

УДК 616.091.8

© Камінський Р.Ф., Колесова Н.А., Чайковський Ю.Б., 2010

ОКИСНО-ВІДНОВНІ ПРОЦЕСИ ЯК ОСНОВА РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН МІОКАРДА ТА ВАЖЛИВА ЛАНКА ЛІКУВАЛЬНОЇ ДІЇ ФАРМПРЕПАРАТІВ ЗА ХРОНІЧНОЇ РТУТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ Камінський Р.Ф., Колесова Н.А., Чайковський Ю.Б.

Національний Медичний Університет ім. О. О. Богомольця

Камінський Р.Ф., Колесова Н.А., Чайковський Ю.Б. Окисно-відновні процеси як основа розвитку патологічних змін міокарда та важлива ланка лікувальної дії фармпрепаратів за хронічної ртутної інтоксикації // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 81-84.

В експерименті на щурах лінії Вістар (n=35) патоморфологічними та гістохімічними методами встановлені особливості структурних змін і енергозабезпечення міокарда при умовах хронічного впливу хлориду ртуті. Встановлено, що в основі розвитку патологічних змін в міокарді щурів в таких умовах лежать глибокі порушення енергетичного обміну в кардіоміоцитах, що проявляються зниженням активності ферментів тканинного дихання і термінального окислення з паралельним підвищенням рівня гліколітичних процесів, що відображає процес формування тканинної гіпоксії та погіршує трофіку серця. Патогенетично спрямована фармакотерапія таких змін є комплексне застосування унітіолу (універсального антидоту при отруєнні солями важких металів) та кверцетину (препарату метаболічного типу дії, антиоксиданта, антигіпоксанта і мембранопротектора), що забезпечує оптимізацію енергетичних процесів і структури, які вірогідно не відрізняються від рівня контрольних показників.

Ключові слова: унітіол, кверцетин, хронічна ртутна інтоксикація, щури.

Камінський Р.Ф., Колесова Н.А., Чайковський Ю.Б. Окисно-відновні процеси як основа розвитку патологічних змін міокарда та важлива ланка лікувальної дії фармпрепаратів за хронічної ртутної інтоксикації // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 81-84.

В експерименте на крысах линии Вистар (n=35) патоморфологическими и гистохимическими методами установлены особенности структурных изменений и энергообеспечения миокарда при условиях хронического влияния хлорида ртути. Установлено что в основе развития патологических изменений в миокарде крыс при таких условиях лежат глубокие нарушения энергетического обмена в кардиомиоцитах которые проявляются снижением активности ферментов тканевого дыхания и терминального окисления с параллельным повышением уровня гликолитических процессов, что отображает процесс формирования тканевой гипоксии и ухудшает трофику сердца. Патогенетически направленная фармакотерапия таких изменений есть комплексное использование унитиола (универсального антидота при отравлении солями тяжелых металлов) и кверцетина (препарата метаболического типа действия, антиоксиданта, антигипоксанта и мембранопротектора), что обеспечивает оптимизацию энергетических процессов и структуры, которые вероятно не отличаются от уровня контрольных показателей.

Ключевые слова: унитиол, кверцетин, хроническая ртутная интоксикация, крысы.

Kaminskyy R.F., Kolesova N.A., Chaikovskyy Yu.B. Oxidizing renewal processes as the base of the development of pathological changes of myocardium and the important link of the medical action of pharmacological medicines at chronic mercury intoxication // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 81-84.

In the experiments on rats of Vistar line (n=35) by pathomorphological and histochemical methods the peculiarities of structural changes and energy supply of myocardium were determined under the conditions of chronic influence of mercury chloride. It has been determined that at the heart of the development of pathological changes in myocardium of rats under such conditions there are deep abnormalities of energy exchange in cardiac myocyte, which become apparent in the reduction of the activity of the ferments of tissular breath and terminal oxidation with the parallel rise of the level of the glycolytic processes which represent the forming of tissular hypoxia and make worse the trophism of a myocardium. Patogenetically directed pharmacotherapy of such changes are the complex use of utinol (universal antidote by poisoning with salts of heavy metals) and guerretin (medicine of metabolic type of action, antihypoxant and membrane protector) that guarantees the optimization of energy process and structures which probably don't differ from the level of planned indices.

Key words: chronical mercury intoxication, utinol, guerretin.

Однією з актуальних проблем кардіології є встановлення основних механізмів розвитку патологічних змін міокарда за дії на організм шкідливих факторів різної природи. Це важливо з точки зору подальшої розробки патогенетично направленої раціональної фармакотерапії. З літератури відомо, що в генезі багатьох захворювань серцево-судинної системи (атеросклерозу, коронаросклерозу, стенокардії, інфаркту міокарда), поширеність яких неухильно зростає, велике значення має посилення біологічних ефектів малих доз ксенобіотиків в умовах поєднаної дії на організм людини шкідливих хімічних факторів довкілля, серед яких чільне місце займає ртуть та її сполуки. Останні можуть викликати розвиток в організмі як гострих, так і хронічних отруєнь, за яких страждають різні життєво важливі органи і системи. Шляхи надходження в організм ртуті та її сполук можуть бути різними, але виведення її, головним чином,

відбувається через нирки, та кишечник. В зв'язку з цим і вивчення патологічних ефектів ртуті було переважно присвячене нирками, шлунково-кишковому тракту, центральній нервовій системі і менше – іншим органам.

Відомо також, що в механізмах дії ртуті велике значення має блокування нею сульфгідрильних груп окисно-відновних ферментів та шкідливий вплив на енергетичний обмін. До тканин з вираженою енергозалежністю, як відомо, відноситься і міокард, оскільки серцевий м'яз дуже чутливий до дефіциту кисню і реагує на його нестачу перебудовою біохімічних процесів, аж до переходу на анаеробний шлях енергоутворення. Механічна активність серцевого м'яза лінійно пов'язана зі швидкістю поглинання кисню міокардом. За підвищення скоротливої активності пропорційно збільшується і поглинання кисню. Тому в механізмах розвитку патологічних змін міокарда

за дії ртуті та її сполук важливе місце займає трофічне забезпечення кардіоміоцитів, яке тісно пов'язане зі станом судин, особливо гемомікроциркуляторного русла, стан якого за цих умов потребує подальшого вивчення. Енергетичні запаси кардіоміоцитів переважно залежать від АТФ, 90% якого виробляється при окислювальному фосфорилуванні в мітохондріях, а потім використовується на різні процеси: скорочення міофібрил, роботу кальцієвого насоса, роботу мембранного натрій – калієвого насоса, функціонування калієвих каналів, синтетичні процеси та ін..

Біоенергетика міокарда в фізіологічних умовах обумовлена темпами окиснення субстратів переважно в циклі Кребса. Однак, в умовах недостатнього забезпечення киснем цей енергетичний цикл порушується, а молочна кислота не утилізується. Дефіцит АТФ значно підвищує можливість розвитку фібриляції шлуночків і пов'язаних з нею патологічних змін міокарда. Але в літературі недостатньо даних щодо трофічного та енергетичного забезпечення функціональної активності міокарда за токсичної дії на організм ртуті та її сполук, це обумовлює необхідність подальшого вивчення цих процесів як для конкретизації основних механізмів розвитку патології серця, так і для оптимізації профілактичних та лікувальних заходів у таких пацієнтів.

Метою даної роботи стало патоморфологічне та гістохімічне дослідження різних ланцюгів енергоутворення в міокарді за дії хлориду ртуті, а також обґрунтування можливості застосування фармакологічних препаратів, дія яких наситить чіткий патогенетичний вплив на зміни в серці, за таких умов.

Матеріал та методи дослідження. Морфологічні дослідження проведені на 35 щурах самцях лінії Вістар з масою тіла 150-170г з додержанням міжнародних принципів Європейської конвенції з захисту тварин, які використовуються з науковою метою (Страсбург, 1985) та згідно з «Правилами виконання робіт з використанням експериментальних тварин», затвердженими наказом МОЗ України. Всі тварини були поділені на п'ять груп. Перша група контрольна група. Патоморфологічні та гістохімічні дослідження проведені на серці щурів, котрим протягом двох тижнів внутрішньочеревно вводили розчин хлориду ртуті в дозі 0,01 LD₅₀ (2 група), а потім внутрішньочеревно вводили унітіол в дозі 0,01 на 100 г маси тіла (3 група), розчин кверцетину в дозі 0,001 на 100 г маси тіла (4 група), а також одночасно унітіол і кверцетин в тому ж дозуванні (5 група); всі фармпрепарати вводили на протязі двох тижнів. Через два тижні робили забір матеріалу. Тварин забивали декапітацією.

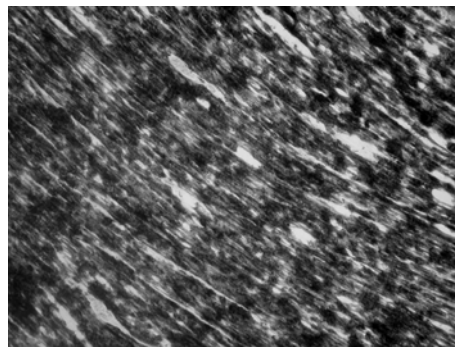
Для патоморфологічних досліджень серця фіксували в 10% нейтральному формаліні і після стандартної обробки, заливали в парафін. Зрізи товщиною 7 мкм фарбували гематоксиліном і еозином, за ван Гізонам. На них також гістохімічно вивчали вміст і розподіл нейтральних глікопротеїнів та глікогену (PAS – реакція за Мак Манасом, контроль з амілазою).

Активність окисно-відновних ферментів вивчали гістохімічно на свіжозаморожених в рідкому азоті зрізах серця, які виготовляли в кристаті: (сукцинатдегідрогенази (СДГ) – за Нахласом і співавт., лактатдегідрогенази (ЛДГ) – за Гессе, Скарпелі і Пірсом, НАД – НАДГ за Фарбером. Активність ферментів вивчали напівкількісно з подальшою обробкою цифрового матеріалу загальноприйнятими способами статисти-

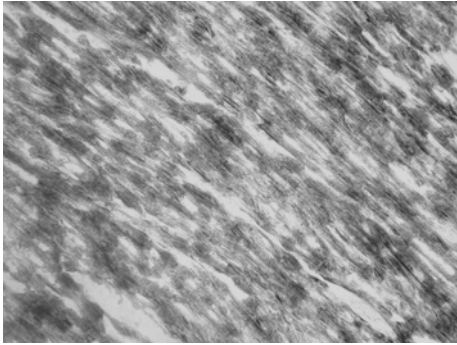
чного аналізу.

Результати дослідження та їх обговорення. Мікроскопічне дослідження міокарда щурів з хронічною ртутною інтоксикацією виявило наявність комплексу патологічних змін. Встановлене посилення проникності стінок всіх відділів гемомікроциркуляторного русла та помірний периваскулярний набряк. Ендотелій мікросудин з набряком, різною мірою дистрофічно змінений аж до вогнищевої десквамації. Підендотеліальні базальні мембрани капілярів та венул з нерівномірним набряком, розпушені. Діаметри дрібних гілок внутрішньоорганічних кінцевих артерій і артеріол децю розширені, просвіти кровонаповнені. Пухка сполучна тканина всіх відділів серця з набряком, розпушена. Клітинні сполучнотканинні елементи переважно звичайної форми та кількості. Токсична дія хлориду ртуті обумовлює гетерогенність ушкодження кардіоміоцитів. Більша частина їх з ознаками нерівномірного набряку, міофібрили частіше підвищено еозинофільні, розпушені, або вогнищево перескорочені; в деяких місцях саркоплазми виявляються дрібні вакуолі. Ядерний апарат кардіоміоцитів змінений неоднозначно: частина ядер нерівномірно збільшена в розмірах, гіпохромна, інші – нерівномірно пікноморфні, гіперхромні, зустрічається нерівномірний перинуклеарний набряк. Структурні ушкодження міокарда в умовах хронічної ртутної інтоксикації охоплюють всі відділи правого і лівого серця. Децю більше виражені патологічні зміни в лівому шлуночку, особливо в області верхівки серця, де гірше виявляється посмугованість міокарда та посилені інші описані мікроскопічні зміни. Виявляються початкові ознаки розвитку фіброзу інтерстиція і формування кардіосклерозу.

Енергетичний обмін в міокарді тварин цієї групи суттєво змінений. Перш за все, відмічається нерівномірне зниження активності СДГ в кардіоміоцитах всіх відділів серця (Рис. 1, 2). Фермент гістохімічно виявляється зменшеною кількістю зерен диформазана, розміри котрих коливаються від помірних до дрібних. Темно-сині зерна диформазану в більшості кардіоміоцитів розташовані вздовж міофібрил. Однак виявляються і крупнозернисті фокуси кінцевого продукту реакції, розташовані дифузно в саркоплазмі, а в місцях контрактурних змін вони зливаються в більшші конгломерати. В цілому активність СДГ в міокарді щурів цієї серії вірогідно знижена до $2,1 \pm 0,02$ одиниць активності, проти $2,8 \pm 0,02$ одиниць активності в контролі. Таке зниження активності СДГ співпадає з посиленням в саркоплазмі кардіоміоцитів фонові реакції.



Має. 1. Висока активність в СДГ в кардіоміоцитах щура контрольної групи. Реакція за Нахласом, ок. 10, об. 20.



Мал. 2. Знижена активність СДГ в кардіоміоцитах щура з хронічною ртутною інтоксикацією унітіолу та кверцетину.

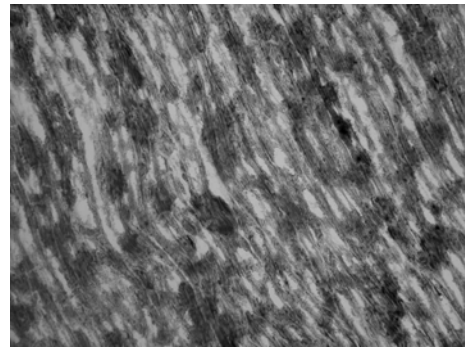
Паралельно зі зниженням активності СДГ в міокарді всіх відділів серця білих щурів цієї серії експерименту виявляється вірогідне підсилення активності гліколітичних процесів, що документується збільшенням кількості лінійного та зернистого диформазану при гістохімічному виявленні ЛДГ ($2,65 \pm 0,01$ одиниць активності проти $2,15 \pm 0,02$ одиниць активності в контролі). Фермент виявляється темносиніми зернами диформазану, розташованими вздовж міофібрил, а також локально збільшеними зернами диформазану, що зливаються в грудочки. Під впливом хлориду ртуті знижується і активність ферментів термінального окиснення – НАД – н ДГ, котра гістохімічно виявляється мозаїчним зменшенням кількості зерен диформазану в саркоплазмі кардіоміоцитів всіх відділів серця за одночасного нерівномірного збільшення їхніх розмірів та злігття. Активність НАД – м ДГ знижується з $2,75 \pm 0,02$ одиниць активності до $2,2 \pm 0,03$ одиниць активності за паралельного підсилення фонові реакції.

Така динаміка енергетичного обміну (зниження рівня активності ферментів дихання і термінального окиснення за посилення гліколітичних процесів в комплексі з виявленими структурними змінами дрібних гілочок вільцевих судин та судин гемомікроциркуляторного русла може відобразити розвиток в міокарді за хронічної ртутної інтоксикації ознак тканинної гіпоксії. Це свідчить про ураження за таких умов мітохондріального апарату, підсилення проникності його мембран, про що свідчить посилена фонові реакція при гістохімічному виявленні активності СДГ і НАД – м ДГ та зниження їхньої активності.

У тварин 3 групи мікроскопічні дослідження показали зменшення ступеня патологічних змін всіх структур міокарда. Судини гемомікроциркуляторного русла і дрібні гілочки інтраорганичних вільцевих артерій мають досить рівномірний діаметр просвіту, близький до показників контролю. Структура ендотелія і підендотеліальної базальної мембрани артерій, капілярів і венул з менш виразними морфологічними порушеннями: Знижений ступінь набряку і дистрофічних змін, знижена проникність стінок капілярів та венул, знижений ступінь периваскулярного набряку. Пухка проміжна сполучна тканина на за структурою наближається до рівня контролю. В кардіоміоцитах краще визначається поперечна посмугованість в усіх відділах серця. Разом з тим, локально, зберігаються набряки саркоплазми. Ядерний апарат гетерогенний: від звичайної структури, яка превалює, до ядер з ознаками набряку та гіпоморфних змін, ступінь котрих зменшений. В той же час,

потрібно підкреслити, що у цієї групи експериментальних тварин в міокарді частково залишаються патологічні зміни, на котрі унітіол в застосованому дозуванні вагомому впливу не зробив і структура міокарда в цілому не досягла контрольних показників.

Що стосується енергетичного обміну, то за дії унітіола його показники мають стійку тенденцію до нормалізації, однак висхідні показники не були досягнуті. Активність СДГ підвищилась: за її гістохімічного вивчення визначається збільшена, порівняно з показниками групи тварин з хронічною дією хлориду ртуті, кількість рівномірного розміру зерен диформазану, зменшений ступінь фонові реакції, а гістохімічний показник активності досягає $2,55 \pm 0,03$ одиниць активності (Рис. 3). Така ж динаміка активності НАД – м ДГ, рівень якої досягає $2,45 \pm 0,02$ одиниць активності.



Мал. 3. Підвищена активність СДГ після введення щурам з хронічною ртутною інтоксикацією унітіола.

Зерна диформазану за її виявлення більш рівномірного розміру, розташовані переважно вздовж міофібрил, однак їхня кількість не досягає показників контрольної групи.

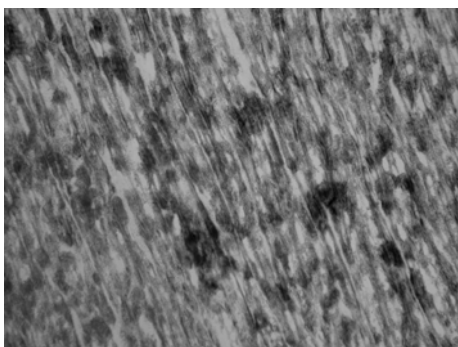
Активність ЛДГ за дії унітіола, навпроти, дещо знижується; зерна диформазану більш рівномірно розподілені по ходу міофібрил. Однак, контрольного рівня її активності не досягає і залишається підвищеною по відношенню до контролю: $2,40 \pm 0,02$ одиниць активності.

Таким чином, унітіол, будучи універсальним антидотом за дії ртуті, зменшує ступінь структурних і метаболічних змін міокарда, рівень котрих однак, не досягає контрольних показників.

Що стосується оцінки дії введення кверцетину (4 група) на стан метаболізму і структури міокарда у білих щурів за хронічного впливу хлориду ртуті, то дослідження показали, що він не призводить до суттєвої нормалізуючої дії, особливо на структуру міокарда. Після його використання залишається більшість морфологічних ознак патології серця як в судинному руслі та інтерстиції, так і в кардіоміоцитах. Залишається значна гетерогенність ушкодження всіх структур міокарда, в якому співпадають мікроскопічні ознаки набряку, котрактурних та дистрофічних змін.

В той же час, гістохімічне вивчення стану енергетичного обміну міокарда показала вплив кверцетину на деякі його показники. Так, після його використання посилалась активність СДГ до рівня $2,45 \pm 0,02$ одиниць активності (Рис. 4), а НАД – н ДГ – до $2,40 \pm 0,03$ одиниць активності. Показники рівня гліколізу достовірно не змінилися і досягає за встановлення активності ЛДГ $2,50 \pm 0,02$ одиниць активності, залишаючись близькими до групи щурів «без ліку-

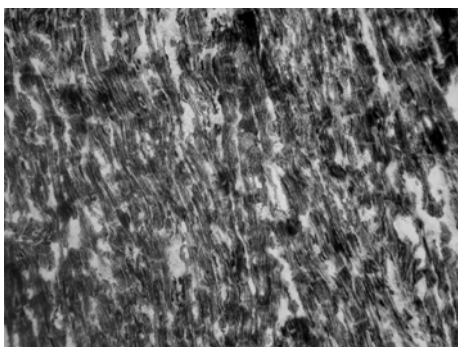
вання за дії хлориду ртуті», що в цілому свідчить, що тканина гіпоксія залишалась на високому рівні.



Мал.4. Тенденція до підвищення активності СДГ після введення щурям з хронічною ртутною інтоксикацією кверцетина.

Одночасне використання на фоні хронічної ртутної інтоксикації унітіола і кверцетина (5-а група) покращило лікувальний ефект по відношенню до роздільного використання фармпрепаратів. Комплексна фармакологічна дія призвела до оптимізуючого ефекту за рахунок позитивного впливу на енергетичний обмін і структуру міокарда. Мікроскопічне дослідження встановило зменшення ступеня патологічних змін у всіх відділах серця піддослідних тварин. Зменшився ступінь набряку саркоплазми кардіоцитів. Вміст і розподіл білково – полісахаридних комплексів після постановки PAS – реакції за Мак Манусом був близьким до фізіологічного; вміст глікогена та глікопротеїнів в саркоплазмі кардіоцитів був помірним.

Рівень енергетичного обміну вірогідно не відрізнявся від контролю. Найбільш високою була активність СДГ ($2,75 \pm 0,03$ одиниць активності), котра гістохімічно виявлялась великою кількістю темно-синіх зерен диформазану рівномірної величини вздовж міофібріл (Рис. 5) Ступінь фонові реакції був незначним. В той же час в саркоплазмі кардіоцитів виявлялась зниження, в порівнянні з 3-ю та 4-ю групами, активність ЛДГ, рівень якої наближався до контрольних показників ($2,20 \pm 0,02$ одиниць активності). Активність НАД-н ДГ залишалась децю нижчою від контрольних величин ($2,65 \pm 0,01$ одиниць активності) однак, це був найбільш високий рівень активності ферментів термінального окиснення порівняно з групами роздільного використання унітіола та кверцетина.



Мал. 5. Висока активність СДГ після комплексного введення щурям з хронічною ртутною інтоксикацією.

Встановлені показники свідчать про чітку тенденцію до нормалізації в міокарді щурів з хронічною ртутною інтоксикацією в умовах комплексного застосування унітіола і кверцетина процесів оксидоредукції та купуванні ознак тканинної гіпоксії.

Такі позитивні зміни енергообміну, як наслідок комплексного використання унітіола і кверцетина, співпадали з покращенням кровопостачання міокарда. Структура стінок судин гемомікроциркуляторного русла, особливо капілярів і венул, була менш неоднорозлично вогнищево змінена в зв'язку з невеликим набряком ендотелія та підендотеліальної базальної мембрани. Переважно в усіх ділянках правих і лівих відділів серця структура стінок капілярів і венул не відрізнялась від контрольної групи. Периваскулярна сполучна тканина в міокарді тварин цієї групи за всіма ознаками наближалась до контрольних показників. Такий стан мікросудинного русла міокарда обумовлював достатню трофіку кардіоцитів, що і співпадало в наших дослідах з чіткою тенденцією до нормалізації енергетичного обміну і структури.

Таким чином, проведені патоморфологічні та гістохімічні дослідження хронічного впливу хлориду ртуті на організм піддослідних тварин, показали, що встановлені енергетичні та структурні зміни можуть знижувати функціональну активність кардіоцитів і бути підґрунтям для розвитку за хронічної ртутної інтоксикації серцевої патології.

В основі розвитку патологічних змін у міокарді щурів за таких умов лежать глибокі порушення енергетичного обміну в кардіоцитах, які проявляються зниженням активності ферментів тканинного дихання та термінального окиснення рівня гліколітичних процесів, що відображає процес формування тканинної гіпоксії. Енергетичні порушення розвиваються одночасно зі змінами структури всіх ланок гемомікроциркуляторного русла, що погіршує транскапілярний обмін і в цілому трофіку міокарда.

Монотерапія патології міокарда хронічної ртутної інтоксикації можлива шляхом патогенетично спрямованого застосування унітіола (універсального антидота за отруєння солями токсичних металів) в кверцетину (препарату метаболічного типу дії, антигіпоксанта, антиоксиданта та мембрано-протектора), за дії якого покращується енергетичний обмін і структура міокарда, але вони не досягають рівня контрольних показників.

Комплексне одночасне застосування за таких умов цих препаратів забезпечує оптимізацію енергетичних процесів і структури, які вірогідно не відрізняються від контрольних величин за більшістю показників.

Подальше дослідження полягатимуть в електронно – мікроскопічному вивченні стану міокарда за умов мікромеркуріалізми та його фармакологічної корекції.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Велотицев Ю.Е, Темин П.А, Минохондриальные болезни. В кн.: Ю.Е. Велотицев, П.А. Томин. Наследственные болезни нервной системы-М.Медицина, 1998.-С. 346-471.
2. Новиков В. С., Шанин В. Ю. Гипоксия: адаптация, патогенез, клиника. – ЭЛБИ, СПб, 2000.-384с.
3. Kofoed K., Schoder H., Knight R, Buxton D. Glucose metabolism in reperfused myocardium measured by 2-fluoro-deoxyglucose and PET // Cardiovasc. Res.-2000. – 2(1).-P.321-329.
4. Галенко-Ярошевский П.А., Гацура В. В., Экспериментальные аспекты оптимизации фармакотерапии при острой ишемии миокарда.- М.:Медицина, 2000.-374с.
5. Сидоренко Б. А., Преображенский Д. В. Ишемия миокарда: от понимания механизмов к адекватному лечению// Кардиология. – 2000.- с.106-119.
6. Flares N., Stavron B., Sheridan D. The effects of diadenogine polyphosphates on the cardiovascular system // Cardiovasc. Res.-1999.-1(42)- P.15-26.
7. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная.- М.; ИЛ, 1962.-962 с.