

Махмудова Ж.А.

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ НОРМОДИПИНА И КОЭНЗИМА Q₁₀ НА ТЕЧЕНИЕ КАТЕХОЛАМИНОВОГО НЕКРОЗА МИОКАРДА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПРЕБЫВАНИИ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГОРЬЯ

Zh.A. Makhmudova

AN EFFECT OF COMBINED APPLICATION OF NORMODIPIN AND COENZYME Q₁₀ ON A COURSE OF CATECHOLAMINE MYOCARDIAL NECROSIS DURING PROLONGED STAYING OF ANIMALS IN HIGH ALTITUDE CONDITIONS

УДК: 548.71.665

Установлено, что комбинированное применение нормодипина и коэнзима Q₁₀ в период длительного пребывания в условиях высокогорья (пер. Туя-Ашу, 3200 м над у.м.) у животных с экспериментальным некрозом миокарда приводит к достоверному снижению уровней внутриклеточных ферментов в сыворотке крови. Морфологические исследования миокарда показали увеличение количества восстановленных кардиомиоцитов.

Ключевые слова: высокогорье, некроз, адреналин, маркерные ферменты, нормодипин, коэнзим Q₁₀

It was found, that combined application of normodipin and coenzyme Q₁₀ during prolonged staying in high altitude conditions (Too-Ashuu Pass, 3200 m above sea level) in animals with experimental myocardial necrosis leads to a significant decrease of levels of intracellular enzymes in blood serum. Morphological studies of myocardium have shown an increase in number of recovered cardiomyocytes.

Key words: high altitude, necrosis, adrenaline, marker enzymes, normodipin, coenzyme Q₁₀

В связи с освоением горных территорий страны непрерывно происходит миграция населения на различные высоты. В горах на организм действует комплекс факторов, доминирующим среди которых является гипоксия [1]. Такие комплексные колебания условий внешней среды отражаются на реакции организма к любым раздражителям, и том числе и к лекарственным препаратам.

Воздействие на организм гипоксического фактора всегда сопряжено с дополнительными энергетическими затратами. Расстройство энергоснабжения сердца в условиях гипоксии является ведущим фактором его повреждения, так как сопровождается нарушением основного окислительного фосфорилирования пути синтеза АТФ в митохондриях. От перестройки источников энергопродукции зависит эффективность приспособительных реакций в сердце. С другой стороны, известно, что высотная гипоксия увеличивает концентрации катехоламинов в крови, которые, действуя опосредованно через аденилатциклазную систему, вызывают входение в миокардиальные клетки Ca²⁺, избыток которого приводит к разобщению окисления с фосфорилированием в митохондриях и снижению синтеза АТФ и креатинфосфата. Одновременно вызванный адренергическим эффектом избыток Ca²⁺ приводит к контрактурным сокращениям миофибрилл и гибели отдельных клеток. В итоге возникают мелкоочаговые

некрозы миокарда, являющиеся следствием чрезмерного адренергического воздействия на сердце [2]. Коррекция интракардиальных механизмов регуляции сердца в настоящее время является одним из ведущих и перспективных методов лечения. Эта коррекция осуществляется комплексом препаратов, объединенных общим названием «антагонисты кальция» [3]. Блокаторы кальциевых каналов являются одним из основных классов препаратов, используемых в современной кардиологии. Особый интерес представляет нормодипин (А/О Геден Рихтер) - представитель III поколения блокаторов кальциевых каналов. Действующее вещество препарата - амлодипин, является антагонистом кальция из группы дигидропиридинов, обладает пролонгированным действием, высокой вазоселективностью.

Поскольку энергетический обмен миокарда в первую очередь реагирует на воздействие гипоксии, важно найти средства для активного влияния на энергетику сердца, позволяющих коррелировать систему биохимической адаптации к гипоксии [4,5]. Одним из средств, который играет ключевую роль в биоэнергетических процессах, является коэнзим Q₁₀

(КоQ₁₀, убихинон) - липидорастворимое соединение из класса бензохинонов. Он является обязательным компонентом дыхательной цепи, функционирует как переносчик электронов в митохондриях, принимая участие в процессах окислительного фосфорилирования и синтеза АТФ. Кроме этого, КоQ₁₀ выполняет в клетках еще одну важную функцию - его восстановленная форма является единственным липофильным антиоксидантом, который синтезируется в клетках животных и человека, а также постоянно регенерируется из окисленной формы с помощью ферментных систем организма. [6, 7].

В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования явилось изучение течения катехоламинового некроза миокарда на фоне комбинированного применения нормодипина и коэнзима Q₁₀ при длительном пребывании животных в условиях высокогорья.

Материалы и методы исследования.

Эксперименты проводились на 36 кроликах массой 2,5 - 3,0 кг на 30-е сутки пребывания в условиях высокогорья (п. Туя-Ашу, 3200 м над у. м.).

Катехоламиновый некроз провоцировался однократным внутривенным введением адреналина из расчета 0,015 мг/кг массы тела в условиях высокогорья. Нормодипин и коэнзим Q_{10} вводились перорально в дозе 1 мг/кг и 2 мг/кг массы тела соответственно 1 раз в сутки через 2 часа после введения адреналина в течение 14 дней.

Животные были разделены на 4 группы: 1- группа, акклиматизированные животные к условиям высокогорья, 2 - группа, кролики с моделированным некрозом миокарда в горах, 3- группа, животные с моделированным некрозом сердечной мышцы, получавшие перорально нормодипин и коэнзим Q_{10} в условиях высокогорья, 4 - группа, животные с моделированным катехоламиновым некрозом миокарда, получавшие плацебо в горах.

Регистрация электрокардиограммы осуществлялась на электрокардиографе -ЭКГТ во II отведении. Скорость протяжки ленты была 50 мм/сек. ЭКГ регистрировалась на 30-е сутки пребывания в горах здоровых животных, а также через 6 часов после моделирования повреждения сердечной мышцы на 30-е сутки пребывания в условиях высокогорья.

У всех перечисленных групп до и после эксперимента определялся ряд кардиоспецифических маркеров: количественное определение креатинфосфокиназы – МВ фракции в сыворотке крови «Диагностическими наборами для определения КФК-МВ» на автоанализаторе «SYNCHRON – СХ4» фирмы «BECKMAN COULTER» через 6 часов после введения адреналина.

Количественное определение концентрации аспаратаминотрансферазы (АсАТ) в сыворотке крови наборами реагентов «Аминотрансфераза АСТ 360» фирмы PLIVA–LachemaDiagnostika» на фотоэлектроколориметре.

Количественное определение концентрации тропонина I наборами реагентов «Тропонин I –ИФА» ООО «ХЕМА» г. Москвы в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа.

После перорального введения нормодипина в сочетании с Ко Q_{10} животным в сыворотке крови нами определялись только аспаратаминотрансфераза и тропонин. Поскольку КФК-МВ относится к «ранним» маркерам и, при повреждении миокарда,

диагностический значимо повышается в первые часы заболевания, определять ее после 2-х недельного лечения было бы нецелесообразно.

Для того, чтобы исследовать морфологию миокарда, нами был взят материал у интактных кроликов 1- группы на 30-е сутки пребывания в условиях высокогорья, у животных 2- группы через 48 часов после введения адреналина (на 32-е сутки), у подопытных кроликов, получавших нормодипин и коэнзим Q_{10} (3-гр.) и получавших плацебо (4 гр.) нами был взят материал на 45-е сутки пребывания животных в условия высокогорья.

Взятый материал фиксировался в 4% растворе формалина в фосфатном буфере pH=7,4 0,2М. После обезвоживания объекты заливались в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм окрашивались гематоксилин-эозином по Эрлиху для выявления площади поражения (кардионекроза) и площади контрактурных повреждений. Исследование проводилось методом точечного счета с помощью окулярной морфометрической сетки [8].

Статистическая обработка материала проводилась методом вариационной статистики с помощью компьютерных программных пакетов STATIST и MICROSOFT EXCEL. Разницу средних величин оценивали по t-критерию Стьюдента и вероятности Р.

Результаты собственных исследований

Креатинфосфокиназа. У животных, которые получили внутривенно адреналин, по сравнению с интактной группой отмечалось повышение с $134,6 \pm 17,3$ до $475,8 \pm 37,0$ МЕ ($p < 0,001$).

Аспаратаминотрансфераза. У акклиматизированных животных после введения адреналина гидрохлорида по сравнению с акклиматизированными интактными животными уровень АсАТ повысился с $0,11 \pm 0,01$ до $0,17 \pm 0,01$ мкмоль/л ($p < 0,001$). У кроликов получавших нормодипин в сочетании с Ко Q_{10} отмечалось снижение уровня аспаратаминотрансферазы с $0,17 \pm 0,01$ до $0,08 \pm 0,004$ мкмоль/л ($p < 0,001$).

У животных получавших плацебо также наблюдалось снижение АсАТ до верхнего предела физиологической нормы с $0,17 \pm 0,01$ до $0,13 \pm 0,004$ мкмоль/л.

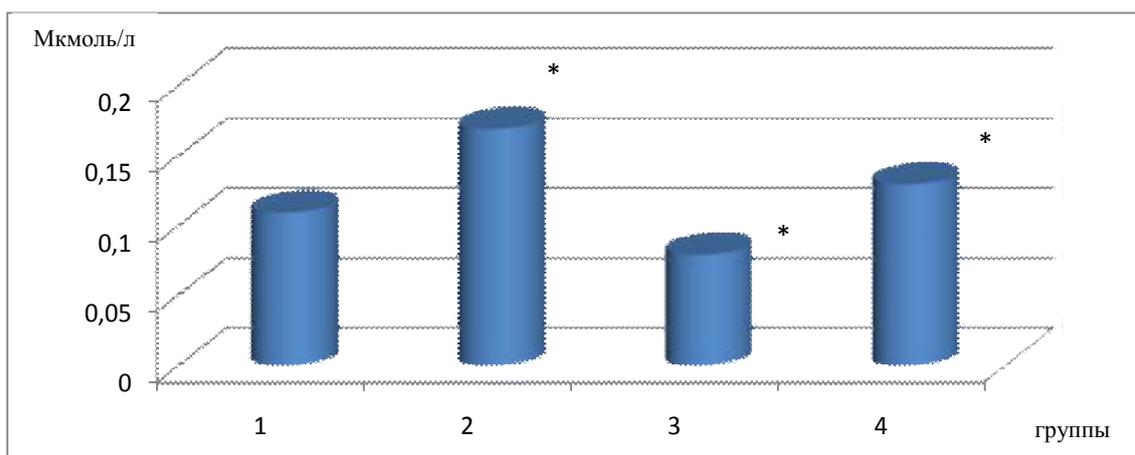


Рис.1 Количество АсАТ в сыворотке крови у контрольных и подопытных кроликов при моделировании катехоламинового некроза миокарда в условиях высокогорья (30-день) после лечения нормодипином и КоQ₁₀.

Примечание: * $p < 0,001$ при сравнении 2 гр. с 1 гр.; 3 гр. с 2 гр.; 4 гр. с 2 гр.;

Тропонин I. У акклиматизированных кроликов, получавших адреналин по сравнению с животными прошедшими акклиматизацию к условиям высокогорья в течение 30 суток, отмечалось повышение количества тропонина I с $0,83 \pm 0,09$ до $0,47 \pm 0,02$ нг/мл. У животных получавших комбинированно-нормодипин с коэнзимом Q₁₀ наблюдалось снижение

тропонина I с $2,31 \pm 0,15$ до $0,47 \pm 0,02$ нг/мл. Определение тропонина I у акклиматизированных кроликов получавших в течение двух недель плацебо, показало также снижение кардиоспецифического маркера с $2,31 \pm 0,15$ до $0,91 \pm 0,01$ нг/мл, но по сравнению с кроликами получавших лечение ($0,47 \pm 0,02$) к-во тропонина I оставалось в 2 раза выше ($0,91 \pm 0,01$).

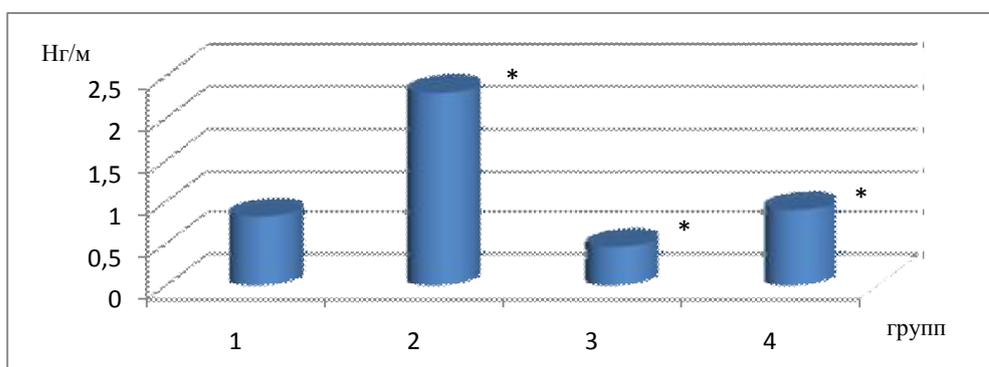


Рис.2. Количество тропонина I в сыворотке крови у контрольных и подопытных кроликов при моделировании катехоламинового некроза миокарда в условиях высокогорья на 30-е сутки после лечения нормодипином и КоQ₁₀

Примечание: * $p < 0,001$ при сравнении 2 гр. с 1 гр.; 3 гр. с 2 гр.; 4 гр. с 2 гр.

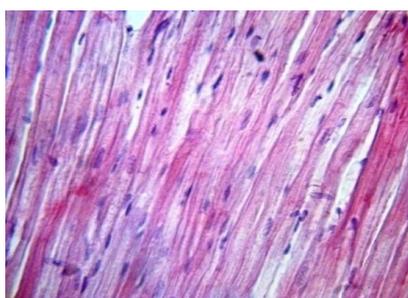
Морфологическое исследование миокарда у интактных кроликов на 30-е сутки пребывания в условиях высокогорья показало, что очаги некроза в миокарде отсутствуют. Ядра кардиомиоцитов отчетливо выражены, миофибриллы имеют поперечную исчерченность. Отсутствие очагов некроза свидетельствуют о повышении устойчивости миокарда к токсическим дозам адреналина, обусловленных усилением гиперпластической реакции в миокардиальных клетках при длительном воздействии высокогорной гипоксии и нормодипина (рис 3-А).

Исследование миокарда у акклиматизированных кроликов после введения адреналина показало, что в сердечной мышце выраженные очаги некроза отсутствуют. В отдельных кардиомиоцитах имеются

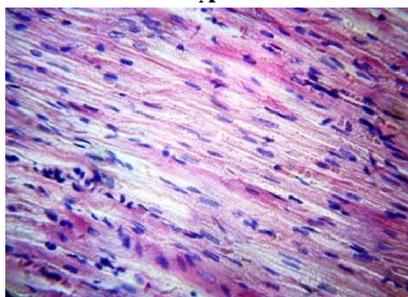
такие явления микронекроза, как сморщивания ядра и лизис миофибрилл (рис 3-Б).

У подопытных животных на фоне применения нормодипина в сочетании коэнзим Q₁₀ показало, что кардиомиоциты увеличены в размере, ядро с хорошо выраженными ядрышками. В миофибриллах хорошо выражена поперечная исчерченность. Признаки дистрофии некробиоза отсутствуют (рис. 3-В).

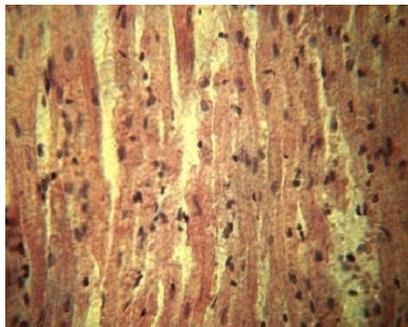
У кроликов, получавших плацебо видны небольшие участки разрастания соединительной ткани. Большинство кардиомиоцитов имеют сформированную структуру среди разрастаний соединительной ткани, видны очаги лимфогистиоцитарной инфильтрации (рис. 3-Г).



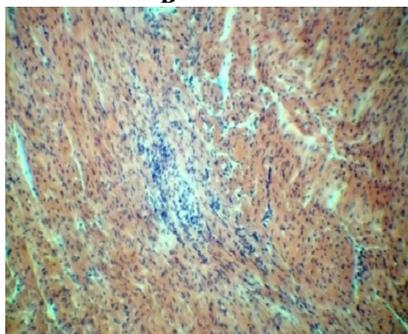
А



Б



В



Г

Рис. 3. Миокард интактных и подопытных кроликов при длительной акклиматизации к условиям высокогорья. Окраска гематоксилин-эозином. X

А – миокард интактных кроликов на 30-е сутки пребывания в горах

Б – миокард акклиматизированных кроликов после введения адреналина

В – миокард акклиматизированных кроликов, получавших нормодипин и коэнзим Q₁₀

Г – миокард акклиматизированных кроликов, получавших плацебо

Таким образом, после введения адреналина на 30-е сутки пребывания животных в условиях высокогорья наблюдалось повышение уровней кардиоспецифических маркеров в сыворотке крови, которое свидетельствовало о повреждении миокарда с дальнейшим развитием некроза сердечной мышцы. Эти изменения в миокарде подтверждались морфологическими исследованиями: выявлены отек миокарда и многочисленные микронекрозы.

Таким образом, после комбинированного применения нормодипина и КоQ₁₀ у животных с модельной патологией миокарда отмечалось достоверное снижение уровней внутриклеточных ферментов в сыворотке крови. Морфологические исследования миокарда показали увеличение количества кардиомиоцитов с восстановленными структурами.

Литература:

1. Миррахимов М.М., Мейманалиев Т.С. Высокогорная кардиология. -1980. - С. 63-65.
2. 6. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. М.Наука.-1981.
3. -С.235-23.
4. Ольбинская Л.И., Литвицкий П.Ф. Коронарная и миокардальная недостаточность. Издательство «Медицина». Москва. -1986.-С.159-160, 203.
5. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А. Коновалова Г.Г., Медведев О.С. и др. КоэнзимQ₁₀: Длительное введение и отмена. Фармакология: эксперимент и клиника, -2009. - №2.- С 42-43.
6. Кучменко Е.Б., Петухов Д.Н. Влияние комплексов предшественников и модуляторов биосинтеза кофермента Q на функциональное состояние митохондрий сердца старых крыс. // Биомедицинская химия. -Москва. -2010 – Том 56.- Выпуск 2. -С.244-250.
7. Аронов Д.М. Что важно знать практическому врачу об убихиноне(коэнзимеQ₁₀). //Русский медицинский журнал. - 2006, 14(4).-С. 223-230
8. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Коновалова Г.Г., Медведев О.С., Руге Э.К., Ланкин В.З. Влияние длительного ведения и последующей отмены коэнзима Q₁₀ на его содержание в миокарде и сыворотке крови крыс. //Фармация.- 2009.-№2.-С.42-44.
9. Автандилов Г.Г. Введение в количественную патологическую морфологию. – М. Медицина. -1980.-С.213.

Рецензент: к.биол.н., доцент Бозумова К.А.