

ЕЛЕКТРОННО-МІКРОСКОПІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ІШЕМІЗОВАНИХ КАРДІОМІОЦИТІВ ДО ТА ПІСЛЯ ЛІКУВАННЯ КОМПЛЕКСОМ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН З ЧИНИ ПОСІВНОЇ

В.А.Волковой

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: комплекс БАР з чини посівної; кардіоміоцити; лантан; електронна мікроскопія; ішемія

Наведені результати дослідження впливу комплексу БАР з чини посівної на морфологію серця собак при експериментальній гострій регіонарній ішемії міокарда. Порушення серцевого ритму — найбільш часті тяжкі ускладнення серцево-судинних захворювань, які не завжди можна попередити лікарськими засобами. Пошук нових більш ефективних засобів продовжується. Дослід проводили на 12 статевозрілих собаках. Під впливом гострої ішемії міокарда в кардіоміоцитах розвивалися зміни на рівні мембрани. Найбільш яскраво ці зміни проявились у тварин, які не отримували комплексу БАР з чини посівної, про що свідчить проникнення лантану у кардіоміоцити. Внутрішньовенне введення латифену в дозі 40 мг/кг значно покращує морфологічний стан кардіоміоцитів. Одержані результати свідчать про перспективність створення лікарського засобу для лікування захворювань серця.

Профілактика та лікування захворювань серцево-судинної системи є однією з актуальних проблем сучасної медицини. Порушення серцевого ритму — найбільш часті тяжкі ускладнення серцево-судинних захворювань [1, 5, 6]. Арсенал лікарських засобів для лікування серцево-судинних захворювань достатній, але багато з них мають побічну дію, тому пошук препаратів цієї групи продовжується. У НФаУ був розроблений комплекс БАР з чини посівної з антиаритмічною дією [2, 7, 8].

Метою даної роботи є оцінка ультраструктури кардіоміоцитів на моделі експериментальної гострої ішемії міокарда під впливом комплексу БАР з чини посівної (умовна назва “Латифен”).

Матеріали та методи

Ультраструктурні зміни, які розвиваються у кардіоміоцитах (КМЦ) при ішемії, неоднорідні, що робить складнішим електронно-мік-

роскопічний скринінг ефективності кардіозахисної дії лікарських речовин. Відомо, що порушення ритму серця при ішемії пов'язані з електрофізіологічними змінами на рівні мембран КМЦ. Це дозволяє дати оцінку ефективності кардіозахисної дії латифену та пов'язувати зі змінами сарколеми. Найбільш зручним у теперішній час маркером дефектів сарколеми на рівні ультраструктури є лантан, так як цей трейсер у різних модифікаціях може бути використаний одночасно з фіксацією матеріалу. З метою вивчення впливу латифену на ультраструктурні зміни в міокарді при ішемії було проведено три серії експериментів на собаках: у першій з них було вивчено вплив тригодинної гострої ішемії на ультраструктуру міокарда (позитивний контроль); у другій досліджували вплив профілактичного введення латифену (40 мг/кг, внутрішньовенно) за 5 хв до оклюзії; у третій — вплив

лікувального введення латифену (40 мг/кг, внутрішньовенно) через 60 хв від початку оклюзії [9, 10]. У якості контролю був вибраний аналогічний матеріал, взятий у інтактних собак (інтактний контроль). Всього було досліджено 12 собак (по 3 у кожній дослідній групі).

Гостру ішемію міокарда відтворювали в анестезованих тварин (небутал 30 мг/кг маси тварини внутрішньовенно) за методом Харіс. У анестезованих собак серце швидко діставали з грудної клітини та поміщали у холодний (на льоду) ізотонічний оксигенований розчин хлористого калію. Матеріал брали через 2-3 хв після повного розслаблення серця. Шматочки тканини, що містять одразу ендокард та субендокардіальні шари міокарда, вирізали з заднього папілярного м'яза — зони глибокої ішемії та переднього папілярного м'яза — неішемізованої зони [3, 4].

Усі зразки тканин фіксували у 3,5% розчину глутарового альдегіду на 0,1 М какодилатному буфері з додаванням 1-2% нітра-

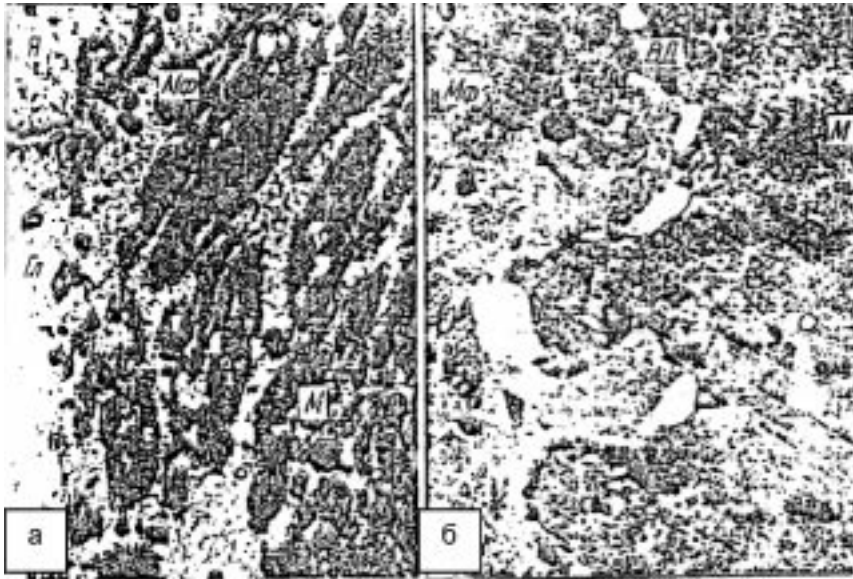


Рис. 1. Субендокардіальна клітина Пуркінє з папілярного м'яза лівого шлуночка серця собаки: а — в нормі (у саркоплазмі клітини поблизу ядра (Я) видно дрібні мітохондрії (М), пучки міофібрил (Мф) і численні гранули глікогену (Гл)); б — при перев'язці коронарної артерії з подальшою ішемією (розбіжність структур вставного диску (ВД — вказано стрілкою), міофібрил (Мф), мітохондрій (М)). ЕГ. x 10000

ту лантану в іонній формі (рН фіксатора доводили до 7,4 за допомогою розчину гідроокису натрію). Матеріал фіксували в глутаровому альдегіді до 24 годин з наступною дофіксацією в осмієвій кислоті (нітрат лантану аналогічним чином додавали і в осмієвий фіксатор), занурювали у суміш епон-аралдит [12]. Зрізи виготов-

ляли на ультрамікромомі УМТП-5, переглядали на електронному мікроскопі ЭМВ-100 АК при прискорюючій напрузі 50,75 кВ.

Результати та їх обговорення

Як показав електронно-мікроскопічний аналіз, після тригодинної ішемії у собак з групи пози-



Рис. 2. Субендокардіальна клітина Пуркінє з папілярного м'яза лівого шлуночка серця собаки при профілактичному введенні латифену і перев'язці коронарної артерії з подальшою ішемією. Клітина виглядає незмінною, лантан забарвлює сарколему з боку глікокаліксу (стрілка) і не проникає в саркоплазму. М — мітохондрії, S — сарколема, SR — саркоплазматичний ретикулум. ЕГ. x 15000

тивного контролю в ішемізованих зонах субендокарда виявляється набряк саркоплазми КМЦ (клітин Пуркінє), зниження кількості гранул глікогену до повної елімінації, виникнення великих вакуолей, які утворюються як з дилатованого саркоплазматичного ретикулуму, так і з загиблих різко набряклих мітохондрій. Особливо виражений був набряк навколоядерної саркоплазми, відмічался зміни хроматину в ядрах КМЦ, а також зустрічалися КМЦ з незмінною структурою. Іонний лантан можна було бачити як на межі КМЦ, так і всередині їх саркоплазми, а також у мітохондріях незворотно змінених КМЦ (рис. 1). Отримані дані співпадають з даними літератури [11, 13].

Через 3 години ішемії у неішемізованих відділах субендокарда відмічались КМЦ з локальним набряком саркоплазми та елімінацією глікогену. В більшості клітин міокарда ультраструктура мітохондрій була практично інтактною, хроматин у ядрі мав нормальне розташування. Зустрічались місця перескорочень, де сарколема глибоко вдавалась в КМЦ. Іонний лантан в основному розташовувався на границі КМЦ та в субсарколемальних везикулах, а в окремих клітинах намічалася наявність лантану всередині КМЦ та мітохондрій.

Профілактичне введення латифену за 5 хв до перев'язки коронарної артерії з наступною тригодинною ішемією дозволило виявити захисну дію латифену проти ішемічного ушкодження. В зонах ішемізованого субендокарда в КМЦ відмічалась практично інтактна ультраструктура більшості мітохондрій, кількості глікогену та його розподілення в КМЦ, стан міофібрил також відповідав нормі. Ядра КМЦ мали інтактне розташування хроматину як в ішемізованому, так і в неішемізованому субендокарді. При профілактичному введенні препарату іонний лантан не проникав у КМЦ (рис. 2).

При лікувальному введенні латифену через 60 хв після оклюзії в зоні ішемізованого субендокар-

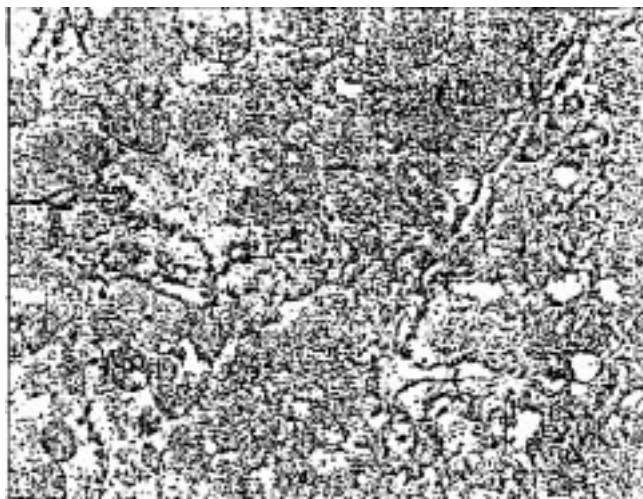


Рис. 3. Кардіоміоцит субендокарда з папілярного м'яза лівого шлуночка серця лікованої латифеном собаки через 60 хв після перев'язки коронарної артерії з подальшою ішемією. Незначний набряк мітохондрій. Лантан спостерігається поза клітиною на вставних дисках. ЕГ. х 15000

да з'явилися в КМЦ незначні зони просвітлення та набряку між- фібрилярного проміжку, незначне зниження глікогену, з'явилися

окремі ліпідні включення, лізосоми, невеликі вакуолі з позбавлених крист мітохондрій, хоча основна маса мітохондрій мала інтактну структуру. У неішемізованому субендокарді ультраструктура КМЦ відповідала нормі (спостерігалось нормальне розподілення хроматину в ядрах, поодинокі зони просвітлення саркоплазми, мітохондрії мали інтактний вигляд). Як в ішемізованому субендокарді, так і в неішемізованих його частинах іонний лантан не проходив крізь сарколему КМЦ, а накопичувався на межі клітин, а також спостерігався в субсарколемальних везикулах (рис. 3).

ВИСНОВОК

Проведені дослідження дозволяють констатувати, що латифен проявляє кардіозахисну дію при ішемії міокарда в результаті профілактичної і лікувальної дії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бобров В.А., Долженко М.Н., Довганич Н.В. //Укр. кардіол. журн. — 2003. — №4. — С. 103-107.
2. Ковалев В.Н., Шестко І.Э., Карпенко В.А. //Химия природ. соедин. — 1991. — №3. — С. 424-425.
3. Методические рекомендации по экспериментальному и клиническому изучению антиаритмических средств /Под ред. В.С.Даниленко. — К., 1996. — 76 с.
4. Пальцев М.А., Аничков Н.М. Патологическая анатомия. — М.: Медицина, 2001. — 944 с.
5. Шараєва М.Л. //Укр. кардіол. журн. — 2003. — №2. — С. 67-70.
6. Bourke J.P., Campbell R.W., McComb J.M. et al. //Heart. — 1999. — Vol. 82, №2. — P. 156-162.
7. Braunwald E. Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine / Ed. E.Braunwald. — 6-th Ed. — Philadelphia: Saunders, 2001. — 876 p.
8. El-Sherif N., Turitto G. //Curr. Opin. Cardiol. — 2003. — Vol. 18. — P. 6-13.
9. Josephson M.E. Clinical cardiac electrophysiology: techniques and interpretations. — Philadelphia, 2002. — 679 p.
10. Lai L.P., Su M.J., Yeh H.M. et al. //Am. Heart J. — 2002. — Vol. 144. — P. 485-490.
11. Molenhauer H.H. //J. Biophys., Biochem. Cyt. — 1959. — Vol. 6. — P. 431-436.
12. Sharov V.G., Beskrovnova N.N., Kryzhanovsky S.A. // Virch. Arch. B. — 1989. — Vol. 57. — P. 131-139.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Мельникова, 12. Тел. (57) 706-30-73.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 22.09.2009 р.