомозиготный генотип Ala/Ala полиморфного локуса rs1138272 гена GSTP1 встречался реже в группе больных, чем в контрольной группе ($\chi^2 = 3,92$, $P = 0,048$), а частота аллеля Val была выше у

* Корреспондирующий автор

Адреса электронной почты: ufniimt@mail.ru (Г.Ф. Мухаммадиева)

больных ($\chi^2 = 4,32$, $P = 0,038$). Полученные данные свидетельствуют о том, что носительство генотипа Ala/Ala полиморфного локуса rs1138272 гена GSTP1 ассоциируется с пониженным риском развития нарушений функции внешнего дыхания у больных хроническим обструктивным бронхитом (OR = 0,51; 95 % CI 0,28-0,95), тогда как присутствие аллеля Val обуславливает предрасположенность к формированию осложнений данного заболевания (OR = 1,92; 95 % CI 1,08-3,42).

Ключевые слова: полиморфизм генов; хронический обструктивный бронхит; осложнения; нарушения функции внешнего дыхания.

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
European Journal of Medicine. Series B
Has been issued since 2014.
E-ISSN: 2413-7464
2018, 5(1): 56-60

DOI: 10.13187/ejm.s.b.2018.1.56
www.ejournal27.com



Effectiveness of Unimag in the Treatment of Ulcerous Gingivitis

Nana K. Natsvlishvili ^{a, *}, Lela Kiparoidze ^a

^a Iakob Gogebashvili Telavi State University, Georgia

Abstract

Results of microbiological investigation of catarrhal and ulcerous gingivitis on the background of treatment with Unimag are presented in the work.

Preparation Unimag is a stable suspension of highly-dispersed magnetic particles. Unimag is magnetic-sensitive, X-ray contrast, bactericidal substance; it is characterized by ability to increase functional activity of phagocytes, absorption of various bio-macromolecules, and high penetration ability in tissues.

Studies have revealed that treatment with Unimag of the patients with catarrhal and ulcerous gingivitis, rapidly normalizes quantity of microbes in the oral cavity, substituting the gram-negative pathogenic flora for the gram-positive microorganisms in the oral cavity. Unimag increases sensitivity of pathogenic flora towards the anti-bacterial preparations. All the above-mentioned is significant for efficient impact on damaging factors during inflammation.

Keywords: Unimag, highly dispersed magnetite, gingivitis.

1. Введение

Среди комплексного лечения воспалительных процессов пародонта, особое место занимает проблема местного очага. Морфологические особенности тканей пародонта, высокая степень инфицирования микробами, деструкция тканей, нарушение микроциркуляции, патофизиологические особенности воспалительных процессов тканей пародонта – всё это затрудняет эффективное воздействие на повреждающий фактор. Поэтому, несмотря на множество лечебных средств, для лечения воспалительных заболеваний пародонта, эта проблема всё так же остается нерешённой. Этим обусловлена актуальность поиска новых эффективных средств в указанном направлении (Пурукер, 1993; Moller, 2004).

2. Материалы и методы

Препарат Унимаг представляет собой устойчивую суспензию, магнитную жидкость высокодисперсных частиц. Он является магниточувствительным, рентгеноконтрастным, бактерицидным веществом. Характеризуется возможностью разной биомолекулярной адсорбции, усиления функциональной активности фагоцитов и высокой проницаемости в ткани.

В исследования были включены 40 больных с катаральным и язвенным гингивитом средней формы. В наблюдаемых и контрольных группах по каждой нозологии были выбраны больные в возрасте 20-20, от 21 до 50 лет, без какого либо сопровождающего

* Corresponding author

E-mail addresses: nananatsvlishvili@mail.ru (N.K. Natsvlishvili)

заболевания. В комплексе лечения 1 группы (наблюдаемая) после соответствующего кюретажа местно применяли препарат Унимаг, а во второй группе (контрольная) – 2 % димексид. Лечебные манипуляции проводили ежедневно, один раз в сутки. В процессе исследования микробное количество в ротовой полости (показатели микробного обсеменения ротовой полости) изучали микробиологическим исследованием жидкости, полученной санацией ротовой полости, методом М. Ясиновского (1931) (Ясиновский, 1931).

В патологическом очаге соотношение грамположительной и грамотрицательной флоры изучали микроскопом (увел. Х900). Исследовали мазки, полученные в результате санации ротовой полости раствором и окрашивания по Граму. Считали количество грамположительных и грамотрицательных микробов.

Результаты и анализ наблюдений. Микробиологические исследования среди больных с язвенным гингивитом показали высокое качество микробного обсеменения ротовой полости.

На 5-ый, 6-ой день с начала лечения отмечалось уменьшение количества микробов в ротовой полости, по сравнению с данными, полученными до начала лечения, как в контрольной группе, так и среди больных с язвенным гингивитом (Таблица 1). Среди больных, которые лечились Унимагом, число микробов на 5-ый 6-ой день с начала лечения составило $26,7 \pm 2,2$, что по статистическим данным является низким показателем ($P < 0,05$), по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы $36,17 \pm 2,9$.

Таблица 1. Динамика показателей микробного количества в ротовой полости на фоне лечения Унимагом больных с язвенным гингивитом

Группа больных	Количество микробов		
	До начала лечения	На 5-6 день с начала лечения	На 10-11 день с начала лечения
1 группа	Обильный рост	$26,7 \pm 2,2$ $p < 0,05$	$13,8 \pm 1,1$ $P < 0,05$ $P_1 < 0,05$
2 группа	Обильный рост	$36,17 \pm 2,9$	$28,9 \pm 2,1$ $P_1 < 0,05$

1 группа – больные, которые лечились Унимагом (наблюдаемая группа), 2 группа – больные, которые лечились по традиционной схеме (контрольная группа), P – по сравнению с аналогичными контрольными показателями, p1 – в той же группе по сравнению с показателями на 5-ый 6-ой день с начала лечения.

На 10-ый, 11-ый день с начала лечения у пациентов, которые лечились Унимагом, число микробов в ротовой полости составило $13,8 \pm 1,1$, эти показатели были довольно меньше как по сравнению с показателями, полученными на 5-ый, 6-ой день лечения пациентов указанной группы, так и по сравнению с контрольными показателями контрольной группы ($P < 0,05$, $P_1 < 0,05$). К этому моменту, среди больных контрольной группы число микробов составляло $28,9 \pm 2,1$ и, фактически, не отличалось ($P_1 > 0,05$) от данных лечения больных этой же группы на 5-ый, 6-ой день.

На фоне язвенного гингивита, в жидкости, полученной в результате санации ротовой полости, была получена следующая микробиологическая картина (Таблица 2).

Таблица 2. Результаты бактериологического исследования ротовой полости среди больных с язвенным гингивитом

Виды микроорганизмов	Количество микроорганизмов %
<i>Streptococcus pyogenes</i>	58,7
<i>Streptococcus viridans</i>	40,3
<i>Streptococcus agalactiae</i>	9,4
<i>Streptococcus sanguis</i>	6,3
<i>Streptococcus mutans</i>	3,5
<i>Streptococcus mitis</i>	5,5

Streptococcus anhemoliticus	4,6
Streptococcus unitis	1,3
Staphylococcus epidermidis	7,1
Staphylococcus aureus	22,9
Candida albicans	52,3
E, Coli	6,2
Porphyromanas Gingivalis	80,1
Treponema Denticola	63,2
Proteus	45,7
Actinobacillus Actinomycetemcomitans	76,1

Указанным микроорганизмам свойственна выработка лейкотоксина и, соответственно, подавление фагоцитоза (Мазур, 2000; Модина, 1998)

Среди больных с язвенным гингивитом до начала лечения в жидкости, полученной в результате санации ротовой полости, проявились высокопроцентные показатели грамотрицательных микробов. Грамотрицательные микробы составляют $30,21 \pm 2,25$ % от общего количества микроорганизмов (Таблица 3).

Таблица 3. Процентное соотношение грамположительной и грамотрицательной флоры в ротовой полости среди больных с язвенным гингивитом на фоне лечения Унимагом в динамике

Микрофлора	До начала лечения	На 5-6 день с начала лечения (%)		На 10-11 день с начала лечения (%)	
		1 группа	2 группа	1 группа	2 группа
грам +	$69,79 \pm 2,25$	$77,66 \pm 2,1$ $P < 0,05$ $P_1 < 0,05$	$71,7 \pm 3,2$ $P < 0,05$	$87,0 \pm 0,9$ $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$	$78,06 \pm 1,4$ $P_2 < 0,05$
грам -	$30,21 \pm 2,25$	$22,3 \pm 2,1$ $P < 0,05$ $P_1 < 0,05$	$28,3 \pm 3,2$ $P > 0,05$	$13,0 \pm 0,09$ $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$	$21,94 \pm 1,4$ $P_2 < 0,05$

1 группа – больные, которые лечились Унимагом (наблюдаемая группа), 2 группа 1 – больные, которые лечились по традиционной схеме (контрольная группа), P – относительно данных, полученных до начала лечения, P_1 – относительно соответствующих контрольных показателей, P_2 – относительно соответствующих показателей на 5-ый, 6-ой день с начала лечения.

Среди больных, которым провели лечение Унимагом, на 5-ый, 6-ой день с начала лечения, значительно уменьшилось число грамотрицательных микробов ($P < 0,05$) в ротовой полости по сравнению с данными, полученными до начала лечения, и составило $22,34 \pm 2,1$ %. Указанные показатели были значительно меньше ($P_1 < 0,05$) по сравнению с контрольными показателями ($28,3 \pm 3,2$ %) которые к этому моменту не очень отличались от данных, полученных до начала лечения ($P > 0,05$).

Среди больных, которые лечились Унимагом, на 10-ый, 11-ый день с начала лечения, число грамотрицательных микробов в жидкости, полученной в результате санации ротовой полости ещё больше уменьшилось и составляло $13,0 \pm 0,9$. По статистике указанные показатели были меньше, как относительно показателей, полученных на 5-ый, 6-ой день с начала лечения ($P_2 < 0,05$), так и относительно аналогичных показателей контрольной группы ($P_1 < 0,05$), число которых к данному моменту составляло $21,94 \pm 1,4$.

Мы считаем, что быстрая нормализация количества микробов, обусловлена как прямым, та и косвенным воздействием Унимага на патогенную флору. (8).

Унимаг кроме прямого воздействия на патогенную флору, вызывает повышение фагоцитарной активности микро- и макрофагов (9), в частности, повышает фагоцитарное число, фагоцитарный индекс и показатель завершенности фагоцитоза.

3. Заключение

Факт активной замены грамотрицательной флоры грамположительными бактериями имеет прогнозируемое значение (Данилевский, Борисенко, 2000; Данилевский и др., 1999). На основании полученных результатов можно задуматься о высокой терапевтической активности Унимага.

Литература

Данилевский, Борисенко, 2000 – Данилевский Н.Ф., Борисенко А.В. Заболевания пародонта. Киев, Здоров'я, 2000.

Данилевский и др., 1999 – Данилевский Н.Ф., Магид Е.А., Мухин Н.А. Миликевич В.Ю., Маслак Е.Е. Заболевания пародонта. Москва, Медицина, 1999.

Мазур, 2000 – Мазур Р. Новое в стоматологии, 2000, 4, 78-80.

Модина, 1998 – Модина Т.Н. Клиническая стоматология, 1998, 3, 70-73.

Пурукер, 1993 – Пурукер П. Квинтэссенция, 1993, 1, 14-21.

Ясиновский, 1931 – Ясиновский М.А. К физиологии, патологии и клинике слизистых оболочек. Харьков, Госмедиздат УССР, 1931.

Moller, 2004 – Moller W. In: Abstracts of International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers. Lyon, 2004.

Shmagel et al., 2003 – Shmagel K.B., Belaeva O.B., Cheresnov B.A. Stomatologia, 2003, 1, 61, 63.

Tskitishvili et al., 2004a – Tskitishvili T.G., Surguladze B.V., Chelidze L.N., Baghishvili A.I., Shanidze M.M. Georgian Medical News, 2004, 2, 7-9.

Tskitishvili et al., 2004b – Tskitishvili T.G., Surguladze B.V., Burkadze G.A., Baghishvili A.I. Allergology and Immunology, 2004, 5, 495-497.

References

Danilevskii i dr., 1999 – Danilevskii, N.F., Magid, E.A., Mukhin, N.A. Milikevich, V.Yu., Maslak, E.E. (1999). Zabolevaniya parodonta [Periodontal disease]. Moskva, Meditsina. [in Russian]

Danilevskii, Borisenko, 2000 – Danilevskii, N.F., Borisenko, A.V. (2000). Zabolevaniya parodonta [Periodontal disease]. Kiev, Zdorov'ya. [in Russian]

Mazur, 2000 – Mazur, R. (2000). Novoe v stomatologii [New in dentistry], 4, 78-80. [in Russian]

Modina, 1998 – Modina, T.N. (1998). Klinicheskaya stomatologiya [Clinical dentistry], 3, 70-73. [in Russian]

Moller, 2004 – Moller W. (2004). In: Abstracts of International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers. Lyon.

Puruker, 1993 – Puruker, P. (1993). Kvintessentsiya [Quintessence], 1, 14-21. [in Russian]

Shmagel et al., 2003 – Shmagel, K.B., Belaeva, O.B., Cheresnov, B.A. (2003). Stomatologia 1, 61, 63.

Tskitishvili et al., 2004a – Tskitishvili, T.G., Surguladze, B.V., Chelidze, L.N., Baghishvili, A.I., Shanidze, M.M. (2004). Georgian Medical News, 2, 7-9.

Tskitishvili et al., 2004b – Tskitishvili, T.G., Surguladze, B.V., Burkadze, G.A., Baghishvili, A.I. (2004). Allergology and Immunology, 5, 495-497.

Yasinovskii, 1931 – Yasinovskii, M.A. (1931). K fiziologii, patologii i klinike slizistykh obolochek [To physiology, pathology and clinic mucous membranes]. Kharykov, Gosmedizdat USSR. [in Russian]

Эффективность Унимага при лечении язвенных гингивитов

Нана Карлоевна Нацвлишвили ^{a, *}, Лела Кипароидзе ^a

^aТелавский государственный университет имени Якоба Гогешашвили, Грузия

Аннотация. В работе, на основе совокупности клинических данных, рассмотрено динамическое изучение изменений микрофлоры ротовой полости на фоне лечения катаральных гингивитов Унимагом.

Исследования показывают, что лечение язвенного гингивита Унимагом обуславливает быструю нормализацию количества микробов ротовой полости, замещение отрицательной патогенной флоры грамположительными микроорганизмами, характерными для полости рта. Кроме прямого воздействия на патогенную флору Унимаг вызывает усиление фагоцитарной активности микро- и макрофагов. А это обуславливает рост показателей фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса и окончания фагоцитоза.

Ключевые слова: Унимаг, высокодисперсный магнетит, гингивит.

* Корреспондирующий автор
Адреса электронной почты: nananatsvlishvili@mail.ru (Н.К. Нацвлишвили)

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
European Journal of Medicine. Series B
Has been issued since 2014.
E-ISSN: 2413-7464
2018, 5(1): 61-67

DOI: 10.13187/ejm.s.b.2018.1.61
www.ejournal27.com



Peculiarities of Diagnostics of Lower Extremities Peripheral Artery Disease in Geriatric Patients

Gulnora Rozikhodjaeva ^{a, *}, Gulsanam Aytimova ^b

^a Central Clinical Hospital N1, Tashkent Institute of Postgraduate Medical Education, Republic of Uzbekistan

^b Urgench Branch of Tashkent Medical Academy, Republic of Uzbekistan

Abstract

Ultrasound diagnostics is one of the most frequently used non-invasive methods used to assess the anatomy, hemodynamic and morphology of vascular lesions. Ultrasound is considered to be the gold standard and a powerful tool for establishing diagnosis and optimization of treatment of the lower extremities peripheral artery disease, detection of arterial occlusions and stenosis. In the diagnosis of the lower extremities peripheral artery disease in geriatric patients, age-related aspects and comorbidities should be taken into account. Diagnostic procedures in the elderly should not be burdensome for the patient. A consistent, stage-appropriate diagnosis of the lower extremities peripheral artery disease can in many cases be performed noninvasively. However, in the later stages of the disease, diagnosis should be aimed at justifying revascularization, the purpose of which is to improve patient mobility, preserve limbs and improve the quality of life of geriatric patients.

Keywords: lower extremities peripheral artery disease, diagnostic, ultrasound, elderly.

1. Введение

Ультразвуковая диагностика является одним из наиболее часто используемых неинвазивных методов, применяемых для оценки анатомии, гемодинамики и морфологии сосудистого поражения.

Ультразвуковое исследование считается золотым стандартом и мощным инструментом для установления диагноза и оптимизации лечения заболевания артерий нижних конечностей, выявления артериальных окклюзий и стенозов. В диагностике заболевания артерий нижних конечностей у гериатрических пациентов нужно учитывать возрастные аспекты и сопутствующие заболевания. Диагностические процедуры в пожилом возрасте не должны быть обременительными для пациента. Последовательная, соответствующая стадиям диагностика заболевания артерий нижних конечностей может во многих случаях выполняться неинвазивно. Тем не менее, на более поздних стадиях заболевания диагностика должна быть направлена на обоснование реваскуляризации, целью которой является улучшение мобильности пациента, сохранение конечности и улучшение качества жизни гериатрических пациентов.

* Corresponding author

E-mail addresses: gulnoradm@inbox.ru (G.A. Rozikhodjaeva)

2. Актуальность проблемы

Заболевание артерий нижних конечностей (ЗАНК) является основной причиной заболеваемости и смертности во всем мире и требует значительных финансовых затрат. Во всем мире заболеваемость ЗАНК увеличилась с 164 миллионов в 2000 году до 202 миллионов в 2010 году. В целом, ЗАНК поражает 10-15 % населения. Распространенность ЗАНК увеличивается с возрастом пациента. ЗАНК встречается у более 20 % пациентов старше 75 лет, более 25 % пациентов старше 80 лет, примерно у 30-40 % - старше 85 лет ([Dhaliwal, Mukherjee, 2007](#), [Rozikhodjaeva, 2011](#)). У подавляющего числа этих пациентов заболевание протекает бессимптомно и диагностируется только на далеко зашедшей стадии (III и IV по Фонтейну). Даже при подтвержденном диагнозе ЗАНК воспринимается менее серьезно, чем, к примеру, ишемическая болезнь сердца, цереброваскулярная болезнь или перенесенный инсульт. ЗАНК часто сочетается с этими заболеваниями, являясь маркером ИБС, независимым предиктором смертности, обусловленной сердечно-сосудистыми событиями ([Cooke, Chen, 2015](#)). 5-летняя смертность у пациентов с перемежающейся хромотой (ПХ) II стадии достигает 25 %. Пациенты же с хронической критической ишемией конечностей (КИНК) на III стадии (ишемическая боль в покое) или IV стадии (некроз) имеет годовую летальность 25 %. У этой группы пациентов вероятность ампутации конечности в течение одного года у пациентов с последовательным снижением качества жизни, ограничением мобильности и инвалидностью пациента приближается к 30 % ([Fowkes et al., 2013](#); [Criqui, Aboyans, 2015](#); [Национальные рекомендации..., 2018](#)).

3. Материалы и методы

Основными факторами риска развития более высокого класса ЗАНК или КИНК, в дополнение к возрасту являются сахарный диабет, курение никотина. Также имеется связь ЗАНК с артериальной гипертонией и гиперлипидемией. Причина ЗАНК у пожилых пациентов практически всегда связана с атеросклерозом, реже с сердечной или артерио-артериальной эмболией или васкулитом. Необходима дифференциальная диагностика с неврологическими или дегенеративными и ортопедическими заболеваниями. У пожилых лиц, несмотря на бессимптомное течение ЗАНК, чаще встречаются сердечно-сосудистые события. В связи с этим, пациентов, имеющих высокий кардиоваскулярный профиль риска (возраст более 65 лет, сахарный диабет, курение никотина), следует целенаправленно обследовать на ЗАНК. ПХ является клиническим проявлением ЗАНК. Боль в мышцах вызывается ишемией мышечной группы, лежащей дистальнее стеноза или окклюзии сосуда. В состоянии покоя нет снижения кровотока и, следовательно, нет клинических симптомов. Критическая ишемия конечностей клинически проявляется ишемической болью в покое или трофическими изменениями тканей (язва, гангрена) ([Sigvant et al., 2016](#); [Gerhard-Herman et al., 2017](#); [Aboyans et al., 2018](#)).

4. Обсуждение

В соответствии с клиническими симптомами ЗАНК разделяют на стадии. Наиболее подробно характеристика степеней тяжести хронической ишемии нижних конечностей представлена в классификации Rutherford. В ней не только выделены разные по распространенности и глубине стадии трофических расстройств, но и определены в самостоятельные пункты разные по степени выраженности случаи ПХ, в том числе выраженная ([Natsionalnyie rekomendatsii..., 2018](#)). Согласно Rutherford ЗАНК может быть разделено на шесть степеней (1-6), согласно Фонтейну на четыре (I-IV) стадии ([Таблица 1](#)).

Таблица 1. Классификация тяжести хронической ишемии конечности (по Фонтейну, А.В. Покровскому, Рутенфорду)

По Фонтейну		По Покровскому	По Рутенфорду		
Стадии	Симптомы	Стадии	Степени	Категории	Симптомы
I	Асимптомная	I	0	0	Асимптомная
IIa	ПХ более 200 м	IIa (200-1000 м)	I	1	Легкая ПХ
II б	ПХ менее 200м	II б (менее 200 м)	I	2	Умеренная ПХ
			I	3	Выраженная ПХ
III	Ишемическая боль в покое	III	II	4	Ишемическая боль в покое
IV	Язва, гангрена	IV	III	5	Начальные трофические изменения
				6	Язва или гангрена

Ключевым компонентом клинического осмотра является оценка пульса: 0 – отсутствует; 1 – снижен; 2 – нормальный; 3 – пограничный. При аускультации может выслушиваться шум над артериями. При осмотре стоп обратить внимание на температуру и целостность кожных покровов стопы, наличие повреждений, изъязвлений. Кроме того следует обратить внимание на отсутствие (выпадение) волос, трофические изменения кожи, гипертрофия ногтей. В новой версии рекомендаций по диагностике и лечению заболеваний периферических артерий Европейского общества сосудистой хирургии (ESVS) и Европейского общества кардиологов (ESC) (2017 год) предложена классификация степени ишемии конечностей, в основу которой положены двигательные и чувствительные нарушения ([Natsionalnye rekomendatsii..., 2018](#)).

Широко применяемая проба Ratschow (1959) характеризует степень кровоснабжения дистальных отделов конечностей. Пациенту, лежащему на спине с обнаженными и вытянутыми ногами, предлагают поднять ноги до угла 45° и в этом положении производить сгибание и разгибание стоп по одному разу в секунду в течение 2 мин. К сожалению, зачастую в гериатрической практике во многих случаях эта проба неосуществима. Поэтому основу диагностики для исключения ЗАНК составляют тщательный анамнез с уточнением симптомов и хорошее клиническое обследование.

Измерение лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ), впервые предложенного Winsor в 1950-х годах – это метод для идентификации пациентов с симптоматическим и бессимптомным ЗАНК. ЛПИ измеряется путем вычисления артериального давления в области лодыжки и деления на более высокие из двух систолических артериальных давлений на плечевой артерии и остается основным клиническим диагностическим тестом для ЗАНК ([Aboyans et al., 2012](#); [Lin et al., 2013](#)).

Нормальные значения ЛПИ находятся между 1 и 1,3. При пограничных значениях 0,91-0,99 имеется подозрение на ЗАНК. ЛПИ ниже 0,9 указывает на наличие ЗАНК, ниже 0,4 – на наличие тяжелой стадии ЗАНК. Пациенты, как с низкими, так и высокими значениями (более 1,4) ЛПИ имеет более высокий уровень сердечно-сосудистых событий ([Niazi et al., 2006](#)). Диапазон значений ЛПИ между 0,91 и 0,99 и ниже указывает на повышение сердечно-сосудистого риска, включая инсульт, ИБС или сердечно-сосудистую смерть. ЛПИ имеет относительно высокую чувствительность и специфичность, но такая высокая точность не может быть достигнута для всех категорий пациентов. Низкая чувствительность ЛПИ была указана в исследованиях, где ЛПИ оказался нормальным (1-1,3) или выше нормы (выше 1,3) для группы пациентов с ЗАНК. Артерии пожилых людей, пациентов с сахарным диабетом или почечной недостаточностью обычно кальцинированы, и в значительной степени несжимаемы, что приводит к ложно-высоким, неинформативным показателям ЛПИ (более 1,3), что указывает на медиасклероз ([Таблица 2](#)).

Таблица 2. Тяжесть ЗАНК по значениям лодыжечно - плечевого индекса

Значения ЛПИ	Периферическое давление	Степень тяжести ЗАНК / интерпретация
>1,3	>220 мм рт ст	Несжимаемые артерии, подозрение на медиасклероз
0,9-1,3	100-220 мм рт ст	норма
0,75-0,9	80-100 мм рт ст	Легкая
0,5-0,75	50-80 мм рт ст	Умеренная
0,5	<50 мм рт ст	Тяжелая

ЛПИ также может быть измерен автоматическими осциллометрическими методами, результаты которых хорошо коррелируют с доплеровскими измерениями (Niazi et al., 2006). По данным Xu и соавт, чувствительность ЛПИ при обнаружении/исключении ЗАНК находилась в диапазоне 61-96 %, а специфичность в пределах 56-90 % (Xu et al., 2013). Хотя ЛПИ является простым тестом, его выполнение может занять много времени, требует обучения и опыта (Rozikhodjaeva, 2011). Тест ЛПИ обычно занимает около 15 минут, и ему должен предшествовать 30-минутный период отдыха. ЛПИ не может определить местоположение артериального стеноза/окклюзии, поэтому не все руководства рекомендуют его в качестве инструмента для скрининга ЗАНК в условиях первичной медико-санитарной помощи.

Цветовое дуплексное сканирование (ЦДС) хорошо подходит для обнаружения и для количественной оценки анатомии и гемодинамической значимости стенозов и окклюзий. ЦДС сочетает в себе использование В-режима, PW, цветового доплера и необременительно для пожилого пациента. ЦДС позволяет осуществить сегментарный анализ доплеровского спектра и применяется для доказательства или исключения ЗАНК даже при неинформативных значениях ЛПИ при медиасклерозе. ЦДС играет центральную роль в дифференциальной диагностике, планировании терапии, послеоперационном мониторинге после вмешательства. Однако использование ДС сильно зависит от оператора и 5-20 % пациентам невозможно проведение ДС из-за изъязвления, боли, отека, сильно кальцинированных артерий и ожирения. ДС может требовать много времени (1-2 часа для полноценной оценки), требует дорогостоящего оборудования и обученного, опытного специалиста со знанием анатомии сосудистой системы (Collins et al., 2007, Rozikhodjaeva, 2011).

Измерение ЛПИ и ЦДС, включая спектральный анализ, можно комбинировать с стресс-тестами (например, тредмил-тест на беговой дорожке с 3,2 км/ч и наклоном 10 %). Уменьшение артериального давления на лодыжке после нагрузки на 20 мм рт.ст. или более указывает на тяжелое течение ЗАНК. Однако, стресс-тесты у гериатрических пациентов зачастую невозможно осуществить. У мобильных же гериатрических больных в отдельных случаях целесообразно проведение теста с 6 минутной ходьбой (Rozikhodjaeva, 2011). При неинформативных значениях ЛПИ можно использовать измерение пальцевого давления. Однако показано, что измерение пальцевого давления обычно не предоставляет дополнительную к ЛПИ информацию. Чрескожное измерение парциального давления кислорода предоставляет информацию об оксигенации периферической ткани. Значение менее 30 мм рт ст указывает на хроническую критическую ишемию конечностей, значение менее 10 мм рт ст указывает на высокий риск ампутации (Niazi et al., 2006).

Несмотря на то, что инвазивные методы являются более точными, они дорогие, неудобные и могут представлять определенные риски для пациентов. Магнитно-резонансная ангиография (МРА), компьютерная томография ангиография (КТА) дают полное представление морфологии артерий конечности, и их можно использовать при подготовке к шунтированию или чрескожному эндоваскулярному вмешательству. Однако, в гериатрической практике иногда имплантированный кардиостимулятор может явиться ограничением для МРА, а при проведении КТА у пожилых пациентов следует обратить внимание на дозирование контрастного вещества при имеющейся почечной недостаточности (Jens et al., 2013). Применение инвазивной диагностики (внутриартериальной ангиографии) в качестве золотого стандарта при визуализации периферических артерий оправдано в тех случаях, когда требуются подробные измерения, например, при планировании и проведении

хирургических вмешательств. Однако и здесь у гериатрических пациентов имеются ограничивающие факторы, такие как сильно кальцинированные сосуды и почечная недостаточность. Кроме того когнитивные дефициты и деменция могут осложнять чрескожные вмешательства, связанные с недостаточной способности к кооперации (кровотечение или падения) (Pollak et al., 2012; Höbaus et al., 2017).

5. Заключение

ЗАНК у гериатрических пациентов является одним из маркеров высокой сердечно-сосудистой смертности, а на высоких стадиях по Фонтейну существует высокий риск ампутации, приводящей к инвалидности пациента.

На поздних стадиях ЗАНК диагностика должна способствовать оптимизации тактики лечения с целью сохранения конечности, мобильности и повышения качества жизни пациента.

Соответствующая стадиям, последовательно проводимая диагностика ЗАНК должна быть в первую очередь обременительной для гериатрического пациента. При этом следует учитывать возрастные аспекты и сопутствующие заболевания, такие как медиасклероз и почечная недостаточность, которые существенно осложняют диагностический процесс.

References

Aboyans et al., 2012 – Aboyans, V, Criqui, M.H., Abraham, P, Matthew, A., Allison, M.A., Creager, M.A., Diehm, C., Fowkes, G.R., Hiatt, W.R., Jönsson, B., Lacroix, P., Marin, B., McDermott, M.M., Norgren, L., Pande, R.L., Preux, M.P., Stoffers, H.E., Treat-Jacobson, D. American Heart Association Council on Peripheral Vascular Disease; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Clinical Cardiology; Council on Cardiovascular Nursing; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention, and Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia (2012). Measurement and interpretation of the ankle-brachial index: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 11; 126(24): 2890-2909.

Aboyans et al., 2018 – Aboyans, V., Ricco, J.B., Bartelink, M.E.L., Björck, M., Brodmann M., Cohnert, T., Collet, J.P., Czerny, M., De Carlo, M., Debus, S., Espinola-Klein, C., Kahan, T., Kownator, S., Mazzolai, L., Naylor, A.R., Roffi, M., Röther, J., Sprynger, M., Tendera, M., Tepe, G., Venermo, M., Vlachopoulos, C., Desormais, I. ESC Scientific Document Group. (2018). 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries. Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO), the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *Eur. Heart J. England*, 39(9): 763–816.

Collins et al., 2007 – Collins, R., Burch, J., Cranny, G., Aguiar-Ibanez, R., Craig, D., Wright, K., Berry, E., Gough, M., Kleijnen, J., Westwood, M. (2007). Duplex ultrasonography, magnetic resonance angiography and computed tomography angiography for diagnosis and assessment of symptomatic, lower limb peripheral arterial disease: systematic review. *BMJ*, 334(7606): 1257.

Cooke, Chen, 2015 – Cooke JP, Chen Z. (2015). A compendium on peripheral arterial disease. *Circ. Res.*, 116(9): 1505-1508.

Criqui, Aboyans, 2015 – Criqui, M.H., Aboyans, V. (2015). Epidemiology of peripheral arterial disease. *Circ Res.*, 116(9): 1509-1526.

Dhaliwal, Mukherjee, 2007 – Dhaliwal, G., Mukherjee, D. (2007). Peripheral arterial disease: epidemiology, natural history, diagnosis and treatment. *Int. J. Angiol.*, 16: 36–44.

Fowkes et al., 2013 – Fowkes, F.G., Rudan, D., Rudan, I., Aboyans, V., Denenberg, J.O., McDermott, M.M., Norman, P.E., Sampson, U.K., Williams, L.J., Mensah, G.A., Criqui, M.H. (2013). Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and analysis. *Lancet*, 382: 1329–1340.

Gerhard-Herman et al., 2017 – Gerhard-Herman, M.D., Gornik, H.L., Barrett, C., Barshes, N.R., Corriere, M.A., Drachman, D.E., Fleisher, L.A., Fowkes, F.G., Hamburg, N.M., Kinlay, S., Lookstein, R., Misra, S., Mureebe, L., Olin, J.W., Patel, R.A., Regensteiner, J.G.,

Schanzer, A., Shishehbor, M.H., Stewart, K.J., Treat-Jacobson, D., Walsh, M.E. (2017). 2016 AHA/ACC Guideline on the Management of Patients with Lower Extremity Peripheral Artery Disease: A Report of the American College of Cardiology / American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*, 135(12): e686-e725.

Höbaus et al., 2017 – Höbaus, C., Herz, C.T., Obendorf, F., Howanietz, M.T., Wrba, T., Koppensteiner, R., Scherthner, G.H. (2017). Center-based patient care enhances survival of elderly patients suffering from peripheral arterial disease. *Ann Med.*, 49(4): 291-298.

Jens et al., 2013 – Jens, S., Koelemay, M.J., Reekers, J.A., Bipat, S. (2013). Diagnostic performance of computed tomography angiography and contrast-enhanced magnetic resonance angiography in patients with critical limb ischaemia and intermittent claudication: systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol.*, 23(11): 3104-3114.

Lin et al., 2013 – Lin, J.S., Olson, C.M., Johnson, E.S., Whitlock, E.P. (2013). The ankle-brachial index for peripheral artery disease screening and cardiovascular disease prediction among asymptomatic adults: asystematic evidence review for the U.S. preventive services task force. *Ann Intern Med.*, 159: 333.

Natsionalnyie rekomendatsii..., 2018 – Natsionalnyie rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu zabolevaniy arteriy nizhnih konechnostey [Electronic resource]. URL: <http://www.angiolsurgery.org/recommendations/2018/recommendations-project> (accessed 09.12.2018) [in Russian]

Niazi et al., 2006 – Niazi, K., Khan, T.H., Easley, K.A. (2006). Diagnostic utility of the two methods of ankle brachial index in the detection of peripheral arterial disease of lower extremities. *Catheter Cardiovasc Interv.*, 68: 788-792.

Pollak et al., 2012 – Pollak, A.W., Norton, P.T., Kramer, C.M. (2012). Multimodality imaging of lower extremity peripheral arterial disease: current role and future directions. *Circ Cardiovasc Imaging*. 5(6): 797-807.

Rozikhodjaeva, 2011 – Rozikhodjaeva, G (2011). Diagnostic Approaches to Estimate the Functional Status of the Cardiovascular System in Elderly patients with Coronary Heart Disease. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 37(8): 158.

Sigvant et al., 2016 – Sigvant, B., Lundin, F., Wahlberg, E. (2016). The Risk of Disease Progression in Peripheral Arterial Disease is Higher than Expected: A Meta-Analysis of Mortality and Disease Progression in Peripheral Arterial Disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg.*, 51(3): 395-403.

Xu et al., 2013 – Xu, D., Zou, L., Xing, Y., Hou, L., Wei, Y., Zhang, J., Qiao, Y., Hu, D., Xu, Y., Li, J., Ma, Y. (2013). Diagnostic value of ankle-brachial index in peripheral arterial disease: a meta-analysis. *Can J Cardiol.*, 29(4): 492-498.

Особенности диагностики заболевания периферических артерий нижних конечностей у гериатрических пациентов

Гульнора Розыходжаева ^{a,*}, Гулсанам Айтимова ^b

^a Центральная клиническая больница №1, Ташкентский институт усовершенствования врачей, Республика Узбекистан

^b Ургенчский филиал Ташкентской Медицинской Академии, Республика Узбекистан

Аннотация. Ультразвуковая диагностика является одним из наиболее часто используемых неинвазивных методов, применяемых для оценки анатомии, гемодинамики и морфологии сосудистого поражения. Ультразвуковое исследование считается золотым стандартом и мощным инструментом для установления диагноза и оптимизации лечения заболевания артерий нижних конечностей, выявления артериальных окклюзий и стенозов. В диагностике заболевания артерий нижних конечностей у гериатрических пациентов нужно учитывать возрастные аспекты и сопутствующие заболевания. Диагностические процедуры в пожилом возрасте не должны быть обременительными для пациента. Последовательная, соответствующая стадиям диагностика заболевания артерий нижних

* Корреспондирующий автор

Адреса электронной почты: gulnoradm@inbox.ru (Г. Розыходжаева)

конечностей может во многих случаях выполняться неинвазивно. Тем не менее, на более поздних стадиях заболевания диагностика должна быть направлена на обоснование реваскуляризации, целью которой является улучшение мобильности пациента, сохранение конечности и улучшение качества жизни гериатрических пациентов.

Ключевые слова: заболевание периферических артерий нижних конечностей, диагностика, ультразвуковая диагностика, пожилой возраст.

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
European Journal of Medicine. Series B
Has been issued since 2014.
E-ISSN: 2413-7464
2018, 5(1): 68-72

DOI: 10.13187/ejm.s.b.2018.1.68
www.ejournal27.com



Clinical Observation of Iatrogenic Itsenko-Cushing's Syndrome at Patient with Bronchial Asthma

Victoria A. Sergeeva ^{a, *}, Julia O. Kharkova ^a, Ekaterina A. Ivanova ^b

^a Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Russian Federation

^b Regional clinical hospital of Saratov, Russian Federation

Abstract

American physician Philip Hench, who first used glucocorticosteroids (GCS) to treat patients with rheumatoid arthritis, underwent a revolution in medicine and was awarded the Nobel Prize in 1950 for his work. Since then almost all have become known about the GCS. Doctors working with the GCS often respond about such therapy as walking on the razor's edge. Alas, there are clinical situations when it is impossible to avoid high doses of these drugs, in other cases there are always trade-offs. The appointment of GCS should be preceded by an in-depth analysis of the need and justification of the choice of such therapy, because sometimes the severity of side effects and complications after treatment with GCS exceeds the severity of the initial disease. In this article, we present our own clinical observation of a patient with iatrogenic Itsenko-Cushing syndrome, which resulted from a long illicit therapy with prednisolone.

Keywords: clinical observation, iatrogenic Itsenko-Cushing's syndrome, bronchial asthma, prednisolone, glucocorticosteroids, diabetes mellitus.

1. Introduction

According to world statistics, about 1 % of the population uses long-term systemic corticosteroids. Among them, 2/3 manifests Itsenko-Cushing's drug syndrome (Fardet *et al.*, 2011; Venkateshwarlu Nandyala *et al.*, 2017). Sometimes the treatment of GCS is justified, and it is impossible to replace the drug. In such cases, it is usually a question of correcting (minimizing) the side effects of taking them, selecting the minimum effective doses and the most effective drug in a particular clinical situation (Saurabh Srivastava *et al.*, 2015; Tiwari *et al.*, 2013). The most notable achievement of the mid-twentieth century can be considered the discovery of topical GCS, which marked the beginning of a new era of highly effective therapy with minimal systemic effects (O'Sobande, Kerckmar, 2008). However, in some situations, doctors forget about the possibility of revising the therapy with the advent of new modern alternatives, which is often due to the fact that the drug used "in the old way" continues to have a therapeutic effect.

Taking a physiological dose of 2.5 to 7.5 mg of prednisolone per day is usually not accompanied by side effects (Fardet *et al.*, 2011). The use of the drug in higher doses (more than 7.5 mg per day) can lead to functional insufficiency of the adrenal cortex and the development of complications (Borisova, 2004). Acceptance of systemic corticosteroids for more than 4–5 months can lead to atrophy of the adrenal cortex in 40 % of patients (Fardet *et al.*, 2011).

* Corresponding author

E-mail addresses: viktoriasergeeva@mail.ru (V.A. Sergeeva)

2. Clinical case

We present a clinical observation of patient S. 55 years old hospitalized in the Department of Endocrinology of Saratov Regional Clinical Hospital (RCH) in October 2017. Complaints at the time of hospitalization: numbness, burning, coldness of the feet; pain in the muscles of the legs, worse when walking; increase in blood pressure (BP) to 200 and 110 mmHg.; pain of pressing nature behind the sternum with moderate exertion; shortness of breath of a mixed character with little exertion; cardiopalmus; memory loss; pain in the thoracic, lumbar spine and knee joints; frequent urination up to 7-8 times a day.

From the anamnesis data: at 28 years (1990) after giving birth, she began to notice frequent bronchitis (2-3 times a year), including in the summer months. She received the treatment by herself, usually it were chest fees, herbal remedies, however, due to the appearance of dyspnea attacks, whistling in the chest, she consulted a district physician at the place of residence (city of the Saratov region), who diagnosed bronchial asthma (BA) and prescribed treatment: regular intake of prednisone (per os) 30 mg per day. When the patient's condition deteriorated, she received inpatient treatment at the Department of Therapy of the District Hospital (DH), where, according to her, received treatment in the form of drip prednisone up to 150 mg per day for 7 to 10 days with a positive effect. With the course of the disease, the patient became allergic to a number of substances (house dust, pollen from a number of plants, aspirin). In the early 2000s she consulted at the allergic center of Saratov (she does not remember the results). Over the past 10 years, prednisolone was taken daily at a dose of 10 mg for asthma, while salbutamol was used during asthma attack. Attacks of dyspnea are practically not observed during the last few years. Until this hospitalization in the RCH patient S. have not received any consultation oa pulmonologist. Since 1992, she has noticed an increase in body weight (initial body weight 44 kg, currently weighing 102 kg). Since 2004, she began to notice general weakness, dryness in the vagina, burning, itching of the genitals. During the examination in the DH: blood glucose 15 mmol/l, in the general analysis of urine - glycosuria. Endocrinologist of the DH for the first time diagnosed diabetes mellitus (DM). Oral glucose-lowering therapy was prescribed (siofor, diabeton, the doses of the drugs changed, it cannot specify the specific ones). In 2009, she stumbled at home. It was diagnosed with a fracture of the tibia and tibia of the bones on the right. Since 2010, an increase in blood pressure to 200 and 110 mmHg. Treatment is prescribed by a physician of the DH: indapamide 2.5 mg per day, enalapril 20 mg per day which is currently also received. Against the background of therapy, blood pressure is 150-160 and 90 mmHg. Statins do not accept. Since 2014, she noted a decrease in vision. Since 2015, she noticed deterioration in memory and attention (she cannot remember a single drug, which she receives daily). In 2016, with a random fall of the house, a fracture of the right brachial bone was occurred. In 2016, due to unsatisfactory carbohydrate metabolism rates, she was hospitalized at one of Saratov Clinical Hospitals, where during the examination there were revealed complications of diabetes (fatty hepatitis, polyneuropathy, lower extremity macroangiopathy, retinopathy, nephropathy). Transferred to insulin therapy. In October 2017, due to prolonged decompensation of carbohydrate metabolism (glycaemia up to 18 mmol/l), progression of painful, convulsive lower extremity syndromes, was hospitalized at the Department of Endocrinology in the RCH for examination and correction of the therapy being conducted. Heredity on endocrine pathology is burdened by: mother, sister and father – type 2 diabetes; uncle – type 1 DM. Smoking and taking drugs denies. Alcohol does not abuse.

Physical examination (see [Figure 1](#)): the state is relatively satisfactory. The skin has tanning shade. On the skin of forearms, face, lower legs – xanthomas. Subcutaneous tissue is excessively developed, unevenly distributed, mainly in the upper half of the body. "Buffalo" body type. BMI 43 kg/m², waist 139 cm. Lower limbs: edema traces of the legs, dry skin, and atrophic, partial lack of hair growth, plantar hyperkeratosis, onychomycosis, and hyperpigmentation of the legs skin after trophic ulcers. The pulsation of the arteries dorsalis pedis, tibialis posterior is weakened to the right and left. Tactile sensitivity is reduced by the type of golf, mostly on the right. Varicose veins of the lower extremities: on both sides. Apical impulse is not palpable. Muffled heart sounds, rhythmic, heart rate 120 per minute. Blood pressure 140 and 90 mm Hg. Breathing is hard (inhale: exhale = 1: 1), wheezing is not heard. In the Romberg position is unstable. The most significant results of laboratory and instrumental studies and the conclusions of specialists – consultants are presented in [Table 1](#).



Fig. 1. External examination of patient S., 55 years

Table 1. The results of laboratory and instrumental investigation of patient S. 55 years

Glycemia to 14.5 mmol/l at admission, further to 7.2 mmol/l in the glycemc profile. HbA1c 6,5 %	Cholesterol 6.5 mmol/l, LDL 4.2 mmol/l, Atherogenic index 3.8	WBC $12.31 \cdot 10^{12} /l$
Na⁺ 134,9 mmol/l (Norm: 135-148) K⁺ 4,55 mmol /l (Norm: 3,5-5,3) Ca²⁺ 1,14 mmol/l (Norm:1,13-1,32)	Creatinine 79 μ mol/l GFR 73 ml/min.	C- reactive protein 2.91 mg/ml (Norm: 0.78-1.89)
General urine analysis: light yellow transparent Leukocytes 4-6 in sight. Albumin 10 mg/l Albumin / Creatinine N	Daily proteinuria Protein 0.03 g	Parathormone 25 pg/ml (Norm: 9.5-75)
Oculist: Diabetic retinopathy.	ECG: Sinus rhythm with heart rate 66 per minute. The horizontal position of the electrical axis of the heart. Reducing the voltage of the R wave in the chest leads.	
EGD: Chronic focal atrophic gastroduodenitis.		
Ultrasound of the kidneys: cyst of the left kidney.	Transthoracic echocardiography: Nonspecific degenerative changes in the walls of the aorta, aortic,	

Abdominal ultrasound: Diffuse changes in the liver and pancreas. Deformation of the gallbladder. Hypertrophic cholecystitis.	mitral, tricuspid valves. Aortic regurgitation is mild. Concentric hypertrophy of the left ventricular myocardium (LV). LV diastolic function is impaired by the relaxation type. Small to moderate mitral regurgitation. From small to moderate tricuspid regurgitation. Small pulmonary hypertension.
Neurologist: Diabetic distal symmetric sensorimotor polyneuropathy of the lower extremities. Chronic cerebral ischemia of complex genesis.	Spirography: respiratory function is impaired due to moderate obstruction. The test with a bronchodilator is positive: the increase in forced expiratory volume is 23% of the initial value.

The patient was diagnosed with: Primary: Diabetes mellitus with GCS, the target level of glycated hemoglobin is <7.0 %. Diabetic retinopathy, diabetic angiopathy of the lower extremities, diabetes-hypertensive nephropathy. Arterial hypertension stage 3, risk IV. CHD: Angina of exertion II FC. Chronic cerebral ischemia. Atherosclerosis of the aorta, cerebral arteries. Secondary osteoporosis in patients receiving GCS at the fracture stage. Background: Itsenko-Cushing's Drug Syndrome. Bronchial asthma, mixed genesis, medium-severe persistent course, remission phase. Companion: Exogenous-constitutional obesity grade III, abdominal form. Varicose disease of the lower extremities. Complications: Insufficiency of blood circulation stage I (III FC on the NYHA). Chronic venous insufficiency of the lower extremities.

The patient was hospitalized to correct the ongoing hypoglycemic therapy of DM and change the therapy of systemic corticosteroids into modern topical preparations for the treatment of asthma.

3. Discussion

The Global Initiative for Asthma (GINA) has become widely known to the Russian medical community since 1995. It was in 1995 that the international concept of managing patients with this disease appeared. The GINA recommendations spelled out a stepwise approach to the treatment of asthma depending on the severity of clinical manifestations. Moreover, the scope of application of systemic corticosteroids already in 1995 was limited to the phases of moderate and severe exacerbations (GINA,1995). For 27 years, the patient S. was treated with systemic GCS, while she was never consulted by a pulmonologist and therapy in favor of inhaled GCS was not reviewed. In addition, the patient did not receive drugs to correct the side effects of the ongoing systemic GCS therapy. Long-term therapy with prednisone in this clinical case contributed to the stabilization of asthma, the severity of which did not require such an approach to therapy, and led to the development of Cushing's drug syndrome and multiple organ complications, in most cases that are irreversible and progressive. According to the latest revision of GINA 2018, the treatment of BA with systemic steroids is carried out only in case of exacerbations (moderate and severe) up to 7 days in a daily dose of 40-50 mg with subsequent cancellation. Cancellation of systemic corticosteroids is carried out only against the background of the appointment of inhaled corticosteroids. In addition to the insulin therapy scheme and cardiotropic therapy (losartan 50 mg per day + amlodipine 10 mg per day + torasemide 5 mg per day + spironolactone 50 mg per day; atorvastatin 40 mg per day, cardiomagnyl 150 mg per day, nitrates – on demand – for pain in the heart) reducing prednisone 1/4 tablets per week until completely discontinued while using inhalation topical preparations (GINA, 2018): beclomethasone 250 mcg 2 inhalations 2 times a day (or budesonide 400 mcg 2 times a day) + formoterol 12 mcg in 1 inhalation 1 time per day with the appearance of asthma attack during the day or 1 inhalation at night with night asthma attacks and symptomatic use of salbutamol in case of necessity.

4. Conclusion

In 2018, the Russian healthcare system has a stormy discussion about the universal implementation of clinical guidelines in medical practice. Unfortunately, no final decision has yet been received. Obviously, the management of the patient with bronchial asthma did not comply with the clinical recommendations and led to the development of severe consequences of incorrect therapy - the Cushing syndrome and its complications. It would not be hard from the point of view

of moral ethics to discuss the actions of colleagues, but in this situation it is more about a violation of the most important postulate of the doctor in relation to the patient – “do no harm”. In conclusion, the authors would like to cite the words of the ancient East healer Avicenna, which are very relevant in described clinical situation: “There are no hopeless patients. There are only hopeless doctors.”

References

- [Borisova, 2004](#) – *Borisova, E.O.* (2004). Side effects of systemic glucocorticosteroid therapy. *Atmosphere. Pulmonology and Allergology*, 4: 14-18.
- [Fardet et al., 2011](#) – *Fardet, L., Petersen, I., Nazareth, I.* (2011). Prevalence of long-term oral glucocorticoid prescriptions in the UK over the past 20 years. *Rheumatology (Oxford)*, 50: 1982-90.
- [GINA, 1995](#) – National Heart Lung and Blood Institute N. Global initiative for asthma. Global strategy for asthma management and prevention. NHBLIWHO workshop.1995: NIH Publication no.95 – 3659.
- [GINA, 2018](#) – Global initiative for asthma. Global strategy for asthma management and prevention [Electronic resource].URL: https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2018/04/wms-GINA-2018-report-tracked_v1.3.pdf
- [O'Sobande, Kerckmar, 2008](#) – *O'Sobande P, Kerckmar C.M.* (2008). Inhaled Corticosteroids in Asthma. *Management Respiratory Care*, 53(5): 625-634.
- [Saurabh Srivastava et al., 2015](#) – *Saurabh Srivastava, Sohaib Ahmad, Minakshi Dhar, Ajai Kumar Garg.* (2015). Iatrogenic Cushing's syndrome – An observational study. *Journal, Indian Academy of Clinical Medicine*, 16(1): 43-46.
- [Tiwari et al., 2013](#) – *Tiwari, A., Goel, M., Pal, P., Gohiya, P.* (2013). Topical-steroid-induced iatrogenic Cushing syndrome in the pediatric age group: A rare case report. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 17(1): 257-258.
- [Venkateshwarlu Nandyala et al., 2017](#) – *Venkateshwarlu Nandyala, Krishna Prasad T., Gandiah P.* (2017). Iatrogenic Cushing's syndrome in admitted patients to a rural based medical college hospital. *International Journal of Contemporary Medical Research*, 4(1): 17-21.

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
European Journal of Medicine. Series B
Has been issued since 2014.
E-ISSN: 2413-7464
2018, 5(1): 73-87

DOI: 10.13187/ejm.s.b.2018.1.73
www.ejournal27.com



Letter to the Editor

Some Considerations about Impossibility of Informational Approach to the Problem of Electric Skin Impedance Effects of Essential Oils

Eugene Adamovich ^a

^aMoscow Pedagogical State University, Moscow, Russian Federation

Abstract

The article considers the critical deductive trends in the analysis of informational approaches to the problem of electric skin impedance effects of essential oils in pseudo-scientific investigations in one of Russian universities.

Keywords: electric impedance, skin conductance, essential oils, physiological information.

1. Введение

Данная работа была написана в 2013 году как отзыв на план НИР одного из аспирантов в области физиологии московского педагогического ВУЗа. Не обладая уровнем компетенций и энтузиазма, достаточным для самостоятельной физиологической работы, исполнитель её избрал «легкий путь», связанный с акупунктурой и исследованием т.н. «информационного воздействия» эфирных масел на самочувствие человека при косметических процедурах. Этот факт привел аспиранта к полумистическому-полуобывательскому взгляду на предмет и объект исследования, лишив в данной постановке объекты исследования свойств предметов исследования. Что характерно, в качестве фактора контроля эффектам позиционировалось «информационное воздействие» эфирных масел, что делало результаты заведомо предельно размытыми. После «направления на путь истинный» данного аспиранта автор считал его задачу выполненной, а проблему исчерпанной, однако продолжение антинаучной работы в данном московском педагогическом вузе на кафедре физиологии и анатомии человека ряда специалистов по акупунктуре, ароматерапии, хилингу и т.д., увы, возобновило проблему уже на новом уровне при привлечении к её решению ряда новых аспирантов и студентов. В силу этого было принято решение опубликовать с купюрами личных обращений нашу рецензию в журнальной форме, чтобы новые специалисты не попадались на тот же источник ошибок и фривольных интерпретаций фактов. В связи со спецификой построения, данный материал может быть опубликован только как «письмо в редакцию» (Letter to the Editor).

Операторы, содержащие ненаблюдаемую информацию, должны исчезнуть из теории
Л.Д. Ландау

2. О корректной и некорректной постановке задачи

Начиная любое исследование мы должны дать себе отчет в том, какие переменные и функции мы исследуем: грубо говоря "что в работе ищется как функция чего". Отсутствие такового понимания будет всегда выводить на первые планы релевантности Ваших работ

второстепенные факторы, действие которых либо недостаточно статистически достоверно (по независящим от Вас естественным причинам), либо находится ниже чувствительности организма и метода, либо перекрывается флуктуациями (шумом) системы и остальными факторами, среды, неизбежно параллельно воздействующими на неё. В связи с этим надо сначала оценить наличествующий набор агентов воздействия, иерархию их активностей и степень пересечения результатов их воздействия; дедуктивным путем определить фактор, лимитирующий эффективность системы (по закону минимума Либиха), отметя попытки введения в круг Вашего исследования дополнительных переменных или агентов в случае, если экспериментальный результат может быть объяснен без их использования (принцип достаточного основания, конгениальный известной Вам "бритве Оккама" + теоретический подход Ландау, данный в эпиграфе), после чего спланировать и организовать experimentus crucis (ключевой эксперимент), уже в своей постановке удовлетворяющий всем указанным положениям.

Рассмотрим тему «информационное воздействие эфирных масел на кожный импеданс и самочувствие человека» с означенных выше позиций.

- Дано (феноменологически): эфирные масла влияют на кожный импеданс.
- Гипотеза вашего научного руководителя, предлагаемая к анализу: воздействие эфирных масел связано с информационными эффектами.
- Задача: исследовать характер изменений, анализируя получаемые результаты на предмет "информационности".
- Нотация переменных: определить что в каких единицах следует мерить, чтобы получить на выходе эту самую "информационность"; грубо говоря, осознать, что Вы понимаете под терминами типа "информационное воздействие" и т.д.
- Следствие для вашего литературного обзора: проанализировать эффективность действия эфирных масел на кожу, её импеданс и смежные характеристики, описанную в литературе без учета информационного воздействия; найти работы по информационному воздействию, а если таковых (как в Вашем случае) мало или нет совсем, то определить, в чем непосредственно Вы можете измерять это воздействие (и можете ли вообще – если бы существовал метод, то им давно бы уже пользовались), исходя из литературы по смежным проблематикам; с целью установления научных основ, литературно определить: в чем наблюдаются, а в чем не наблюдаются информационные эффекты, на каких уровнях иерархии воздействий или уровнях организации биосистем они имеют место, а на каких они пренебрежительно малы в силу неселективности взаимодействия агента с биоструктурой.
- Бритва Оккама и бочка Либиха: построить анализ литературы таким образом, чтобы по косвенным данным статей авторов, не касающихся вопросов информационного воздействия, либо подтвердить, либо опровергнуть наличие такового (если исходить из данных авторов, постулирующих его с самого начала, а то и в названиях работ, то это будет подгонкой данных – подобно защите диссертации с оппонентом, заведомо не оппонирующим, а стоящим на одних позициях с диссертантом)*.
- В настоящей работе будет рассмотрено несколько вопросов:
 1. насколько корректны измерения на Вашем приборе чисто кожного сопротивления (импеданса) и что может влиять на показания прибора, делая заведомо ошибочным его автоматический диагноз,
 2. какую ценную информацию вообще можно извлечь из данных измерений,
 3. специфично ли воздействие эфирных масел и подобных им агентов на импеданс,
 4. достаточно ли измерение электрокожного сопротивления или нужно что-то еще,
 5. какова должна быть репрезентативная выборка измерений и как её картировать,
 6. как организовать контроль и верификацию,
 7. на каком уровне можно обнаружить информацию в Ваших системах,
 8. как обработать данные измерений, чтобы получить эту информацию,

* На статьи отечественных авторов полагаться не стоит, так как после 90-х гг. в РФ повальная тенденция к сведению всех типов воздействия к информационным; появилась даже шарлатанская АЭИН (т.н. «Академия Энерго-Информационных Наук», которая занимается постулированием подобных вещей).

9. можно ли связать эту информацию с Вашим "информационным воздействием".

В настоящее время известно несколько десятков методов импедансной диагностики, таких, например, как: импедансная плетизмография, неинвазивная импедансная кардиография, импедансная миография, электроимпедансная томография и т.д. (Martinsen, Grimmes, 2008), что говорит о непосредственном влиянии на электрокожный импеданс множества факторов более глубинного, чем дермального залегания. В пользу этого тезиса говорят также факты влияния жидкости в объеме тела на характеристики импеданса тела у мышцей, в т.ч. – измеряемого кожными электродами* (Chapman et al., 2010), а также связи кожного импеданса с нейронной электрофизиологической активностью под кожей и электрокожного импеданса головы с данными электроэнцефалографической регистрации (Winterhalter et al., 2010) под анестезией в частности†.

То есть воспринимать данные Вашего прибора как регистрацию чего-то относящегося к несуществующей "ауре" человека совсем неправомерно, так как известно влияние субповерхностной нейронной активности на проводимость или импеданс, регистрируемый поверхностно с кожи (Russo et al., 2012), но это называется не "аурой", а поверхностной регистрацией внеклеточных потенциалов или поверхностным импедансом соответственно, причем эти методы известны уже полвека или чуть поболее.

В частности, механорецепторы кожи изменяют импеданс при изменении мышечной массы или биомеханического напряжения, подаваемого на неё (Tatton et al., 1985, 2011), в связи с чем организмы с различной степенью физической тренированности (или один и тот же организм на разных стадиях утомления) имеют разный поверхностный импеданс. Следствием этого является возможность диагностирования физиологического состояния испытуемого импедансометрическим путем, а поскольку эфирные масла, повышающие афферентную иннервацию, неспецифически интенсифицируют также микроциркуляцию, лимфодренаж и капиллярную гемодинамику, неизбежно воздействуя таким путем и на электрокожный импеданс. Неспецифичность подобного воздействия явственно вытекает из корреляционных основ биоимпедансной диагностики и связанных с ними принципов электрофизиологии (Grimmes, Martinsen, 2000), так как любой агент, вызывающий стимуляцию, вовсе не неся информационной нагрузки, в силу физиолого-биофизических механизмов будет изменять электродермальное сопротивление, изменяя общий уровень активности тканей, участвующих в данном процессе.

Можно пояснить это также со следующих позиций: известное влияние импеданса на эпителиальный транспорт (Lewis et al., 1996), лежит в основе электроопосредованного переноса фармакологически-активных препаратов за счет зарядово-специфических, но не имеющих однозначной химической селективности (что должна лежать в основе процесса, если таковой имеет "информационное" для биологического организма значение) эффектов – ионофореза или электрофореза, электроосмоса и локальной электропорации (Banga, 1998). Кожа в состоянии интенсифицированной транспирации (как это следует из эффекта интенсификации микроциркуляции при применении эфирных масел) хорошо проницаема для целого ряда неспецифических (в т.ч. не имеющих отношения к метаболизму, а значит – не имеющих информационной составляющей воздействия) агентов‡, начиная с 1980-х гг.

* Как пример можно привести общеизвестный метод определения массы тела на современных электронных весах с параллельным определением массы жировой ткани на основе измерения импеданса (сопротивления). Для Вашей тематики, наверное, также небезынтересно будет узнать о воздействии эфирных масел на ряд жидкостей, потенциально изменяющих импеданс на соответствующем участке, в частности, на лимфу (Lalko, Api, 2006) в аспекте дермальной сенсibilизации.

† Существуют также данные импедансной спектроскопии (об этом методе речь пойдет ниже) работы мозга, снятые с поверхности головы (Bonmassar et al., 2010), подтверждающие данное положение.

‡ Приоритет в этой отрасли, по-видимому принадлежит СССР: см. открытие "Проницаемость человеческой кожи", д.т.н. / д.м.н. Слынько П.П.; № 354, приоритет от 1966 г., заявка на открытие дат. 1976 г., рег. дата – 1988 г. См. также: Слынько П.П. Потоотделение и проницаемость кожи человека. Киев, 1973 г.

многие синтетические препараты вводят через кожу в состоянии пониженного импеданса (Barry, 1983), тогда как, с электрохимических позиций, пониженное сопротивление эквивалентно повышенной проницаемости для соответствующе заряженных носителей/ионов. Так как, с избранных Вами позиций акупунктуры (я не буду останавливаться на моем личном отношении ко многим спекулятивным позициям данной науки), меридианы являются линиями наименьшего сопротивления (Omura, 2003; Stux, Pomeranz, 2011), а в современной клинической акупунктуре, опирающейся также на физиологию и биофизику субдермальной нейронной активности, выделяют также специализированные аббревиатуры для аппаратно выявляемых низкоимпедансных точек кожи LSRIP – low skin impedance point и LSRP – low skin resistance point (Oleson, 2001), само собой очевидно, что эти зоны и точки, с позиций данной теории, и будут зонами эффективного транспорта. Никакой информационной, с точки зрения биофизики или кибернетики, составляющей здесь нет и быть не может, иначе можно было бы говорить об информационных свойствах проводки под слоем диэлектрической штукатурки.

4. Возможно ли извлечь информацию из подобных данных?

По большому счету, даже если некая информация была бы, то она имела бы смысл только в контексте общего множества других переменных системы. Так, в Вашем случае с электрокожным сопротивлением следует помнить, что электродермальная активность не ограничивается изменением импеданса – в современном наиболее полном, на мой взгляд, руководстве (Boucsein, 2012) учитывается также skin admittance (полная комплексная проводимость, обратная импедансу, но гораздо более наглядная для объяснения явлений переноса фармакологических препаратов, в т.ч. в неконвенциональной, комплементарной медицине), skin conductance (удельная электропроводность или активная проводимость), resistance (собственно сопротивление, так как импеданс тождествен сопротивлению лишь в цепях постоянного тока, в то время как биологические ткани, обладая мембранами как конденсаторами и осцилляциями мембранного потенциала, представляют собой, скорее, цепи переменного тока, содержащие емкость, из чего следует, что их импеданс не равен сопротивлению, а требует учета реактивного сопротивления) и, что частично очевидно из приведенных сведений, иммитанс (иначе говоря, обобщенно комплексное сопротивление + комплексную проводимость).

Более того, регистрация импеданса должна производиться не аддитивно по всему диапазону, а как спектрометрия по отдельным частотам, так как в Вашей области косметологии уже давно используются подходы AMFLI (automatic multi-frequency and low impedance technology), подразумевающие использование и, как следует из Ваших задач, анализ низкоимпедансных явлений на многих частотах (Taub A.F., Sadick N.S., 2008). Более того, в современных методах кожных измерений используются техники многочастотной (многодиапазонной) импедансной спектрометрии (Gabard et al., 2006) – multifrequency impedance spectrometers.

Кроме того, выборка должна быть доказательной – т. е. затрагивать сопротивление (как минимум – сопротивление, в оптимуме – и иные переменные) не только в пальпарной области, но и в других областях, то есть быть весьма многоканальной во избежание обвинений в одностороннем характере измерений (Вы же не постулируете, что импедансная характеристика изменяется только в этой области, тем более, что вариации гемодинамики и пр. характеристик в подушечках пальцев, обусловленные множественными внешними и внутренними причинами, помимо эфирных масел, чрезвычайно высоки и флуктуативны, так что без контроля с других каналов давать такие данные не представляется корректным для научной статьи).

В современной зарубежной акупунктуре это принято как данность, следствием чего становится разработка и использование многоканальных измерительных систем для анализа сопротивления в акупунктурных точках (Colbert et al., 2009), а в биомедицинской инженерии считается нормой использование для этих целей чрезвычайно многоканальных – до 48 каналов на прибор – анализаторов (Litscher, Wang, 2010). В российских условиях совершенно реально использовать недорогие 16-24-канальные АЦП (аналого-цифровые преобразователи) для подобных измерений. Более того, если речь идет о локализации изменений на коже, то вполне очевидно, что наиболее логичным способом доказательства/опровержения топографо-анатомической приуроченности тех или иных

изменений импеданса, индуцированных воздействием эфирных масел, является получение карты поверхностного распределения этих изменений.

Существуют и развиваются методы неинвазивного картирования (т.н. impedance imaging) физиологических изменений в коже при действии экспериментальных факторов (Nicander et al., 2006; Nuccitelli et al., 2008), а в последнее время* получает распространение метод импедансной томографии, в рамках которого можно прокартировать сопротивление кожи вглубь (порядка мм, т.е. до panniculus adiposus), а также методы картирования остальных переменных: проводимости[†] (Gulyaev et al., 2010; Korzhenevsky, Tuykin, 2010), индуктивности как части иммитанса (Korzhenevskii, Cherepenin, 1997)[‡] и т.д. При этом сложность этого метода постоянно понижается: если ранее электроимпедансная томография производилась только на высоких (более 10 кГц) частотах, то теперь возникают техники низкочастотного (от 1 Гц до 4.5 кГц – т.е. регистрацию можно производить с использованием простейшего АЦП в виде звуковой карты ЭВМ) томографического картирования (Noor, 2010); если ранее было возможно использование только многоканальных стационарных конструкций (см. выше), то теперь для DIY условий возникает возможность импедансной томографии с одним каналом измерений[§] (Korzhenevsky, Tuykin, 2006, 2007), например – той же самой встроенной звуковой карты. Таким образом, у Вас не должно возникнуть никаких затруднений при сборе данных.

5. Нужны биохимические и биофизические предпосылки.

Что далее: далее необходимо произвести *качественный* контроль и анализ данных. Хорошим контролем к тому, насколько информационно Ваше воздействие по отношению к биологическому организму или биологической ткани будет являться сопоставление их импедансной реактивности к эфирным маслам и эквивалентной реактивности модельных мембранных / фосфолипидных и т.п. систем, не имеющих никакого отношения к целому организму и, следовательно, не способных индицировать "информационную" компоненту воздействия. Например, таковыми контрольными импедансометрическим средами могут быть фосфатидилхолиновые бислои** (Naumowicz et al., 2011), отчасти моделирующие не только эпителиальные или эпидермальные мембраны, но и подкожные жировые слои, воздействующие на результаты кожных импедансных измерений (Tarulli et al., 2007). Так как даже самые радикальные (напр., Lo, 2004) последователи акупунктуры сейчас признают поляризационный, т.е. зарядовый характер эффектов акупунктуры, связанных с зонами пониженного импеданса^{††}, что явно противоречит информационному подходу^{‡‡}, единственным возможным "осложнением" Вашей экспериментальной работы после этого контроля будет обнаружение, что и модельные, и естественные мембранные структуры не дают оснований заявлять по импедансному отклику об информационном характере Ваших методов воздействия, однако этого бояться не стоит, так как Вы как ученый стремитесь не навязать природе представление об информационном характере воздействия, а распознать

* По истории внедрения данного подхода можно составить представление по сборнику: Electrical Impedance Tomography: Methods, History and Applications (Ed. by D.S. Holder), 456 p., Taylor & Francis, 2004.

† Это производится, в частности, теми же группами, которые ранее занимались обычной импедансной томографией: см., напр. (Korzhenevskii et al., 1997).

‡ Следует отметить, что данные методы коммутативны: на установке индукционной томографии можно с равной точностью картировать импеданс (Korzhenevskii et al., 1999).

§ Это удобно, в частности, для микроскопических измерений импеданса – т.н. импедансной микроскопии (Wang et al., 2011), в которой в силу микроскопической поверхности исследуемых зон (например – кожи), дающей наиболее прецизионные результаты измерений, большого количества каналов не требуется. На этом принципе в последнее время созданы установки для импедансной спектроскопии для анализа одиночных клеток (Malleo, 2010). Я полагаю, что данный подход может послужить и в Вашем направлении работы.

** Любопытно отметить наличие бислойных моделей и в импедансной томографии (Kullkarni et al., 2009).

†† См., напр. чисто акупунктурную работу (Colbert et al., 2008).

‡‡ Хотя авторов, подобных Lo можно обвинить и в незнании физики, поскольку фривольные рассуждения о кластерах воды и квантовой физике в молекулярной биологии безо всяких на то оснований выдают в нем прожектерствующего дилетанта.

то, как природа работает в этом случае, смиренно принимая то, что следует из физических экспериментальных данных.

Так как мембранные измерения импеданса известны с 1940-х гг. (Goldman, 1943), все данные об этом давно уже собраны, а значит попытки внести что-то новое могут быть небезуспешными только в случае непротиворечивости к старым данным, то есть, вводя представление об информационном характере воздействия Ваших агентов, Вы обязаны будете подтвердить его со всех сторон, с которых исследовавшиеся ранее эффекты были получены, не дав при этом представления об "информационности".

Для того, чтобы это сделать нужно, как минимум, определить причины воздействия эфирных масел на организм/ткань и, как указывалось в начале настоящей работы, найти источники информации, если таковая работает в Вашем случае, на каждом конкретном уровне организации, способном участвовать в данном процессе, начиная с молекулярного уровня. Для этого не обязательно шерстить всю литературу до 1930-х гг. или ранее (Reed, 1932), хотя в старой литературе также могут быть ценные указания, но достаточно к известным данным последнего десятилетия(-ий) приложить логику Вашего изыскания.

Что мы знаем из последней литературы о воздействии эфирных масел, способном, с позиций Вашего подхода, рассматриваться как информационное (т.е. специфическое или селективное)? Для того, чтобы некий агент можно было рассматривать на молекулярном уровне как информационный, он должен подвергаться молекулярному распознаванию на данном уровне, то есть, с точки зрения обработки "информационных" сигналов (эфирных масел) клеткой (Marks et al., 2008), должен селективно – по Фишеровскому принципу "ключ-замок", что в настоящее время в модифицированной форме ("рецептор-субстрат" или же "гость-хозяин") лежит в основе современной супрамолекулярной химии (Lehn, 1995) – распознаваться клеткой либо как промотор или биокатализатор оптимизировать стерические и статистические условия для других агентов, чтобы они могли стерически и комплементарно распознаваться ею. Так как на мембране, опосредующей взаимодействие Вашего агента с клеточным метаболомом, находятся рецепторы и ферменты*, способные к супрамолекулярной фиксации/молекулярному распознаванию, понятно, что необходим ответ из текущей литературы на следующий вопрос: имеет ли место воздействие эфирных масел на иммунные рецепторы, гормональные рецепторы, ферменты, отвечающие за или косвенно регулирующие проницаемость кожи; если да, то насколько специфичен эффект.

Известно, что как у млекопитающих, так и у других позвоночных, эфирные масла без прямого супрамолекулярно-химического взаимодействия воздействуют на проницаемость кожи. Это отмечено на коже змеи (Brito et al., 2009), рыбы (Tongnuanchan et al., 2012), мыши – в т.ч. для гормональных препаратов (Monti et al., 2002), человека – при разных pH (Rizi et al., 2011). В пользу неспецифического характера взаимодействия в данных случаях говорит также тот факт, что, с позиций биохимической физики, не завися от специфических взаимодействий†, модифицируя физико-химически поверхность кожи (Oikawa et al., 2003), эфирные масла усиливают химически-индуцированные вызванные потенциалы на коже мышей (Gupta, Mehrota, 1990). Тоже самое наблюдается при неспецифическом токсическом поражении кожи эфирными маслами, регистрируемом с использованием методов гистохимии и гистопатологии (Hayes, Markovic, 2003), в случае которого наблюдаются локальные мембранопатии, согласующиеся по локализации с местом поражения в пределах, говорящих о некорректности привязки эффекта к любой конкретной структуре (а раз уж нет полной специфичности на тканевом уровне, то, что мы можем противопоставить этому на молекулярно-рецепторном?).

Этот эффект чрезвычайно похож на результат антистафилококкового применения эфирных масел, заключающийся в лактонно-сесквитерпеновом повреждении клеточной

* См., напр., первые относительно полные, с современных позиций, изданий по данной тематике: *Enzymes, Receptors, and Carriers of Biological Membranes: A Laboratory Manual* (Ed. by A. Azzi, U. Brodbeck, P. Zahler), 184 p., Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 1986 и *Membrane Receptors and Enzymes as Targets of Insecticidal Action* (Ed. by Clark J.M., Matsumura F.), 266 p., Plenum Publishers, New York, 1986.

† С позиций импедансометрии, данное электрофизиологическое воздействие иррадирует на миллиметры и далее, тогда как при клеточном эффекте локальность должна быть внутритканной, не выходящей за границы данной ткани как метаболической диффузионной зоны.

мембраны (Stojanovic-Radic et al., 2012). Очевидно, что наличие одновременно высокой чувствительности и токсичности по отношению к коже у эфирных масел (Zhang et al., 2012) говорит о том, что в указанной модальности они работают как ксенобиотики, так как для нормальных фитометаболитов существуют петли обратной связи регуляции количества воспринимаемого рецепторами субстрата. В случае человеческой кожи здесь явно имеется воздействие "количеством", а не "качеством": при способности уничтожать такое аллергическое заболевание как экзема (Kerscher, Korting, 1992), эфирные масла сами являются источником аллергии и астматических синдромов при передозировке (Cantan, 2008), то есть специфичности к клеткам возбудителя или определенным клеткам организма нет*. В таком случае логично поставить вопрос об иммуноспецифичности такого воздействия, что также будет давать нам ответ о наличии информации (Forrest, Hofmeyer, 2000; Hart, 2002).

Рассмотрим результаты аналитического обзора, позволяющие ответить на указанный вопрос. Выявляется широкая по количеству затрагиваемых возбудителей, а следовательно неспецифическая и молекулярно-опосредованная эффективность эфирных масел: эфирные масла подавляют рост устойчивых к антибиотикам возбудителей инфекций кожи (Yang et al., 2009), обладают противогрибковым потенциалом[†] (Vajpai et al., 2009), при кожных аппликациях в виде желатиновых пленок с эфирными маслами обеспечивают высокоэффективное антимикробное действие (Ahmad et al., 2012; Tongnuanchan et al., 2012), ингибируют устойчивые формы кожных патогенов и оптимизируют активность макрофагов[‡] (Yoon et al., 2009), эфирные масла и содержащие их экстракты растений используются в качестве антимикробных средств в косметических эмульсиях (Herman, 2013). Отсутствие видоспецифичности (а значит – рецепторной специфичности – вплоть до полного отсутствия отличий эффективности воздействия на *Protozoa* и *Metazoa*, имеющих разные комплексы на поверхности мембран/клеточных стенок) говорит о том, что воздействие эфирными маслами не несет информации на молекулярном и клеточном уровне. Из этого следует, что перечисленную номенклатуру аргументов возможно считать необходимой и достаточной для исключения переменной информации на молекулярном уровне.

6. От феноменологии к физике. Специфичность как объективность.

Так как на тканевом уровне "информация" присутствует в виде гистоспецифичности как способа коммуникации клеток, в т.ч. клеток разных тканей, то можно редуцировать её до молекулярного уровня, но для этого необходимо еще одно звено: если, как указывалось выше, эфирные масла влияют на проницаемость кожи организмов различных таксонов, то при неспецифичности воздействия импедансометрические характеристики у организмов различных таксонов должны быть близкими, отвечающими единым физическим законам и принципам. За многие годы *прогрессивное человечество* накопило огромную выборку данных по этому направлению – напр., изучались изменения проводимости/пропускания свиной кожи электрогенного характера (Gallo et al., 1997), переменноточковый (AC) импеданс кожи лягушки с неспецифическими изменениями активного транспорта (Brown, Kastella, 1965), диэлектрические свойства кожи человека (Poon, Choy, 1981), включая диэлектрические характеристики точек акупунктуры на сверхвысоких – до 75 ГГц частотах (Egot-Lemaire, Ziskin, 2001) и т.д., и т.п., и пр. (полагаю, для Вас не составит труда при необходимости найти десятки подобных публикаций, так как я дал первые попавшиеся из имевшихся у меня в архиве; впрочем для аргументации уже и их достаточно).

При наличии отличий в деталях общая картина ясна: стимуляция кожи и косвенно возбуждающих её тканей у различных животных ведет к однотипным эффектам в аспекте изменений импеданса, базирующимся на единых законах электрофизиологии.

Соответственно, эти изменения имеют неспецифический характер, а "информацию" можно извлечь только из деталей, которых мы коснемся ниже, как только нивелируем еще

* Более того, с позиций импедансометрии, любые инфекции, включая вирусные (Drew et al., 2010) как частный неспецифический эффект дают изменение импеданса определенных клеточных слоев, вследствие чего очевидно, что любой контрагент к ним будет также вызывать изменение импеданса.

[†] В том числе – по отношению к дерматофитам (Pandey et al., 2010).

[‡] Это явно говорит об опосредованности, а следовательно – об отсутствии прямой информационности агента, особенно – учитывая данные по подавлению аккумуляции нейтрофилов у мышей при кожном применении эфирного масла герани (Maruyama et al., 2005).

один фактор, дающий неоднородность этих деталей (т.е. в конечном итоге – информацию), а именно – субъективность восприятия организмом комплексных воздействий.

Специфика субъективного восприятия имеет непосредственное отношение к Вашей теме: воздействие эфирных масел на организм человека/животного часто, даже если оно изменяет импеданс и т.п. физику/электрофизиологию, обусловлено не непосредственным эффектом на орган или ткань, а психофизиологическим действием. В этом случае в явном виде имеет место субъективный фактор, который может изменять параметры измерений импеданса и пр. настолько, что Вы будете видеть у одних испытуемых/мониторируемых волонтеров одни изменения, а у других – прямо противоположные, а значит статистически Ваши работы будут недостоверны. Известно, в частности, что для релаксационных целей эфирные масла в акупунктуре используют совместно со средствами, достойными кабинета психоаналитика или последователя интроспективной психологии – звуками, косметикой/парфюмерией, цветами и т.д. (Wakefield, 2005). С равным научным эффектом можно было бы изучать действие рамштайн-терапии на техно-рокера или пинк-фloyd-терапии на любителя олдскула. Чистое использование эфирных масел в акупунктуре (Holmes, 2009) и китайской медицине (Zhou et al., 2011) настолько ограничено, что сводится к методам обычной (не неконвенциональной) медицины, как известно, признающей эффект эфирных масел в фармацевтических/физиотерапевтических целях. Основной импедансный эффект в указанном случае может быть продуктом не эфирных масел, а остальных действующих факторов: как пример можно привести недавнюю парамедицинскую книжонку (Carey, de Muynck, 2007), в которой т.н. "Ohm Therapeutics" – т.е. якобы импедансное лечение ведется с использованием акустического воздействия (т.н. "Sound Healing"). Эксперименты в области биофизики и физиологии требуют более редукционистского подхода. Если одна или несколько переменных никак не сцеплены и не коррелируют между собой, а зависят только от личной воли экспериментатора или подопытного, то эксперимент невоспроизводим и его можно закрывать. Если Вы позиционируете наличие информационного эффекта клеточного уровня, а работаете на уровне, не только превышающем организменный, но и находящемся не на первом уровне лестницы или пирамиды Маслоу, то, очевидно, результата, имеющего в науке какую-то ценность, Вы не получите. Потому для того, чтобы говорить о биологическом эффекте, а не о психофизиологическом, требуется произвести контрольные эксперименты на изолированных органах или тканях, культурах клеток, животном в состоянии, не позволяющем воспринимать сенсорные сигналы масел субъективно через условный рефлекс и т.д.

После этого дельта между данным контролем и Вашими результатами, снятыми с целого комплексно реагирующего организма, и будет нести необходимую Вам информацию. Это предусматривает виртуозное владение статическими, математическими программными пакетами, специализированными пакетами обработки сигнала и изображений. Вы же даете мне только возможность взглянуть на качественный (то есть – заведомо не являющийся метрологическим) показатель полу-шарлатанского прибора, работающего на неизвестных принципах и варьирующего показания на одном человеке, в зависимости от субъективных и независимых от физиологии человека факторов. Что это значит «хорошее самочувствие» на индикаторе; насколько критична ситуация, при которой загораются красный индикатор? В описании прибора Вы этого не найдете, так как целью авторов прибора не являлась работа с верифицируемым и валидированным результатом – чем меньше можно задать вопросов и, соответственно, получить ответов, тем меньше вероятность концептуального и физического провала авторов данного прибора.

7. Сигнал, шум и репрезентативность данных.

Соответственно встанет следующий вопрос: как мы можем опознать информацию, отделить таковую от шума и артефактов, а впоследствии – и обработать её качественно, что позволит ей быть доказательной для коллег и читателей Ваших статей и репрезентативной для публичной демонстрации, в т.ч. на защите Вашей диссертации. Я не заявляю, что Ваши объекты вообще не несут информацию (хотя и в корне отрицаю её наличие в эзотерическом ключе, который позиционирует Ваш научный руководитель), но я считаю, что информация – слово настолько же объективное, как и «сила тока», «импеданс» или «частота». Поэтому в отсутствие метрологических возможностей её детектирования – говорить о ней бесполезно.

Для выявления предполагаемых Вами "информационных" свойств необходимо, как минимум, перейти от исследования общей степени возбуждения, аддитивно получаемой с помощью Вашего прибора (отчего последний и "делает вид", что он сам знает, насколько то или иное значение соответствует тому или иному состоянию, что невозможно, если у Вас есть множество переменных и большая выборка данных, автоматизированный анализ которых ЭВМ по алгоритмическим причинам не выполнит без оператора-специалиста), к компьютерному анализу этих множеств переменных и массивов данных, выполняемому Вашими руками с учетом всех особенностей эксперимента/мониторинга. Ниже приведу некоторое количество математики, которую Вы можете опустить и принять на веру, если будет тяжело, так как предлагаемое в дальнейшем программное обеспечение считает само, а от Вас потребуются только понимание при интерпретации, но сначала мы определимся с понятием информации, используемым при этом. Как мы выяснили, на целом ряде уровней организации исследуемой Вами системы информации в прямом смысле слова не найдено.

Эвристические уловки типа "принять за информацию байты сигнала кожного сопротивления, регистрируемого с помощью АЦП компьютером", "считать субъективный отклик человека за меру информационного воздействия" отмечаем сразу – организм ничего не измеряет в байтах, а субъективные реактивности не являются статистически достоверными в рамках двоичной логики. С другой стороны, любые условные единицы измерения являются только лишь оценками по умолчанию, а не абсолютными значениями (пример: Ваша программа для приборчика, выдающая иллюстрации из журнала "Веселые картинки", не выдает Вам исходных данных в численном виде, т.е. её картинка – не диагноз организма, а прикидочная оценка, которую машина интерпретирует как программист указал ей в коде; еще неизвестно, какие хохмы он там наворочал, сопоставляя одни физические параметры "духу", другие – "телу" и т.д.). Единственное возможное решение: исходить при выборе метрической системы и единиц измерения из объективных параметров организма как биофизической, а следовательно – физической системы.

Очевидно, что информацию здесь можно получить только при обработке данных электрофизических импедансометрических измерений, но как её оценить? Информация – вещь относительная: единица в бинарной машинной логике действует лишь потому, что есть некоторый уровень, принятый за ноль, относительно которого эта единица существует как единица. Соответственно, измерения ее в биологических организмах возможны только в виде "информация сигнала А относительно сигнала В", где В - информация интактного/контрольного состояния, а А – информация результата воздействия (или состояния системы после некоего возмущения). Из этого и будем исходить.

Пусть даны два множества измерений до воздействия – А и после него – В. Взаимная информация между элементом a_i множества А и элементом b_j множества В определяется как количество информации, которое имеют измерения a_i и b_j по отношению к друг другу:

$$I_{a,b} = \ln \left[\frac{P_{AB}(a_i, b_j)}{P_A(a_i)P_B(b_j)} \right]$$

Если измерения независимы, то взаимная информация равна нулю. Усредняя по всем измерениям, получаем:

$$I_{AB} = \sum_{a,b} P_{AB}(a_i, b_j) \ln \left[\frac{P_{AB}(a_i, b_j)}{P_A(a_i)P_B(b_j)} \right]$$

Заменяя a_i и b_j на s_k и $s_{k+\tau}$ соответственно, получаем среднюю взаимную информацию как функцию временной задержки τ . Задержка τ выбирается равной времени первого минимума во взаимной информации*.

* Здесь и далее математизация дается по широко известной работе: Сычев В.В. Вычисление стохастических характеристик физиологических данных. Магистерская диссертация, ИПМБ РАН, Пущино. 1999. Полагаю, что качественно это достаточно, ибо, иначе, при опоре на фундаментальные забугорные источники Вам не уйти от вопросов комиссии "А Вы читаете зарубежную математическую литературу на языке оригинала?".

Необходимо стремиться выбрать τ так, чтобы корреляция между s_k и $s_{k+\tau}$ была по возможности минимальной. Традиционный способ выбора временной задержки состоит в вычислении автокорреляционной функции временного ряда:

$$B(\tau) = \frac{1}{m} \sum_{k=0}^{m-1} (s_k - \bar{s})(s_{k+\tau} - \bar{s}), \quad m = M - \tau$$

Задержка τ выбирается равной времени первого пересечения нуля автокорреляционной функции. Второй способ требует вычисления спектра мощности временного ряда, т.е. быстрого преобразования Фурье автокорреляционной функции. Если в спектре мощности присутствуют кратные пики, то задержка τ выбирается равной четверти периода самой высокой из доминирующих частот. Информационная размерность определяется следующим образом:

$$D_I = \lim_{\varepsilon \rightarrow \infty} \left[\ln I(\varepsilon) / \ln(1/\varepsilon) \right], \quad I(\varepsilon) = - \sum_{i=1}^{M(\varepsilon)} p_i \ln p_i$$

Здесь $I(\varepsilon)$ – количество информации, необходимое для определения состояния системы в пределах точности ε , $M(\varepsilon)$ – число компонентов фазового портрета динамической системы со стороны ε , p_i – вероятность посещения фазовой траекторией i -го компонента. Так как для малых ε $I(\varepsilon) \approx D \ln(1/\varepsilon)$, то D_I характеризует скорость возрастания информации с уменьшением ε . Если система пространственно однородна, то $D_I = D_F$, в противном случае $D_I < D_F$. При этом существует непосредственная связь между информационной размерностью и фрактальной размерностью Хаусдорфа D_F :

$$D_F = \lim_{\varepsilon \rightarrow \infty} \left[\ln M(\varepsilon) / \ln(1/\varepsilon) \right]$$

где $M(\varepsilon)$ – минимальное число вышеуказанных компонент с ребром ε , необходимых для покрытия. Применив это определение для вычисления размерности точки, линии и поверхности, легко убедиться в привычных значениях 0, 1 и 2 соответственно. Для нетривиальных множеств размерность D_F может оказаться дробной.

Размерность Хаусдорфа может быть исследована через показатель Херста или, что распространено, экспоненту Херста. Размерность вычисляется тогда как $D=2-H$, где H – показатель Херста. Машина вычислит Вам экспоненту Херста целиком, поэтому здесь не будем останавливаться на математических тонкостях, а остановимся на интерпретации H : при $H < 0,5$ ($D > 1,5$) значения ряда резко изменяются, процесс обладает долговременной знакопеременной тенденцией и называется антиперсистентным, когда H приближается к 0, график ряда стремится превратиться из линии в плоскую фигуру, что соответствовало бы $D=2$, при $H=0,5$ ($D=1,5$) ряд обладает свойствами так называемого белого шума, т.е. значения ряда абсолютно независимы и между ними нет каких-либо автокорреляций, что соответствующим образом сказывается на наличии информации.

Таким образом, через показатель Херста, коррелирующий с размерностью Хаусдорфа, однозначно сопряженной с информационной размерностью, мы можем исследовать саму информационную размерность и, как следствие, количественно оценить некоторые информационные особенности Вашей системы.

Далее Вы должны перейти к исследованию информации через энтропию. Энтропия в статистической физике тесно связана с информационной энтропией, которая служит мерой неопределенности сообщений данного источника (сообщения описываются множеством величин x_1, x_2, \dots, x_n , которые могут быть характерными или патогномичными сигналами, и соответствующих вероятностей p_1, p_2, \dots, p_n появления величин x_1, x_2, \dots, x_n в сообщении). Для определенного статистического распределения вероятностей p_k информационной энтропии вычисляют*:

* По данным: Соловьев Ю.Л. Энтропийные методы оценки устойчивости. / Вестник кибернетики. Вып. 1. Тюмень: Издательство ИПОС СО РАН, 2002.

$$H_u = - \sum_{k=1}^k p_k \ln p_k$$

при условии

$$\sum_{k=1}^n p_k = 1$$

Значение H_u равно нулю, если какое-либо из p_k равно 1, а остальные – нулю, т.е. неопределенность в информации отсутствует. Энтропия принимает наибольшее значение, когда p_k равны между собой и неопределенность в информации максимальна. Информационная энтропия, как и термодинамическая, обладает свойством аддитивности (то есть энтропия нескольких сообщений равна сумме энтропий отдельных сообщений), что весьма немаловажно для Вашего случая, где будет иметь место наложение энтропии сигналов с различных коммутирующих через низкоимпедансные зоны источников.

Соответственно, необходимо строить графики корреляционной энтропии (и корреляционной размерности) с целью демонстрации информационных характеристик, так как корреляционная энтропия очевидно связана с информацией: по связи энтропии и информации в различных приложениях существует множество зарубежной литературы (Jumarie, 2000; Yu, 2000; Sethna, 2006; Volkenstein, 2009; * Principe, 2010; Gray, 2011 and etc.), т.е. при аргументации Вашего методического выбора оценки информации у Вас не возникнет проблем с аргументацией перед комиссией.

References

- Ahmad et al., 2012 – Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T., Agustini, T.W. (2012). Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. *Food Hydrocolloids*, Vol. 28, No. 1, pp. 189–199 (2012)
- Bajpai et al., 2009 – Bajpai V.K., Yoon J.I., Kang S.C. Antifungal potential of essential oil and various organic extracts of *Nandina domestica* Thunb. against skin infectious fungal pathogens, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 83, No. 6, pp. 1127-1133 (2009).
- Banga, 1998 – Banga, A.K. (1998). *Electrically Assisted Transdermal and Topical Drug Delivery*, 172 p., CRC Press.
- Barry, 1983 – Barry, B.W. (1983). *Dermatological Formulations*, 494 p., CRC Press, New York.
- Bonmassar et al., 2010 – Bonmassar, G., Iwaki, S., Goldmakher, G., Angelone, L.M., Belliveau, J.W., Lev, M.H. (2010). On the Measurement of Electrical Impedance Spectroscopy (EIS) of the Human Head. *Int. Journ. Bioelectromagn.*, Vol. 12, No. 1, pp. 32–46.
- Boucein, 2012 – Boucein, W. (2012). *Electrodermal Activity*. 636 p., Springer, New York-Dordrecht-Heidelberg-London.
- Brito et al., 2009 – Brito, M.B., Barin, G.B., Araújo, A.A.S., de Sousa, D.P., Cavalcanti, S.C.H., Lira, A.A.M., Nunes, R.S. (2009). The action modes of *Lippia sidoides* (Cham) essential oil as penetration enhancers on snake skin. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, Vol. 97, No. 1, pp. 323-327.
- Brown, Kastella, 1965 – Brown, A.C., Kastella, K.G. (1965). The AC Impedance of Frog Skin and Its Relation to Active Transport. *Biophys. Journ.*, Vol. 5, No. 4, pp. 591–606.
- Cantan, 2008 – Cantan, A. (2008). Other Allergic Skin Disorders. pp. 539-594. Cantan A. *Pediatric Allergy, Asthma and Immunology*, 1651 p., Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- Carey, de Muynck, 2007 – Carey, D., de Muynck, M. (2007). *Acutonics: There's No Place Like Ohm, Sound Healing, Oriental Medicine, and the Cosmic Mysteries*, 270 p., Devachan Press, Vadito, New Mexico.
- Chapman et al., 2010 – Chapman, M.E., Hu, L., Plato, C.F., Kohan, D.E. (2010). Bioimpedance spectroscopy for the estimation of body fluid volumes in mice. *Am. Journ. Physiol. Renal. Physiol.*, Vol. 299, No. 1, pp. F280–F283.

* Последняя является переводом с русского оригинала. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.twirpx.com/file/870387/>

Colbert et al., 2009 – Colbert, A.P., Larsen, A., Chamberlin, S., Decker, S., Decker, C., Schiffke, H.C., Gregory, W.L., Thong, T. (2009). A Multichannel System for Continuous Measurements of Skin Resistance and Capacitance at Acupuncture Points. *Journ. Acupunct. Meridian Stud.*, Vol. 2, No. 4, pp. 259–268.

Colbert et al., 2008 – Colbert, A.P., Yun, J., Larsen, A., Edinger, T., Gregory, W.L., Thong, T. (2008). Skin Impedance Measurements for Acupuncture Research: Development of a Continuous Recording System. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, Vol. 5, No. 4, pp. 443–450.

Drew et al., 2010 – Drew, C.P., Gardner, I.A., Mayo, C.E., Matsuo, E., Roy, P., MacLachlan, N.J. (2010). Bluetongue virus infection alters the impedance of monolayers of bovine endothelial cells as a result of cell death. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, Vol. 136, No. 1-2, pp. 108–115.

Egot-Lemaire, Ziskin, 2011 – Egot-Lemaire, S. J-P., Ziskin, M.C. (2011). Dielectric properties of human skin at an acupuncture point in the 50 – 75 GHz frequency range. *A pilot study. Bioelectromagnetics*, Vol. 32, No. 5, pp. 360–366.

Forrest, Hofmeyer, 2000 – Forrest, S., Hofmeyer, S.A. (2000). Immunology as Information Processing. pp. 361-387. Design Principles for Immune System & Other Distributed Autonomous Systems (Ed. by Segel L.A., Cohen I.R.), Oxford Univ. Press, Oxford, New York.

Gabard et al., 2006 – Gabard, B., Clarys, P., Barel, A.O. (2006). Comparison of Commercial Electrical Measurement Instruments for Accessing the Hydration State of the Stratum Corneum. pp. 351-360, In: Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin (Ed. by J. Serup, G.B.E. Jemec, G.L. Grove), 1056 p., CRC Press, Boca Raton.

Gallo et al., 1997 – Gallo, S.A., Oseroff, A.R., Johnson, P.G., Hui, S.W. (1997). Characterization of electric-pulse-induced permeabilization of porcine skin using surface electrodes. *Biophys J.*, Vol. 72, No. 6, pp. 2805–2811.

Goldman, 1943 – Goldman, D.E. (1943). Potential, impedance, and rectification in membranes. *Journ. Gen Physiol.*, Vol. 27, No. 1, pp. 37-60.

Gray, 2011 – Gray, R.M. (2011). Entropy and Information Theory, 438 p., Springer, New York, Dordrecht, Heidelberg, London.

Grimmes, Martinsen, 2008 – Grimmes, S., Martinsen, O.G. (2008). Bioimpedance and Bioelectricity Basics, 320 p., Academic Press, London - San Diego, 2000. Martinsen O.G., Grimmes S. Bioimpedance and Bioelectricity Basics, Second Edition. 488 p., Academic Press, Oxford – London – San Diego – Burlington.

Gulyaev, 2010 – Gulyaev, Y.V., Korjenevsky, A.V., Tuykin, T.S., Cherepenin, V.A. (2010). Visualizing electrically conducting media by electric field tomography. *Journal of Communication Technology and Electronics*, Vol. 55, No. 9, pp. 1062-1069.

Gupta, Mehrota, 1990 – Gupta, K.P., Mehrota, N.K. (1990). Assessment of ornithine decarboxylase (ODC) induction potential of cutting oils over mouse skin. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol. 44, No. 5, pp. 715-720.

Hart, 2002 – Hart, E. (2002). Immunology as a Metaphor for Computational Information Processing: Fact or Fiction? Ph. D. Thes., Artificial Intelligence Applications Institute, Division of Informatics, University of Edinburgh, Edinburgh, 213 p.

Hayes et al., 2003 – Hayes, A.J., Markovic, B. (2003). Toxicity of Australian essential oil *Backhousia citriodora* (lemon myrtle). Part 2. Absorption and histopathology following application to human skin. *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 41, No. 10, pp. 1409–1416.

Herman et al., 2013 – Herman, A., Herman, A.P., Domagalska, B.W., Mlynarczyk, A. (2013). Essential Oils and Herbal Extracts as Antimicrobial Agents in Cosmetic Emulsion. *Indian Journal of Microbiology*, Vol. 53, No. 2, pp. 232-237.

Holmes, 2009 – Holmes, P. (2009). Essential Oils In Chinese Medicine. *Acupuncture Today*, Vol. 10, No. 10.

Jumarie, 2000 – Jumarie, G. (2000). Maximum Entropy, Information Without Probability and Complex Fractals: Classical and Quantum Approach. 292 p. Kluwer Academic Pub., Dordrecht, Boston, London.

Kerscher, Korting, 1992 – Kerscher, M.J., Korting, H.C. (1992). Treatment of atopic eczema with evening primrose oil: rationale and clinical results. *The clinical investigator*, Vol. 70, No. 2, pp. 167-171.

[Korjenevsky, Tuykin, 2006](#) – Korjenevsky, A., Tuykin, T. (2006). Experimental Setup for Single-Channel Electric Field Tomography Measurements, Proc. 7th Conf. Biomedical Applications of Electrical Impedance Tomography (Seoul, Korea), p. 177.

[Korjenevsky et al., 1999](#) – Korjenevsky, A.V., Cherepenin, V.A. Sapetsky, S.A. Visualization of electrical impedance by magnetic induction tomography, *Med. Biol. Eng. Comput.*, Vol. 37, Suppl. 2, pp. 154-155.

[Korjenevsky, Tuykin, 2007](#) – Korjenevsky, A.V., Tuykin, T.S. (2007). Electric field tomography: setup for single-channel measurements. *Physiol. Meas.*, Vol. 28, pp. S279-S289.

[Korjenevsky, Tuykin, 2010](#) – Korjenevsky, A.V., Tuykin, T.S. (2010). Experimental demonstration of electric field tomography, *Physiol. Meas.*, Vol. 31, pp. S127-S134.

[Korzhenevskii, Cherepenin, 1997](#) – Korzhenevskii, A.V., Cherepenin, V.A. (1997). Magnetic induction tomography. *Journal of Communication Technology and Electronics*, Vol. 42, No 4, pp. 469-474.

[Korzhenevskii et al., 1997](#) – Korzhenevskii, A.V., Kornienko, V.N., Kul'tiasov, M.Y., Kul'tiasov, Y.S., Cherepenin, V.A. (1997). Electrical impedance computerized tomograph for medical applications. *Instruments and Experimental Techniques*, Vol. 40, No 3, pp. 415-421.

[Kulkarni et al., 2009](#) – Kulkarni, R., Kao, T.J., Boverman, G., Isaacson, D., Saulnier, G.J., Newell, J.C. (2009). A two-layered forward model of tissue for electrical impedance tomography. *Physiol. Measur.*, Vol. 30, No. 6, pp. S19-S34.

[Lalko, Api, 2006](#) – Lalko, J., Api, A.M. (2006). Investigation of the dermal sensitization potential of various essential oils in the local lymph node assay. *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 44, No. 5, pp. 739-746.

[Lehn, 1995](#) – Lehn, J.-M. (1995). *Supramolecular Chemistry*, 271 p., Wiley-VCH, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo.

[Lewis et al., 1996](#) – Lewis, S., Clausen, C., Wills, N.K. (1996). Impedance analysis of epithelia. pp. 118-145. *Epithelial Transport: A guide to methods and experimental analysis* (Ed. by Wills N.K., Reuss L., Lewis S.A.), 372 p., Chapman & Hall, London-Weinheim-New York-Tokyo-Melbourne-Madras.

[Litscher, Wang, 2010](#) – Litscher, G., Wang, L. (2010). Biomedical engineering meets acupuncture - development of a miniaturized 48-channel skin impedance measurement system for needle and laser acupuncture. *Biomed. Eng. Online*, Vol. 9, 78.

[Lo, 2004](#) – Lo, S.Y. (2004). *The Biophysics Basis for Acupuncture and Health*, 162 p., Dragon Eye Press.

[Malleo, 2010](#) – Malleo, D. (2010). Impedance Spectroscopy for Cellular Analysis: Novel electrode materials and device designs for single cell analysis, 220 p., Lambert Academic Publishing, Saarbrücken.

[Marks et al., 2008](#) – Marks, F., Klingmüller, U., Müller-Decker, K. (2008). *Cellular Signal Processing: An Introduction to the Molecular Mechanisms of Signal Transduction*, 656 p., Garland Science, New York, Abingdon.

[Maruyama et al., 2005](#) – Maruyama, N., Sekimoto, Y., Ishibashi, H., Inouye, S., Oshima, H., Yamaguchi, H., Abe, S. (2005). Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *Journal of Inflammation*, Vol. 2, 1.

[Monti et al., 2002](#) – Monti, D., Chetoni, P., Burgalassi, S., Najarro, M., Fabrizio Saettone, M., Boldrini, E. (2002). Effect of different terpene-containing essential oils on permeation of estradiol through hairless mouse skin. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 237, No. 1-2, pp. 209-214.

[Naumowicz et al., 2011](#) – Naumowicz, M., Petelska, A.D., Figaszewski, Z.A. (2011). Impedance Analysis of Complex Formation Equilibria in Phosphatidylcholine Bilayers Containing Decanoic Acid or Decylamine. *Cell Biochem. Biophys.*, Vol. 61, No. 1, pp. 145-155.

[Nicander et al., 2006](#) – Nicander, I., Aberg, P., Ollmar, S. (2006). Bioimpedance as a Non-Invasive Method for Measuring Changes in Skin. pp. 345-350. *Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin* (Ed. by J. Serup, G.B.E. Jemec, G.L. Grove), 1056 p., CRC Press, Boca Raton.

[Noor, 2010](#) – Noor, J. (2010). *Electrical Impedance Tomography: A Low Frequency Approach*, 188 p., Lambert Academic Publishing, Saarbrücken.

[Nuccitelli et al., 2008](#) – Nuccitelli, R., Nuccitelli, P., Ramlatchan, S., Sanger, R., Smith, P.J.S. (2008). Imaging the electric field associated with mouse and human skin wounds. *Wound Repair Regen.*, Vol. 16, No. 3, pp. 432-442.

- Oikawa et al., 2003** – Oikawa, D., Nakanishi, T., Nakamura, Y., Takahashi, Y., Yamamoto, T., Shiba, N., Tobisa, M., Takagi, T., Iwamoto, H., Tachibana, T., Furuse, M. (2003). Dietary CLA and DHA modify skin properties in mice. *Lipids*, Vol. 38, No. 6, pp. 609-614.
- Oleson, 2001** – Oleson, T. (2001). Neurophysiological basis of auricular acupuncture. pp. 97-112. *Clinical Acupuncture: Scientific Basis* (Ed. by G. Stux, R. Hammerschlag), 238 p., Springer, Berlin-Heidelberg-New York-Barcelona-Hong Kong-London-Milan-Paris-Singapore-Tokyo.
- Omura, 2003** – Omura, Y. (2003). *Acupuncture Medicine: Its Historical and Clinical Background*, 288 p., Dover Publications, New York.
- Pandey et al., 2010** – Pandey, K.P., Mishra, R.K., Kamran, A., Mishra, P., Bajaj, A.K., Dikshit, A. (2010). Studies on antidermatophytic activity of waste leaves of *Curcuma longa* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, Vol. 16, No. 2, pp. 177-185.
- Poon, Choy, 1981** – Poon, C.S., Choy, T.T. (1981). Frequency dispersions of human skin dielectrics. *Biophys. Journ.*, Vol. 34, No. 1, pp. 135-147.
- Principe, 2010** – Principe, J.C. (2010). *Information Theoretic Learning: Renyi's Entropy and Kernel Perspectives*. 462 p., Springer, New York – Dordrecht – Heidelberg – London.
- Reed, 1932** – Reed, R.M. (1932). Determination of moisture in essential oils. *Oil & Soap*, Vol. 9, No. 3, pp. 66-68.
- Rizi et al., 2011** – Rizi, K., Green, R.J., Donaldson, M.X., Williams, A.C. (2011). Using pH Abnormalities in Diseased Skin to Trigger and Target Topical Therapy. *Pharmaceutical Research*, Vol. 28, No. 10, pp. 2589-2598.
- Russo et al., 2012** – Russo, M., Kelly, J.J., Taneja, R. (2012). *Essentials Of Nerve Conduction Studies*. 182 p., MJ Arenas LLC, Charlotte (North Carolina).
- Sethna, 2006** – Sethna, J.P. (2006). *Statistical Mechanics: Entropy, Order Parameters and Complexity*, 376 p. Oxford University Press, Oxford, New York.
- Stojanovic-Radic et al., 2012** – Stojanovic-Radic, Z., Comic, L., Radulovic, N., Blagojevic, P., Denic, M., Miltojevic, A., Rajkovic, J., Mihajilov-Krstev, T. (2012). Antistaphylococcal activity of *Inula helenium* L. root essential oil: eudesmane sesquiterpene lactones induce cell membrane damage. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, Vol. 31, No. 6, pp. 1015-1025.
- Stux, Pomeranz, 2011** – Stux, G., Pomeranz, B. (2011). *Acupuncture: Textbook and Atlas*, 360 p., Springer, Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo.
- Tarulli et al., 2007** – Tarulli, A.W., Chin, A.B., Lee, K.S., Rutkove, S.B. (2007). Impact of Skin-Subcutaneous Fat Layer Thickness on Electrical Impedance Myography Measurements: An Initial Assessment. *Clin Neurophysiol.*, Vol. 118, No. 11, pp. 2393-2397.
- Tatton et al., 2011** – Tatton, W.G., Bedingham, W., Verrier, M.C., Bruce, I.C., Blair, R.D.G. (2011). Abnormalities of Mechanoreceptor-Evoked Electromyographic Activity in Central Motor Disorders. pp. 9-18; *Electromyography and Evoked Potentials: Theories and Applications* (Ed. by Strupper A., Weindl A.), 284 p., Springer-Verlag; Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo, 1985, 2011.
- Taub, Sadick, 2008** – Taub, A.F., Sadick, N.S. (2008). Non-ablative Tightening and Lifting on the Body, pp. 119-139. *Procedures in Cosmetic Dermatology Series: Non-Surgical Skin Tightening and Lifting* (Ed. by Alam M., Dover J.S.), 192 p., Saunders (Elsevier).
- Tongnuanchan, 2012** – Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T. (2012). Properties and antioxidant activity of fish skin gelatin film incorporated with citrus essential oils. *Food Chemistry*, Vol. 134, No. 3, pp. 1571-1579.
- Volkenstein, 2009** – Volkenstein, M.V. (2009). *Entropy and Information*, 219 p., Birkhäuser, Basel, Boston, Berlin.
- Wakefield, 2005** – Wakefield, M.E. (2005). Essential Oils, Part Three: Blending Essential Oils According to Sound, Fragrance and Color. *Acupuncture Today*, Vol. 6, No. 10.
- Wang, 2011** – Wang, W., Foley, K., Shan, X., Wang, S., Eaton, S., Nagaraj, V.J., Wiktor, P., Patel, U., Tao, N. (2011). Single cells and intracellular processes studied by a plasmonic-based electrochemical impedance microscopy. *Nat. Chem.*, Vol. 3, No. 3, pp. 249-255.
- Winterhalter et al., 2010** – Winterhalter, M., Münte, S., Gerhard, M., Danzeisen, O., Jüttner, T., Monaca, E., Hoy, L., Rahe-Meyer, N., Kienbaum, P. (2010). Prospective study comparing skin impedance with EEG parameters during the induction of anaesthesia with fentanyl and etomidate. Vol. 15, No. 2, pp. 47-53.

[Yang et al., 2009](#) – Yang, E.-J., Kim, S.-S., Oh, T.-H., Song, G., Kim, K.-N., Kim, J.-Y., Lee, N.H., Hyun, C.G. (2009). Peucedanum japonicum and Citrus unshiu essential oils inhibit the growth of antibiotic-resistant skin pathogens. *Annals of Microbiology*, Vol. 59, No. 3, pp. 623-628.

[Yoon et al., 2009](#) – Yoon, W.J., Kim, S.S., Oh, T.H., Lee, N.H., Hyun, C.G. (2009). *Abies koreana* Essential Oil Inhibits Drug-Resistant Skin Pathogen Growth and LPS-Induced Inflammatory Effects of Murine Macrophage. *Lipids*, Vol. 44, No. 5, pp. 471-476 (2009).

[Yu, 2000](#) – Yu, F.T.S. (2000). Entropy and Information Optics, 360 p., CRC Press, Boca Raton.

[Zhang et al., 2012](#) – Zhang, H., Han, T., Yu, C.-H., Jiang, Y.-P., Peng, C., Ran, X., Qin, L.-P. (2012). Analysis of the chemical composition, acute toxicity and skin sensitivity of essential oil from rhizomes of *Ligusticum chuanxiong*. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 144, No. 3, pp. 791–796.

[Zhou et al., 2011](#) – Zhou, J., Xie, G., Yan, X. (2011). Isolated Compounds (N-S). Encyclopedia of Traditional Chinese Medicines – Molecular Structures, Pharmacological Activities, Natural Sources and Applications, Vol. 4, pp. 1-636.