

Вплив препаратів кріоконсервованої плаценти на перекисні показники у хворих на стабільну стенокардію

К.В.ШЕПІТЬКО

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

Effect of Cryopreserved Placenta Preparations on Peroxidative Indices in Patients with Stenocardia

ШЕПІТЬКО К.В.

Ukrainian Medical Stomathological Academy, Poltava

Трансплантація кріоконсервованої плацентарної тканини (КПТ) і екстракту плаценти впливає на основні патогенетичні ланки атеросклерозу, що проявляється в зниженні рівня загального холестерину, холестерину ліпопротеїдів низької щільності, коефіцієнта атерогенності, вільнорадикального окислення; підвищенні рівня холестерину ліпопротеїдів високої щільності (ХСЛПВЩ) та активації антиоксидантних ферментів у сироватці крові.

Ключові слова: ішемічна хвороба серця, трансплантація, плацента, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантний захист.

Трансплантация криоконсервированной плацентарной ткани и экстракта плаценты влияет на основные патогенетические звенья атеросклероза, что проявляется в снижении уровня общего холестерина, холестерина липопротеидов низкой плотности, коэффициента атерогенности, свободнорадикального окисления; повышении уровня холестерина липопротеидов высокой плотности и активации антиоксидантных ферментов в сыворотке крови.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, трансплантация, плацента, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита.

Transplantation of cryopreserved placental tissue (CPT) and placenta extract influences the major pathogenic atherosclerosis link, that manifests in the reduction of total cholesterol level, cholesterol of low-density lipoproteids, the atherogeneity coefficient, free-radical oxidation; rise of the level of cholesterol of high density lipoproteids and activation of antioxidant enzymes in blood serum.

Key-words: Heart ischemic disease, transplantation, placenta, lipid peroxidation, antioxidant defence.

Відповідно до сучасних уявлень, морфологічні прояви атеросклерозу пов'язані з відкладанням ліпідів у судинній стінці, тому проведені дослідження були спрямовані на визначення вмісту ліпідів у плазмі крові обстежуваних і взаємозв'язку його з клінічними проявами атеросклерозу у вигляді ішемічної хвороби серця (ІХС), як одного з найбільш розповсюджених захворювань. З часом атеросклеротичні зміни в ендотелії судин прогресують, що визначає рефрактерність коронарного русла до антиангінальних засобів [1, 5-7].

В останні роки з'явилися нові ефективні методи корекції регулюючих систем організму, а саме можливість впливу на процеси гемокоагуляції у хворих на ІХС шляхом трансплантації КПТ людини. Підбір методів впливу визначається патогенетичним механізмом конкретного захворювання [2, 3].

Експериментальні дані свідчать про те, що внутрішньом'язова трансплантація КПТ має виражений стимулюючий вплив на різні органи і системи, зокрема на систему гемостазу, а також на ендотелій коронарних судин. Наявність у плаценті великої кількості білків, факторів росту,

According to current notions the morphological atherosclerosis manifestations are related to lipid deposits in vascular wall, therefore the studies were directed into evaluating the lipid content in blood plasm of the persons under observation and its relation to such clinical manifestations of atherosclerosis as heart ischemic disease (HID) as one of the most spread pathology. Atherosclerotic changes in endothelium are known to progress with time, that determines the refractory character of coronary flow to antianginal means [1, 5-7].

There have been appeared recently the new effective correction methods for the organism regulating systems, that is the possibility to influence the processes of hemocoagulation in HID patients by transplanting human CPT. The selection of the influence method is determined by pathogenetic mechanism of a certain disease [2, 3].

Experimental data testify that CPT intramuscular transplantation possesses a manifested stimulating effect on different organs and systems, particularly hemostasis system as well as on coronary vessels endothelium. The presence in placenta of a huge amount of proteins, growth factors, cytokines,

Адреса для кореспонденції: Шепітько К.В. Українська медична стоматологічна академія, кафедра факультетської терапії з фізіотерапією. Вул. Шевченка, 23, м. Полтава, Україна 36024.

Address for correspondence: Shepit'ko K.V., Ukrainian Medical Stomatological Academy, Chair of Faculty Therapy with Physiotherapy, 23, Shevchenko str., Poltava, Ukraine 36024.

цитокінів, інтерлейкінів, природних антиоксидантів визначає широкий спектр біологічної активності такого трансплантату, а двофазність його дії забезпечує виражений ефект на протязі тривалого часу [3].

Мета роботи – підвищення ефективності лікування хворих на ІХС – стабільну стенокардію II-III функціонального класу шляхом трансплантації КПТ та її екстракту.

Матеріали і методи

Верифікацію діагнозу проводили на основі клінічних даних, лабораторних методів діагностики, комплексу інструментальних досліджень [4]. Нами обстежено 155 осіб, хворих на ІХС – стабільну стенокардію II-III функціонального класу – 110, віком 38-50 років, які були поділені на 4 групи. Серед обстежених хворих було 99 чоловіків (90%) та 11 жінок (10%). Переважали пацієнти молодого та зрілого віку, середній показник – 39,7±2,4 роки. В першу групу ввійшли практично здорові особи – 45 чоловік. Другій групі (62 хворих) призначали традиційну терапію, що включала: дієтотерапію, введення динітрату ізосорбіту (10 мг) через 8 год та метопрололу, доза якого залежала від толерантності хворих до фізичних навантажень. Третій групі (23 хворих) проводили підшкірну трансплантацію КПТ, виготовленої Інститутом проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (масою 2,5 г на 70 кг маси тіла на тлі базисної терапії). Трансплантацію проводили в межах верхнього зовнішнього квадранта сідниці. Четвертій групі (25 хворих) на тлі базисної терапії вводили внутрішньом'язово кріоконсервованій екстракт плаценти (КЕП) з розрахунку 2 мл на 70 кг маси тіла по три ін'єкції з інтервалом 3 доби. Всіх хворих обстежували до та після проведення лікування через 3 та 6 міс. При статистичній обробці отриманих результатів використовували критерій Стьюдента. Дослідження є фрагментом НДР: „Розробка нових кріобіологічних технологій застосування кріоконсервованих ембріональних клітин, тканин людини та тварини у медицині” № держреєстрації 0199U000323.

Результати та обговорення

Результати наших досліджень (таблиця) свідчать, що у хворих на ІХС рівень β -ліпопротеїдів вірогідно вищий, ніж у практично здорових осіб при $p < 0,01$. У той же час виявляються низький рівень вмісту холестерину β -ліпопротеїдів високої щільності (ХСЛПВЩ) при $p < 0,01$ та високий коефіцієнт атерогенності при $p < 0,001$. Стан перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантного захисту оцінювали на основі визначення вмісту продуктів ПОЛ: дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіду (МДА),

interleukines, natural antioxidants defines a wide spectrum of biological activity of such a transplant, and two-phase characteristics of its action provides a manifested effect for a long period of time [3]. The diagnosis verification was performed basing on clinical data, laboratory diagnostics methods, the complex of instrumental studies [4].

The progress in the treatment efficacy of II-III functional class HID-stable stenocardia patients by transplanting them CPT and its extract served as the aim of the work.

Materials and methods

We have examined 155 patients with HID-stable II-III functional class stenocardia, 100 of them aged from 38-50 years old were divided into 4 groups. Among the patients there were 99 men (90%) and 11 women (10%). Young and middle-aged patients prevailed, the mean age made 39±2.4 years. The first group comprised practically healthy people (45 ones). To the second group (62 patients) the traditional therapy was prescribed, which included a diet therapy, dinitrate isosorbital injection (10mg) in 8 hours, and metoprolol, which dose depended upon the patients' tolerance to physical loads. The third group (23 patients) was subjected to subcutaneous CPT transplantation produced at the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine. (2.5g per 70 kg of body weight, at the background of main therapy). Transplantation was done within upper external buttock quadrant. The fourth group (25 patients) underwent the CPE transplantation (2ml per 70kg of body weight, 3 injections with 3 day interval) at the background of the main therapy.

All the patients were examined prior to and following the treatment in 3 and 6 months. During the statistical processing of the results obtained there was used the Student's criterion. Present study is the part of the R&D investigation entitled as “Elaboration of novel cryobiological techniques for the application of cryopreserved embryonic human and animal cells and tissues in medicine”, State Registration Ref. Nr is 0199U000323.

Results and discussion

The investigation results testify (Table) that the level of β -lipoproteids in HID patients to be significantly higher than in practically healthy people ($p < 0.01$). At the same time there has been revealed the low level of cholesterol content of high density β -lipoproteids ($p < 0.01$) and a high atherogeneity coefficient at $p < 0.001$. State of lipid peroxidation (LPO) and antioxidant defence was estimated basing on the evaluation of LPO products amount: diene conjugates (DC) and malone dialdehyde (MDA), which were

які вірогідно збільшувалися ($p < 0,01$). Встановлено зниження каталази та супероксиддисмутази (СОД), підвищення церулоплазміну при $p < 0,001$, що свідчить про зниження активності антиоксидантної системи хворих і присутність гіперхолестеринемії.

У хворих на ІХС – стабільну стенокардію II-III функціонального класу, яким на тлі базисної терапії була проведена трансплантація КПТ (III група) через 3 та 6 міс, виявлено зниження частоти нападів стенокардії, зменшилась доза прийому нітрогліцерину. Толерантність до фізичного навантаження (ходьба по рівному) в даній групі підвищилася, напади стенокардії виникали тільки при проходженні 700 м і більше. За даними ЕКГ вірогідних відмінностей не виявлено. За велоергометричними даними граничне навантаження у хворих, яким була проведена трансплантація КПТ, підвищилося до 65 Вт, в той час як у групі хворих, які приймали тільки традиційну терапію, – до 55 Вт. Кількість ліжко-днів у 3-й групі хворих зменшилась у середньому на 2,7 днів. Під впливом трансплантації КПТ нами виявлено зміни ліпідного обміну (таблиця). Так, рівень β -ліпопротеїдів достовірно знизився на протязі термінів спостереження при $p_1 < 0,01$. Рівень ХСЛПВЩ достовірно підвищився через 3 міс при $p_1 < 0,001$, а через 6 міс – при $p_1 < 0,01$. Коефіцієнт атерогенності знизився через 3 та 6 міс спостереження при $p_1 < 0,001$.

Крім того, в 3-й групі хворих виявлено пригнічення вільнорадикального окислення, яке проявляється в зниженні рівня вмісту продуктів ПОЛ на протязі 3-х та 6-ти місяців: МДА – на 29,9, ДК – на 9,4% в порівнянні з показниками до лікування. Паралельно спостерігалась активація каталази та СОД (таблиця). Можливо, підвищення активності каталази є адаптивно-компенсаторним процесом (пов'язано зі збільшенням продукції перекису водню), який руйнує еритроцитарні мембрани та сприяє гемолізу. Слід також враховувати, що естрогени, рівень яких в КПТ складає 755 ± 48 МЕ/л, здатні активізувати каталазу.

Найбільший ефект від проведеної терапії в 3-й групі спостерігався через 6 міс. Це пов'язано з тим, що в криоконсервованому екстракті плаценти містяться: α -фетопротеїн (229 ± 75 МЕ/мл), хоріонічний гонадотропін ($26,8 \pm 8$ мМЕ/мл), естрадіол (755 ± 48 МЕ/л), прогестерон (226 ± 110 нМ/мл), пролактин (705 ± 129 мМЕ/л), тестостерон (160 ± 25 нМ/л) на відміну від фармакопейного екстракту плаценти, в склад якого входять тільки α -фетопротеїн ($1,2$ МЕ/мл), хоріонічний гонадотропін ($0,5$ мМЕ/мл) та прогестерон (110 нМ/мл).

Встановлено, що клінічний ефект при введенні КЕП (4-а група) на відміну від трансплантації КПТ настає швидше, але дія його не тривала та ефект зберігається на протязі 3-х місяців (таблиця).

correspondingly increasing ($p < 0.01$). There was noted the catalase and superoxidisedismutase (SOD) fall, rise of ceruloplasmin at $p < 0.001$ that testified to decreasing the antioxidant system activity in the patients and the presence of hypercholesterinemia.

In patients with HID-stable stenocardia of II-III functional style subjected to CPT transplantation in 3 and 6 months at the background of the main therapy (III group) there was noted the reduction of stenocardia attacks rate, there was decreased nitroglycerin dose. Tolerance to physical loads (walking along the plane surface) increased in this group, stenocardia attacks occurred only having walked 700m and more. According to ECG data no significant differences were noted. According to electrocardiography data the limiting load in patients after CPT transplantation increased up to 65W, while in the patients group with the traditional therapy this value was 55W. The number of days spent at the hospital for the 3rd group patients decreased by 2.7 days in average. Under the effect of CPT transplantation we have revealed the changes in lipid metabolism (Table). Level of β -lipoproteids has significantly decreased at $p_1 < 0.01$. Level of cholesterol of high density β -lipoproteids significantly increased in 3 months at $p_1 < 0.001$. In addition in the 1st group there was noted the suppression of free radical oxidation manifested in the reduction of the level of LPO products during 3 and 6 months; MDA decreased by 29.9%, DC - by 9.4% if compared to the indices prior to the treatment. As well there was observed the catalase and SOD activation (Table). The rise of catalase activity might be an adaptive-compensatory process (related to the increase of hydrogen peroxide production), which destroys erythrocytes membranes and promotes hemolysis. It should be also considered that estrogens, the level of which in CPT makes 755 ± 48 MU/l are capable of activating the catalase.

The highest effect of the therapy performed in the 3rd group there was observed in 6 months. This is due to the fact that in cryopreserved placenta extract there are α -fetoprotein (229 ± 75 MU/ml), chorionic gonadotropin ($26,8 \pm 8$ mMU/ml), estradiol (755 ± 48 MU/l), progesterone (226 ± 110 nM/ml), prolactin (705 ± 129 mMU/l), testosterone (160 ± 25 nM/l), in contrast to the pharmacopoeial placenta extract, which comprises only α -fetoprotein ($1,2$ MU/ml), chorionic gonadotropin (0.5 mMU/ml) and progesterone (110 nM/ml).

It was found that the clinical effect while injecting the CPE (the 4th group) in contrast to the CPT transplantation was achieved easier, but its action was not prolonged and the effect was kept for 3 months (Table).

Thus, biologically active substances comprised by CPT were found to affect directly the main pathogenic

Динаміка показників гомеостазу у хворих на стабільну стенокардію II-III функціонального класу під впливом трансплантації КПТ та ін'єкцій КЕП

Dynamics of homeostasis indices in patients with II-III class stable stenocardia under the effect of CPT transplantation and CPE injection

Показник Index	Практично здорові особи Practically healthy people	Традиційна терапія Traditional therapy		Трансплантація КПТ CPT transplantation			Ін'єкція КЕП CPE injection	
		до лікування prior to the treatment	після лікування following the treatment	до лікування prior to the treatment	через 3 міс in 3 months	через 6 міс in 6 months	через 3 міс in 3 months	через 6 міс in 6 months
β -ЛП, г/л β -LP, g/l	4,94±0,16	6,05±0,31	5,94±0,35	6,49±0,39	5,12±0,18 ^{2,4}	5,74±0,10 ³	4,22±0,17 ²	3,95±0,32 ^{3,5}
ХСЛПВЩ Cholesterol of HDLP	1,3±0,08	1,02±0,03	1,04±0,06	1,03±0,02	1,24±0,05 ^{2,4}	1,25±0,04 ^{3,5}	1,23±0,05 ^{2,4}	1,27±0,02 ^{3,5}
Холестерин, ммоль/л Cholesterol mMol/l	4,56±0,12	5,97±0,29	5,89±0,31	5,78±0,46	4,75±0,21 ^{2,4}	5,29±0,41	5,12±0,51 ^{2,4}	4,51±0,27 ^{3,5}
Коефіцієнт атерогенності Atherogeneity coefficient	2,5±0,04	4,85±0,01	4,66±0,05 ¹	4,61±0,03	2,83±0,03 ^{2,4}	3,23±0,05 ^{3,5}	3,16±0,02 ^{2,4}	2,55±0,44
МДА, мкмоль/л MDA, mMol/l	8,40±0,09	10,91±0,33	11,12±0,47	10,34±0,52	8,56±0,42 ^{2,4}	9,12±0,37 ^{3,5}	8,43±0,38 ^{2,4}	6,14±0,36 ^{3,5}
ДК, мкмоль/л DC, mMol/l	49,6±0,57	57,43±2,97	56,21±2,14	56,87±2,20	47,59±2,47 ^{2,4}	49,13±2,31 ^{3,5}	51,14±2,17 ^{2,4}	49,72±2,12 ^{3,5}
СГЕ, % гемолізу SHE, % hemolysis	0,84±0,03	2,07±0,17	2,13±0,21	2,04±0,15	1,12±0,18 ^{2,4}	1,52±0,26	1,65±0,09 ⁴	1,01±0,14 ^{3,5}
Каталаза, од. акт. Catalase, act. units	3,03±0,03	2,72±0,13	2,71±0,10	2,78±0,12	2,97±0,11	2,81±0,15	2,87±0,17	3,20±0,17 ^{3,5}
СОД, од. акт. SOD, act. units	2,23±0,05	1,41±0,05	1,47±0,03	1,13±0,14	1,79±0,02 ^{2,4}	1,63±0,04 ^{3,5}	2,13±0,14 ^{2,4}	2,51±0,07 ^{3,5}
Церулоплазмін, мг/л Ceruloplasmin, mg/l	163,54±5,8	231,6±7,48	227,8±5,46	242,7±5,45	179,1±5,76 ^{2,4}	195,7±6,41 ^{3,5}	193,06±5,91 ^{2,4}	159,7±5,9 ^{3,5}

Примітки: ¹ – P<0,05 – різниця достовірна між показниками контрольної групи до та після лікування; ² – P<0,05 – дослідної групи до лікування та через 3 міс після трансплантації КПТ; ³ – P<0,05 – дослідної групи до лікування та через 6 міс після трансплантації КПТ; ⁴ – P<0,05 контрольної та дослідної груп після проведеного лікування через 3 міс; ⁵ – P<0,05 – контрольної та дослідної груп після лікування через 6 міс.

Notes: ¹ – P<0.05 statistically significant difference between the control group indices prior to and following the treatment; ² – P<0.05 between the experimental group indices prior to and following CPT transplantation; ³ – P<0.05 between the experimental group indices prior to and in 6 months after CPT transplantation; ⁴ – P<0.05 between the control and experimental groups 3 months after the treatment performed; ⁵ – P<0.05 between the control and experimental groups 6 months after the treatment performed.

Таким чином, біологічно активні речовини, які входять до складу КПТ, безпосередньо впливають на основні патогенетичні ланки атеросклерозу, проявляючи тим самим позитивні ефекти клітинної терапії ІХС.

Висновки

У хворих на стабільну стенокардію виявляються підвищений вміст ліпопротеїдів низької щільності, збільшення коефіцієнта атерогенності, активація вільнорадикального окислення на фоні зниження антиоксидантного захисту.

atherosclerosis links, manifesting in such a way the positive effects of cell therapy of IHD.

Conclusions

In patients with a stable stenocardia there was found an increased amount of low density α -lipoproteids, rise of atherogeneity coefficient, activation of free-radical oxidation at the background of antioxidant defence reduction.

Treatment using CPT and placenta extract transplantation resulted in more effective activation of antioxidant enzymes comparing to the traditional therapy.

Лікування з використанням трансплантації КПТ та екстракту плаценти викликало більш ефективну активацію антиоксидантних ферментів порівняно з традиційною терапією.

Література

1. Грищенко В.І., Прокопюк О.С., Юрченко Т.М., Строна В.І. Заготівля, криоконсервування екстрактів фетальних тканин та їх клінічне застосування: Метод. рекомендації, 1999.– 4 с.
2. Грищенко В.І., Сандомирский Б. П. Концепция клеточной терапии // Пробл. криобиологии.– 2000.– № 1.– С. 3-7.
3. Иммунологические методы / Под. ред. Г. Фримеля.– М.: Медицина, 1987.– 128 с.
4. Климов А.Н. Иммунобиохимические механизмы развития атеросклероза // Вестн. АМН СССР.– 1974.– № 2.– С. 29–36.
5. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. Руководство для врачей.– СПб, 1999.– 396 с.
6. Малая Л.Т. Исследование некоторых нейрогуморальных факторов при атеросклерозе и коронарной недостаточности в клинике и эксперименте // Труды VIII съезда терапевтов УССР. – Киев: Здоровье, 1967.– С. 39.
7. Малая Л.Т., Кандаков І.К., Волков В.І., Гальчинська В.Ю. Клініко-лабораторна діагностика загострення та швидкого прогресування атеросклерозу. Метод. рекомендації.– Харків, 1997.– 3 с.

Надійшла 03.03.2004

References

1. Grischenko V.I., Prokopyuk O.S., Yurchenko T.M., Strona .I. Preparing, cryopreservation of fetal tissue extracts and their clinical use: Method. Recommendations, 1999.– 4 p.
2. Grischenko V.I., Sandomirsky B.P. Cell Therapy Concept // Problems of Cryobiology.– 2000.– N1.– P. 3-7.
3. Immunological methods / Ed. by G. Frimel.– Moscow: Meditsina, 1987.– 128 p.
4. Klimov A.N. Immunobiochemical mechanisms of atherosclerosis development // Vestn. AMN SSSR.– 1974.– N2.– С. 29-36.
5. Klimov A.N., Nikulcheva N.G. Lipid and lipoprotein metabolism and its failure: Manual for physicians.– Spt.– 1999.– 396 p.
6. Malaja L.T. Studying of some neurohumoral factors at atherosclerosis and coronary deficiency in clinics and experiment // Collection of works of the VIII meeting of therapeutists of the USSR.– Kiev: Zdorovje, 1967.– P. 39.
7. Malaja L.T., Kandakov I.K., Volkov V.I., Galchinskaya V.Yu. Clinical and laboratory diagnostics of an acute state and its progressing for atherosclerosis: Method. Recommendations.– Kharkov, 1997.– 3 p.

Accepted in 03.03.2004