

ЕНЕРГЕТИЧНЕ ПІДҐРУНТЯ РОЗВИТКУ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ПАТОЛОГІЇ МІОКАРДА ЗА РТУТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м. Київ)

Дана робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Вивчення нервової, імунної систем та серця за умов дії екзогенних та ендогенних факторів», № держ.реєстрації 0109U000091.

Вступ. Однією з глобальних проблем забруднення довкілля є хронічна дія ртуті та її сполук, що обумовлює необхідність проведення фундаментальних і прикладних досліджень основних механізмів розвитку мікромеркуріалізму та можливості його раціональної фармакологічної корекції [1]. Важливим напрямком вивчення генезу ушкодження життєво важливих органів людини і тварин за дії малих доз ртуті є дослідження стану енергетичного обміну, який пов'язаний з основними метаболічними шляхами, що поставляють енергію: диханням, гліколізмом та термінальним окисненням. В залежності від фізіологічного стану організму змінюється стаціонарний стан клітин перш за все, за рахунок порушень хімізму цих метаболічних шляхів. Тому зміни навколишнього середовища в підсумку призводять до порушення енергетичних процесів і, як наслідок, структури і функції клітин та розвитку патологічних процесів в організмі людини, зокрема – в серці. Об'єктивізація метаболічних і структурних змін в міокарді за розвитку мікромеркуріалізму може слугувати об'єктивним підґрунтям для оптимізації лікування та профілактики його патології.

Метою дослідження стало вивчення патоморфологічних, гістохімічних та ультраструктурних змін

міокарда за хронічної мікромеркуріалізації та оцінка експериментальної фармакологічної корекції унітіолом та кверцетином.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведені на щурах лінії Вістар вагою 160-180 г.

Хронічну дію малих доз хлориду ртуті моделювали шляхом його введення в дозі LD50 0,01 протягом 10 тижнів. Фармакологічну корекцію проводили після моделювання введення унітіолу (доза 0,01мл на 100 маси тіла) та кверцетину (доза 0,001 мл на 100 маси тіла) протягом 2-х тижнів в якості монотерапії, так і комплексно. Патоморфологічне вивчення серця проведене після фіксації його в 10% нейтральному фармаліні, загальноприйнятій проводки та заливки в парафін. Серійні парафінові зрізи фарбували гематоксиліном та еозином, за Ван Гізоном, а також ставили ШИК-реакцію за Мак Манусом (контроль з амілазою). Гістохімічне вивчення активності окисно-відновних ферментів проведене за наступними методиками: сукцинатдегідрогеназу (СДГ) за Нхласом і співавт. Лактатдегідрогеназу (ЛДГ) за Гесс, Скарпеллі і Пірс), НАД-Н-ДГ –за Фарбером.

Електронномікроскопічне вивчення міокарда лівого шлуночка серця щурів усі груп проведене після фіксації матеріалу в 1% розчині чотирьохокси-су осмію за Колфільдом та обробки згідно загально прийнятої методики. Ультратонкі зрізи досліджували в електронному мікроскопі ПЕМ-125К [3].

Таблиця

Гістохімічний показник активності окисно-відновних ферментів в міокарді білих щурів в умовах хронічної ртутної інтоксикації і її фармакологічної корекції (M+/- m; P; одиниць активності)

Група спостереження	ФЕРМЕНТИ			P
	СДГ	ЛДГ	НАД-Н ДГ	
1 група Контроль віварія N=7	2,80+0,02	2,15+/-0,02	2,75+/-0,02	
2 група Дія хлориду ртуті N=7	2,10+/-0,02*	2,65+/-0,01 *	2,20+/-0,03*	*<0,05
3 група Дія хлориду ртуті+унітіол N=7	2,55+/-0,03**	2,40+/-0,02**	2,45+/-0,02**	**<0,05
4 група Дія хлориду ртуті+кверцетин N=7	0,45+/-0,02***	2,50+/-0,02	2,40+/-0,03	***<0,05
5 група Дія хлориду ртуті + унітіол+кверцетин N=7	2,75+/-0,03****	2,20+/-0,02****	2,65+/-0,01****	****<0,05

Примітка: * - різниця достовірна між 1 та 2 групами; ** - різниця достовірна між 3 та 2 групами; *** - різниця достовірна між 4 та 2 групами; **** - різниця достовірна між 5 та 2 групами.

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [2].

Результати досліджень та їх обговорення.

Результати проведених досліджень показали, що за хронічної інтоксикації хлоридом ртуті в міокарді піддослідних тварин паралельно розвиваються метаболическі та структурні зміни. Енергетичний обмін в кардіоміоцитах зазнає суттєвих змін за рахунок порушення утворення енергії в різних метаболических шляхах (табл.)

Перш за все відмічається нерівномірне зниження активності СДГ в кардіоміоцитах як лівих, так і правих відділів серця. Фермент виявляється зменшеною кількістю різних за розміром зерен диформазану. Темно-сині зерна диформазану в більшості м'язових клітин розташовуються вздовж міофібрил. Однак спостерігаються великозернисті вогнища кінцевого продукту реакції, які розташовуються дифузно в саркоплазмі, а в місцях контрактурних змін вони зливаються в грудочки. В цілому активність СДГ в міокарді білих щурів цієї серії достовірно знижується до $2,1 \pm 0,02$ одиниць активності, проти $2,8 \pm 0,02$ одиниць активності в контролі. Таке зниження активності СДГ поєднується з посиленням в саркоплазмі кардіоміоцитів фонові реакції. Паралельно зі зниженням активності СДГ в міокарді всіх відділів серця білих щурів цієї серії експерименту виявляється достовірне посилення активності гліколітичних процесів, яке документується збільшенням кількості лінійного і зернистого диформазану при гістохімічному визначенні ЛДГ ($2,65 \pm 0,01$ одиниць активності проти $2,15 \pm 0,02$ одиниць активності в контролі). Фермент виявляється переважно нерівномірними локально збільшеними темно-синіми зернами диформазану, розташованими вздовж міофібрил, а також вогнищево злитим в великі грудочки кінцевим продуктом реакції. За дії хлориду ртуті пригнічується активність ферментів термінального окиснення НАД-Н-ДГ, котра гістохімічно виявляється мозаїчним зменшенням кількості зерен диформазану в саркоплазмі клітин всіх відділів серця, при одночасному нерівномірному їх укрупненні і злитті. Активність знижується з $2,75 \pm 0,02$ одиниць активності до $2,2 \pm 0,03$ одиниць активності при паралельному посиленні фонові реакції.

Токсичний вплив хлориду ртуті обумовлює гетерогенне uszkodження кардіоміоцитів. Більша їх частина з ознаками нерівномірного набряку; міофібрили підвищено еозинофільні, розпушені, або вогнищево перескороченні. В деяких ділянках саркоплазми виявляються дрібні вакуолі. Ядерний апарат змінений неоднозначно: частина ядер нерівномірно збільшена в розмірах, гіпохромна; інші – пікноморфні, гіперхромні. Відмічається нерівномірний перинуклеарний набряк.

Структурні uszkodження міокарда за умов хронічної ртутної інтоксикації носять дифузний характер і охоплюють всі відділи правого і лівого серця. Дещо більше виражені патологічні зміни в ділянці лівого шлуночка, особливо на верхівці серця, де гірше виявляється поперекова посмугованість саркоплазми кардіоміоцитів та інші патологічні зміни. Під кінець строку введення хлориду ртуті мікроскопічно виявляються початкові ознаки фіброзу інтерстиція та розвиток сітчастого кардіосклерозу.

Патоморфологічне дослідження стану інтраорганного судинного русла міокарда виявило комплекс структурних змін. Звертає на себе увагу підвищення проникності стінок мікросудин та помірний периваскулярний набряк сполучної тканини.

Діаметр просвітів інтраорганних дрібних в'язових судин та артеріол дещо розширений. Ендотелій мікросудин з набряком, з різного ступеня змінами аж до вогнищевої десквамації. Підендотеліальні базальні мембрани капілярів і венул з нерівномірним набряком, розпушені. Пухка сполучна тканина всіх відділів серця з нерівномірним набряком, розпушена. Клітинні сполучнотканинні елементи в основному без особливостей. Але в деяких ділянках міокарда, приблизно в 30% тварин виявляється збільшена кількість сполучнотканинних клітин вздовж міжм'язових мікросудин. Серед них знаходяться середні та малі лімфоцити тканинні базофіли, плазмоцити, макрофаги, фіброласти. Слід підкреслити, що ці клітини розташовані дифузно між кардіоміоцитами і не утворюють локальних інфільтратів. Встановлена динаміка енергетичного обміну (зниження рівня активності ферментів дихання і термінального окиснення, що сполучається з посиленням гліколітичних процесів) в комплексі з виявленими змінами дрібних гілок коронарних судин і судин гемомікроциркуляторного русла, може свідчити про розвиток в міокарді при хронічній ртутній інтоксикації ознак тканинної гіпоксії. Це також може свідчити про ураження в таких умовах мітохондріального апарата, порушенні проникності його мембран, про що свідчить посилення фонові реакції, при гістохімічному виявленні активності СДГ і НАД-НДГ і зниження їх активності. Встановлена гістохімічними дослідженнями патологія енергетичного обміну за хронічної дії хлориду ртуті співпадає з результатами ультраструктурного морфометричного дослідження мітохондрій.

Морфологічне вивчення стану мітохондрій за хронічної дії хлориду ртуті показало, що вони мають електронно ущільнений матрикс, в якому розташовується незначна кількість крист, частина з яких фрагментована.

Спостерігається гіпертрофія мітохондрій без різних ознак їх набряку, очевидно, є проявом компенсаторних процесів, але не компенсує зменшення їх кількості, яке відбувається, скоріш усього, через їх загибель, а не злиття. Слід відмітити, що менш уразливими до дії ртуті є зовнішні мембрани мітохондрій, які переважно зберігають свою цілісність, тоді як внутрішні мембрани – кристи зменшуються у розмірах та кількості; при цьому виразність змін посилюється

із збільшенням терміну спостережень. Це, можливо, обумовлено, з одного боку, властивістю важких металів, загалом, і ртуті, зокрема, проникати через мембрани, не змінюючи їх фізіологічні властивості, а з іншого - будучи активними окиснювачами, вагомо впливати на коферменти НАД(Н) і НАДФ(Н)

Морфологічне вивчення ступеня зворотності метаболічних та структурних змін в міокарді щурів за умов хронічної ртутної інтоксикації та її фармакологічної корекції унітіолом показало, що виявлені при хронічному впливі хлориду ртуті порушення є зворотними лише частково. Гістологічні дослідження встановили зменшення ступеня патологічних змін всіх структур міокарда.

Гістохімічне вивчення окисно-відновних процесів показало, що за дії унітіолу його показники мають стійку тенденцію до нормалізації, однак показники контролю не були досягненні (**табл.**).

Активність СДГ підвищується: при її гістохімічному виявленні, визначається збільшене в порівнянні з показниками групи тварин з хронічним впливом хлориду ртуті, кількість більш рівномірної величини зерен диформазама, зменшена ступень фонові реакції і кількість зерен диформазама; гістохімічний показник активності досягає $2,55 \pm 0,03$ одиниць активності.

Ультраструктурний морфологічний аналіз стану мітохондрій за фармакологічної корекції хронічної ртутної інтоксикації унітіолом показав, що вони розташовані переважно у вигляді скупчень поміж саркомерами та підсарколемально. Вони мають добре структуровану зовнішню мембрану, кристи та електронно прозорий матрикс. Морфологічний аналіз показав, що застосування унітіолу не тільки попереджує загибель мітохондрій, а навіть сприяє збільшенню їх числа.

Гістологічне дослідження структури міокарда за використання при хронічній ртутній інтоксикації фармакологічної корекції кверцетином показало, що після його застосування зберігається більшість морфологічних ознак патології міокарда, як в судинному руслі, інтерстиції, так і в кардіоміоцитах. Зберігається значна гетерогенність пошкоджень усіх структур міокарда, в котрій поєднуються мікроскопічні ознаки набряку, контрактурних і дистрофічних змін.

В той же час гістохімічне вивчення стану енергетичного обміну міокарда, показало вплив кверцетину на деякі його показники. Так, після його застосування дещо підвищилась активність СДГ до $2,45 \pm 0,03$ одиниць активності, а НАД-Н-ДГ до $2,40 \pm 0,03$ одиниць активності. Показники рівня гліколізу не мали

вірогідних змін, при виявленні активності ЛДГ і досягли $2,50 \pm 0,02$ одиниць активності, залишаючись близькими до групи «без лікування» що в цілому свідчить про збережену на високому рівні тканинну гіпоксію.

Морфологічне вивчення стану мітохондріального апарату кардіоміоцитів за хронічної ртутної інтоксикації і її фармакологічної корекції унітіолом показало, що мітохондрії переважно без суттєвих пошкоджень, округлої форми, подекуди мають звивисту зовнішню мембрану. Кристи розташовуються в матриксі помірної електронної щільності.

Рівень енергетичного обміну в міокарді тварин, які на фоні мікромерку отримували унітіол і кверцетин вірогідно не відрізняється від такого в контролі. Найбільш висока була активність СДГ ($2,75 \pm 0,03$ одиниць активності), котра являється більшою кількістю темно-синіх зерен диформазама достатньо рівномірної величини, по ходу міофібрил. Ступінь фонові реакції був незначним.

В той же час, в саркоплазмі кардіоміоцитів виявилась, знижена активність ЛДГ, рівень якої був близьким до контрольної в порівнянні з результатами монотерапії.

Активність НАД-Н-ДГ залишалось дещо 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 застосування унітіола і кверцетина. Такі показники свідчать про чітку тенденцію до нормалізації в міокарді (в комплексному застосуванні унітіола і кверцетина, процесів оксидоредукції і купування ознак тканиної гіпоксії. Так позитивні зміни енергообміну, як наслідок комплексного застосування унітіола і кверцетина поєднувались з поліпшенням кровопостачання міокарда. Структура стінок і діаметр просвіту інтраорганих гілок коронарних судин були близькими до таких у тварин контрольної групи.

Висновки.

1. Застосування унітіола для виведення хлориду ртуті із організму щурів призводить до значного зменшення кількості ушкоджених клітин в міокарді.

2. Застосування розчину кверцетина для лікування змін, викликаних токсичним впливом хлориду ртуті призводить до зниження кількості ушкоджених кардіоміоцитів.

Перспективи подальших досліджень. Подальшою метою дослідження буде дослідження використання кверцетина в комплексній терапії ртутних інтоксикацій.

Список літератури

1. Трахтенберг І. М. Ртуть як глобальний хімічний забруднювач: еколого-гігієнічні та клініко-гігієнічні аспекти / І.М. Трахтенберг., М.М.Коршун, К.П. Козлов // Довкілля та здоров'я- 2006. -№2. -С. 12
2. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей. - Страсбург, 1985.
3. Карупу В. Я. Електронна мікроскопія / В. Я. Карупу. – Киев: Вища школа, 1984. – 208 с.
4. Маркова І.В. Отравления препаратами ртути / И.В. Маркова, А.М. Абезгауз // Отравления в детском возрасте. - Ленинград: Медицина, 1971. – 186 с.

5. Salonen J.T. Intake of mercury from fish, lipid peroxidation, and the risk of myocardial infarction and coronary, cardiovascular, and any death in eastern Finnish men / J.T. Salonen, K. Seppänen, K. Nyyssönen [et al.] // *Circulation*. - 1995 Feb 1;91(3):645-55.
6. Schettler T.An. Ecological view of health / T.An. Schettler // *Explore (NY)*. 2006 Jul-Aug;2(4):357-60.
7. Virtanen J.K. Homocysteine as a risk factor for CVD mortality in men with other CVD risk factors: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KIHD) Study / J.K. Virtanen, S. Voutilainen, G. Alfthan [et al.] // *J Intern Med*. 2005. - Mar;257(3):255-62.

УДК 616. 127: 615:546.49 -092-085

ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ РАЗВИТИЯ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ПАТОЛОГИИ МИОКАРДА ПРИ РТУТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Каминский Р.Ф., Колесова Н.А., Чайковский Ю.Б.

Резюме. Гистологическими, гистохимическими, электрономикроскопическими методами, на крысах с экспериментально воспроизведенной хронической ртутной интоксикацией установлено: в основе развития основных структурных повреждений миокарда лежат существенные сдвиги энергетического обмена, что свидетельствуют развитию тканевой гипоксии. Патогенетически направленный способ фармакологической коррекции этих патологических изменений заключается в комплексном использовании унитиола и кверцетина.

Ключевые слова: унитиол, ртуть, кверцетин, крысы.

УДК 616. 127: 615:546.49 -092-085

ЕНЕРГЕТИЧНЕ ПІДҐРУНТЯ РОЗВИТКУ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ПАТОЛОГІЇ МІОКАРДА ЗА РТУТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

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

Резюме. Гістологічними, гістохімічними, електрономікроскопічними методами, на щурах з експериментальним відтворенням хронічної ртутної інтоксикації встановлено: в основі розвитку основних структурних пошкоджень міокарда лежать суттєві зрушення енергетичного обміну, що свідчать про розвиток тканинної гіпоксії.

Патогенетично направлений спосіб фармакологічної корекції цих патологістичних змін в комплексному використанні унітіола і кверцетина.

Ключеві слова: унітіол, ртуть, кверцетин, щури.

UDC 616. 127: 615:546.49-092-085

Energetichesky Substantiation Of Development And Pharmacological Correction Of The Pathology Of The Myocardium At The Mercurial Intoxication

Kaminsiky R. Ph., Kolesova N.A., Tchaikovsky Yu.B.

Summary. During the experimental reproduction of the chronical mercuric intoncation on rats with the use of the histological, histochemical, electron –microscopica methods, it has been stated that the development of the main structural damages was due to the substancial displacements of the cnergy exchange, which is the widence of the fissue hypoxia. Pathogeneticallydirected pharmacological correction of these changes is the possible complex use of utihsiol and quercetin.

Key words: Unithiolum, mercury, Quercetinum, rats.

Стаття надійшла 17.07.2011 р.