

О РОЛИ АКТИВАЦИИ ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ В МЕХАНИЗМАХ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА

Бизенкова М.Н., Чеснокова Н.П., Романцов М.Г.

*Саратовский Государственный Медицинский Университет, Саратов,
Научно-технологическая фармацевтическая фирма «Полисан»,
Санкт-Петербург*

Развитие экспериментальной ишемии миокарда у белых крыс характеризуется стабильным увеличением содержания промежуточных продуктов липопероксидации в гомогенатах миокарда и сыворотке крови на фоне выраженной недостаточности ферментного звена антиоксидантной системы. Дальнейшее совершенствование методов антирадикальной защиты ишемизированного миокарда возможно при использовании в комплексной терапии антигипоксантов и антиоксидантов, таких как гутимин, олифен, цитофлавин и др.

Свободнорадикальное окисление – необходимое звено метаболической активности клеток различных органов и тканей, в частности миокарда, в условиях нормы и патологии. Свободнорадикальные процессы определяют характер модификации фосфолипидного бислоя биологических мембран, энергетического и пластического обеспечения клеток, активность транспортных и рецепторных систем мембран, возбудимость клеток.

В то же время активация свободнорадикального окисления является типовым процессом дестабилизации биологических мембран при гипоксии, ишемии, стрессовых ситуациях, эндокринопатиях, различных бактериальных инфекциях и интоксикациях [2,7].

Чрезмерная активация свободнорадикального окисления и перекисных реакций – важнейший патогенетический фактор дезорганизации структурных и ферментных белков биологических мембран, повышения их пассивной проницаемости по осмотическому градиенту при одновременном подавлении активности энергозависимого транспорта молекул органических и неорганических соединений. Изменение трансмембранного переноса ионов при интенсификации липопероксидации, безусловно, приводит к нарушению процессов деполяризации, реполяризации клеток и их возбудимости [7].

Целью настоящего исследования явилось изучение динамики, а также корреляционной взаимосвязи интегративных показателей состоя-

ния процессов липопероксидации и антиоксидантной системы гомогенатов миокарда и крови в процессе развития острой ишемии миокарда.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проведены на 60 беспородных крысах-самцах массой 250-300 г. Моделирование ишемии и инфаркта миокарда проводили в условиях острого опыта по методу Н. Selye (окклюзия нисходящей ветви левой коронарной артерии на уровне нижнего края ушка) [9]. Одновременно проводили морфологическую и гистохимическую оценку состояния миокарда.

Динамику структурных изменений миокарда сопоставляли с интенсивностью процессов липопероксидации и состоянием антиоксидантной системы гомогенатов миокарда и крови.

О состоянии антиоксидантной системы судили по уровню активности супероксиддисмутазы (СОД) [1], каталазы [3], а также по уровню восстановленного глутатиона [1,4] крови и гомогенатов миокарда. Об интенсивности процессов липопероксидации свидетельствовала динамика содержания диеновых конъюгатов (ДК) [8] и малонового диальдегида (МДА) [6] в крови и гомогенатах миокарда на фоне развития острой ишемии миокарда.

Результаты исследований и их обсуждение. Как показали результаты проведенных нами исследований, спустя 60 мин. с момента развития ишемии имело место резкое возрастание уровня МДА ($p < 0.001$, рис. 1) в миокарде.

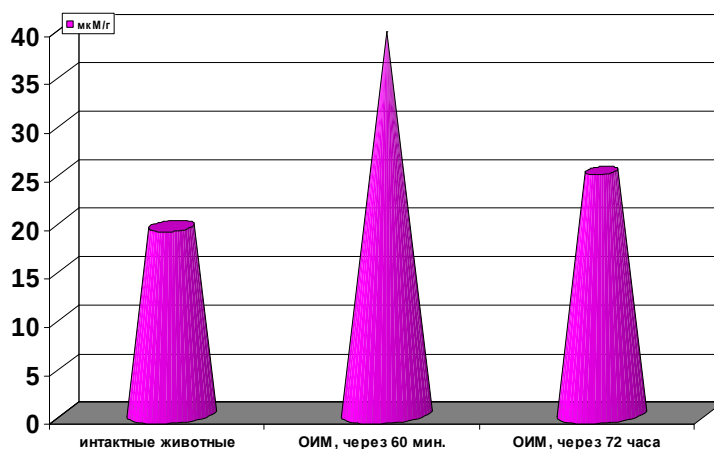


Рисунок 1. Содержание МДА гомогенатов миокарда в условиях острой ишемии миокарда.

Примечание: ОИМ – острая ишемия миокарда через 60 мин. и 72 часа с момента развития ишемии миокарда. Степень достоверности полученных данных указаны в текстах.

Одновременно отмечалось и увеличение содержания МДА ($p < 0.001$, рис.2) в сыворотке крови.

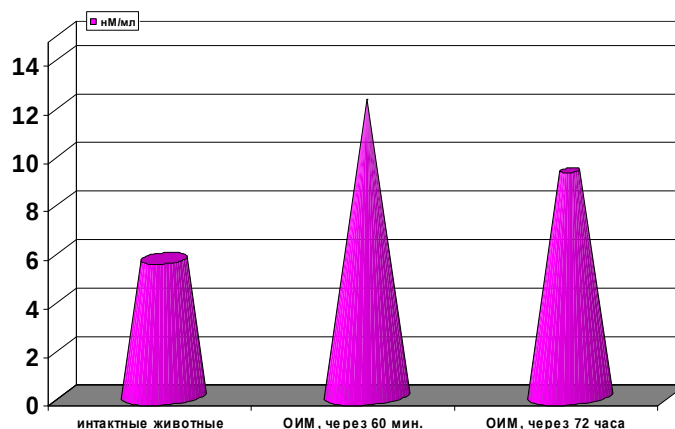


Рисунок 2. Содержание МДА сыворотки крови в условиях острой ишемии миокарда.

Примечание: ОИМ – острая ишемия миокарда через 60 мин. и 72 часа с момента развития ишемии миокарда. Степень достоверности полученных данных указаны в текстах.

При этом уровень ДК ($p < 0.001$, рис. 3) в крови не отличался от показателей группы контрольных интактных животных.

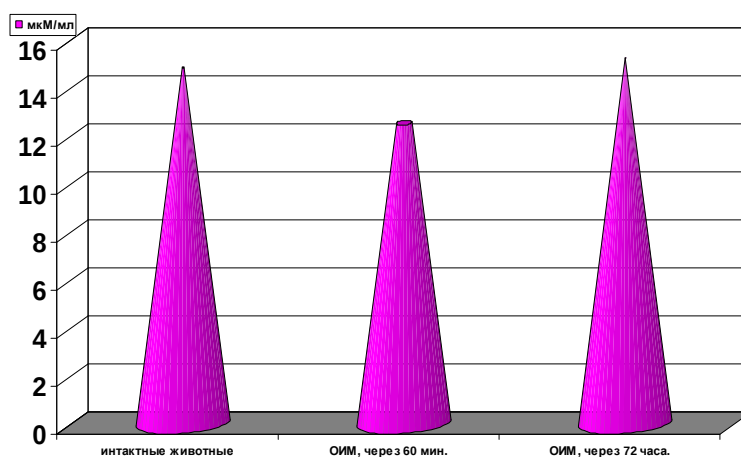


Рисунок 3. Содержание диеновых конъюгатов сыворотки крови в условиях острой ишемии миокарда.

Примечание: ОИМ – острая ишемия миокарда через 60 мин. и 72 часа с момента развития ишемии миокарда. Степень достоверности полученных данных указаны в текстах.

Спустя 72 часа с момента развития ишемии уровень МДА ($p < 0.001$, рис.1) в миокарде несколько снижался по сравнению с таковыми показателями в предшествующий период наблюдения (60 мин с момента развития ишемии), но в то же время оставался выше показателей группы интактных контрольных животных. Содержание МДА ($p < 0.001$, рис.2) в сыворотке крови спустя 72 часа с момента развития ишемии также оставалось значительно выше показателей контроля, но в то же время несколько снижалось по сравнению с ранним периодом острой ишемии миокарда. Уровень ДК ($p < 0.001$, рис. 3) в крови оставался без изменений в течение всего периода наблюдений.

Таким образом, выявление параллелизма между уровнем МДА миокарде и сыворотке крови в динамике острой ишемии миокарда свидетельствует о том, что показатель содержания МДА в крови может быть одним из объективных критериев оценки развития ишемии миокарда, наряду с общепринятыми показателями тестирования инфаркта миокарда по уровню трансаминаз сыворотки крови. Содержание ДК в крови при ишемии миокарда практически не изменяется и не может быть использовано для оценки степени структурных изменений в ишемизированном миокарде.

Одним из патогенетических факторов активации процессов липопероксидации в условиях ишемии может явиться недостаточность антиоксидантной системы крови и тканей. Для частичного решения этого вопроса проведены сравнительные серии экспериментов по установлению корреляционной взаимосвязи состояний активности СОД, каталазы, восстановленного глутатиона крови и гомогенатов миокарда в динамике острой ишемии.

Использование указанного комплекса показателей антиоксидантной защиты клеток не является случайным. Как известно, в условиях нормы молекулярный кислород подвергается тетравалентному восстановлению в митохондриях, в биологическом процессе, связанном с генерацией АТФ (Ерьюхин И.Л., Шляпников С.А., 1997). В условиях ишемии миокарда активизируются процессы одно- и трехэлектронного восстановления кислорода. В этом процессе молекулярный кислород восстанавливается сначала

в супероксидный анион-радикал, который затем может превратиться в перекись водорода. Последующее одновалентное восстановление перекиси водорода приводит к образованию чрезвычайно реактогенного гидроксильного радикала. В цитозоле клеток супероксидный анион-радикал генерируется при участии ксантиноксидазы [2,7].

Как известно, при гипоксиях различного генеза усиливается трансформация ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу (Рашби Э.Ю., Варштанян Л.С., Серегина Л.А., 1986). Таким образом, выявленная нами закономерность избыточного накопления МДА в гомогенатах миокарда, сыворотки крови и ДК сыворотки крови в динамике развития острой ишемии миокарда может быть следствием абсолютной или относительной недостаточности активности супероксиддисмутазы, каталазы или повышения активности ксантиноксидазы.

Установлено, что СОД ускоряет спонтанную дисмутацию супероксидного анион-радикала примерно в 20 раз. Образующаяся в процессе дисмутации супероксидного анион-радикала перекись водорода восстанавливается до воды, в основном, каталазой и глутатионпероксидазой. Важная роль в антиоксидантной защите организма отводится SH-соединениям – активным перехватчикам гидроксильных радикалов, в частности, восстановленному глутатиону [5].

Выше изложенное и определило целесообразность исследования активности СОД, каталазы и уровня восстановленного глутатиона в гомогенатах миокарда и в крови.

Как показали результаты проведенных экспериментов, спустя 60 мин. с момента развития ишемии отмечалось снижение активности СОД ($p < 0.001$, рис. 4) гомогенатов миокарда, между тем активность СОД ($p < 0.001$, рис. 5) сыворотки крови возрастала по сравнению с таковыми показателями группы контроля.

Спустя 72 часа с момента развития ишемии активность СОД ($p < 0.001$, рис. 4) гомогенатов миокарда оставалась сниженной, как и в предыдущей группе наблюдения. Одновременно резко снижалась активность СОД ($p < 0.001$, рис. 5) сыворотки крови как по сравнению с таковыми показателями группы животных с ранней стадией острой гипоксии, так и по отношению к показателям контрольной группы животных.

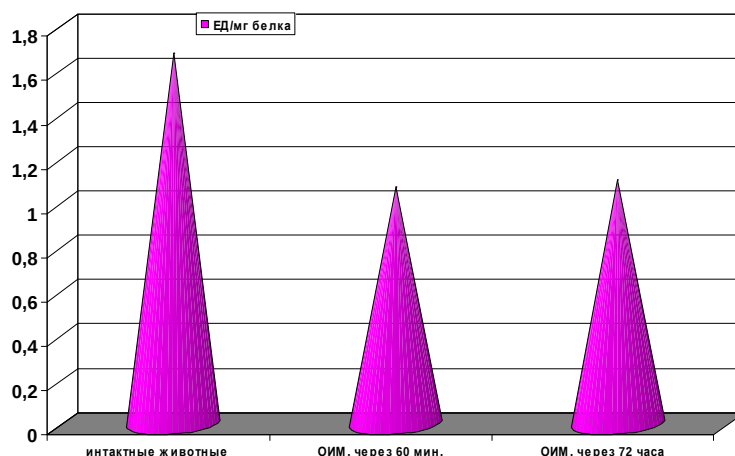


Рисунок 4. Содержание СОД гомогенов миокарда в условиях острой ишемии миокарда.

Примечание: ОИМ – острая ишемия миокарда через 60 мин. и 72 часа с момента развития ишемии миокарда. Степень достоверности полученных данных указаны в текстах.

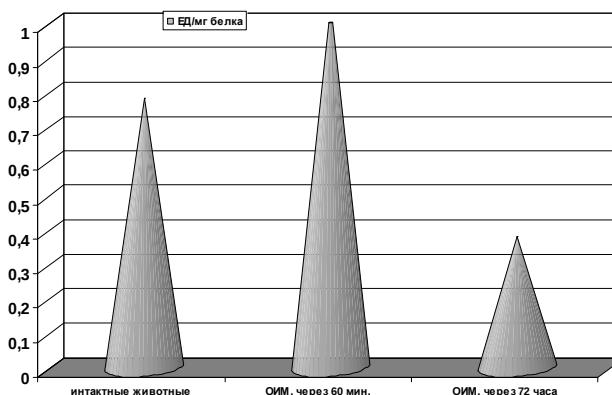


Рисунок 5. Содержание СОД сыворотки крови в условиях острой ишемии миокарда.

Примечание: ОИМ – острая ишемия миокарда через 60 мин. и 72 часа с момента развития ишемии миокарда. Степень достоверности полученных данных указаны в текстах.

Касаясь выявленного нами феномена разнонаправленных изменений активности СОД гомогенатов миокарда и сыворотки крови в ранние сроки ишемии миокарда, следует остановиться на различиях происхождения и структуры изучаемого фермента. В настоящее время обнаружено несколько изоэнзимных форм СОД, отличающихся строением активного центра. У эукариотов Cu-, Zn-содержащая СОД локализуется в основном в цитозоле эритроцитов, а в митохондриях миокарда локализована Mn-содержащая СОД. Указанные ферменты проявляют активность внутриклеточно, а в межклеточной жидкости быстро разрушаются (Фридович И., 1970, Поберезкина Н.Б., Осинская Л.Ф., 1989, Калия Е.С., Синько Н.М., 1991). Однако сыворотка крови также обладает активностью супероксиддисмутазы за счет наличия в ней высокомолекулярной формы СОД, хорошо связывающейся гепаринсульфатом гликокаликса эндотелиоцитов и

защищающая их от свободных радикалов. В то же время гликопротеид сыворотки крови – церулоплазмин также обладает супероксиддисмутазной активностью [5,7].

Таким образом, различные изоферменты СОД обладают различной чувствительностью к действию гипоксического фактора. Активация СОД сыворотки крови на ранних этапах ишемии миокарда, безусловно, носит компенсаторный характер и препятствует развитию дезорганизации структуры мембран клеток крови, эндотелиоцитов, развитию эндотелиальной дисфункции. Однако и этот механизм адаптации к гипоксии истощается к 3 суткам развития ишемии миокарда.

Что касается активности другого фермента – каталазы в динамике ишемии миокарда, следует отметить стабильное снижение ее активности в ранние и поздние сроки наблюдения в гомогенатах миокарда ($p < 0.001$, рис.6).

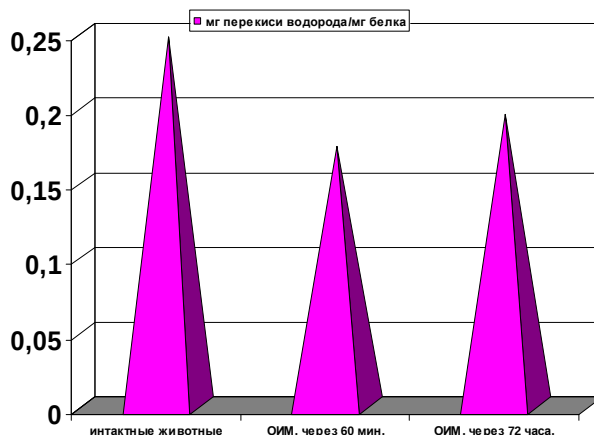


Рисунок 6. Содержание катализы гомогенов миокарда в условиях острой ишемии миокарда.

Примечание: ОИМ – острая ишемия миокарда через 60 мин. и 72 часа с момента развития ишемии миокарда. Степень достоверности полученных данных указаны в текстах.

Как известно каталаза клеточного происхождения, локализуется в основном в пероксисомах, частично митохондриях и в меньшей степени в цитозоле клеток.

Таким образом, выявленный нами факт параллельного снижения активности СОД и каталазы миокарда не является случайным, известно, что СОД и каталаза действуют как звенья антиоксидантной системы, обеспечивая переключение потока электронов с одной цепи транспорта на другую [5].

Проведенное нами определение активности каталазы в сыворотке крови в условиях нормы

свидетельствовало о значительно более низком уровне ее активности по сравнению с внутриклеточным, что соответствует данным литературы (Петрович Ю.А., Гуткин Д.В., 1980, Дубинина Е.У., 1989, Поберезкина Н.Б., Осинская Л.Ф., 1998). Однако, в динамике острой ишемии миокарда отмечены фазные изменения активности этого фермента сыворотки крови ($p < 0.001$, рис.7): возрастание активности на ранней стадии ишемии миокарда сменялось подавлением активности этого фермента на поздней стадии патологии.

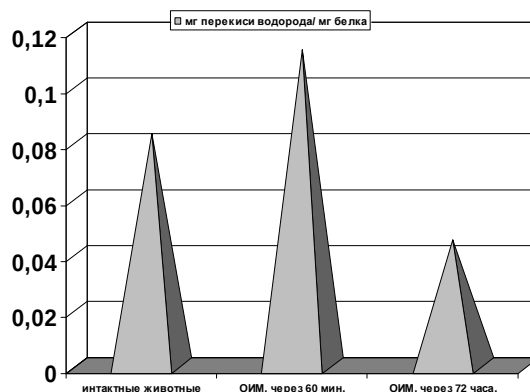


Рисунок 7. Содержание катализы сыворотки крови в условиях острой ишемии миокарда.

Примечание: ОИМ – острая ишемия миокарда через 60 мин. и 72 часа с момента развития ишемии миокарда. Степень достоверности полученных данных указаны в текстах.

Возрастание активности каталазы, спустя 60 мин с момента развития ишемии, по всей вероятности, является одним из проявлений синдрома цитолиза, когда внутриклеточные белки-ферменты за счет пассивной диффузии проникают через цитоплазматическую мембрану в системный кровоток.

Как известно, важнейшими компонентами антиоксидантной, антирадикальной защиты кле-

ток является восстановленный глутатион, сравнительная оценка содержания которого в миокарде и сыворотке крови проведены нами в динамике острой ишемии миокарда.

Как показали результаты проведенных нами исследований, содержание восстановленного глутатиона в гомогенатах миокарда заметно снижалось уже спустя 60 мин с момента развития острой ишемии миокарда ($p < 0.001$, рис. 8) и остава-

лось низким спустя 72 часа ($p < 0.001$, рис.8). Одновременно имело место снижение содержания восстановленного глутатиона в сыворотке крови экспериментальных животных ($p < 0.001$, рис.9).

Выводы:

1. В динамике острой ишемии миокарда отмечено одномоментное снижение содержания в миокарде и сыворотке крови восстановленного глутатиона на фоне возрастания уровня МДА. Мониторинг указанных показателей (восстановленного глутатиона и МДА) в сыворотке крови может быть использован вместе с другими биохимическими маркерами в качестве объективных критериев оценки развития деструктивных процессов в миокарде.

2. Возникает стабильная недостаточность антиоксидантной системы миокарда в динамике острой ишемии миокарда, о чем свидетельствует снижение активности СОД, коррелирующее с подавлением активности каталазы гомогенатов миокарда.

3. Активность ферментного звена антиоксидантной системы крови претерпевает фазные изменения: на ранней стадии ишемии возникает активация СОД и каталазы, сменяющаяся подавлением активности этих ферментов на поздних стадиях патологии.

4. Возрастание супероксиддисмутазой активности сыворотки крови на ранних стадиях ишемии происходит, по-видимому, за счет усиления продукции острофазного белка – церулоплазмينا и экстрацеллюлярной высокомолекулярной формы СОД. В свою очередь активация СОД сыворотки крови препятствует развитию цитопатогенных эффектов активных форм кислорода, в частности, дестабилизации мембран эндотелиоцитов и клеток крови, развитию эндотелиальной дисфункции, расстройству коагуляционного потенциала крови. Однако этот механизм компенсации истощается спустя 72 часа с момента развития острой ишемии.

5. Несмотря на различие этиологических факторов и пусковых механизмов развития ишемии миокарда эфферентным звеном деструкции миокардиоцитов при указанной патологии является активация процессов липопероксидации. Последнее предопределяет целесообразность использования в комплексной терапии ишемии миокарда антигипоксантов и антиоксидантов, таких как гутимин – атмизолового ряда или олифен из класса редокс-полимеров, или цитофлавин, сочетающего в себе свойства антиоксиданта и антигипоксанта и достаточно широко апробированного в клинической практике.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Д. Лабораторное дело, №10, 1983. – с. 30-33.
2. Зайчик А.Ш., Гурилов Л.П. Основы общей патологии. Часть 2. / А.Ш. Зайчик, Л.П. Гурилов. – Основы патохимии. – СПб.: ЭЛБИ, 2000. – 687с. – с.363-364.
3. Королук М.А. и др. Лабораторное, 1988, №1. – с.16.
4. Путилина Ф.Е. Методы биохимических исследований – ЛГУ, Ленинград, 1982. – с.183-187.
5. Патологическая физиология и биохимия: Учебное пособие для ВУЗов / - М.: Издательство «Экзамен». 2005. – 480с. – с.140-151.
6. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Современные методы в биохимии. - М.: Москва, 1977. - с.66-68.
7. Типовые патологические процессы / Н.П. Чеснокова: Учебное пособие / - Издательство Саратовского медицинского университета. 2004. –с. 132-136.
8. Ennor A. and H.Rosenberg. Biochem J. 51, 1952. – 606- 610.
9. Selye H., Bayusz E., Crasso, and Mendell, Angiologia, 11, 1960. - 398-407.

ON THE ROLE OF THE ACTIVATION OF LYPEROXIDATION IN THE MECHANISMS OF ISCHEMIC DAMAGE OF MYOCARDIUM

Bizenkova M.N., Chesnokova N.P., Romantsov M.G.

Saratov State Medical University, Saratov,

Scientific-technological pharmaceutical company "Polysun", Saint-Petersburg

The development of white rats experimental myocardium ischemia is characterized by stable increasing of the content of lyperoxidation intermediate products in myocardium homogenates and blood serum against the frank inefficiency of enzymatic link of antioxidant system. The further improvement of antiradical defense methods of ischemic myocardium is possible in antioxidants and antihypoxants such as gutimine, olifen, cytophavin complex therapy use.