
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

В. Н. Перфилова, И. Н. Тюренков, А. В. Смирнов

Кафедра фармакологии и биофармации ФУВ ВолГМУ, НИИ фармакологии
и кафедра патологической анатомии с секционным курсом морфологии и патологии ВолГМУ

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЯ РГПУ-147 НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИОКАРДА ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССОРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Производные ГАМК-соединения РГПУ-147 и фенибута ограничивают повреждающее действие стресса на миокард, о чем свидетельствуют несущественные морфологические изменения и более высокие показатели сократимости сердца у стрессированных животных опытных групп по сравнению с контрольной.

Ключевые слова: стресс, морфофункциональные изменения в миокарде, инотропные резервы, гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), кардиопротекторное действие.

V. N. Perfilova, I. N. Tjurenkov, A. V. Smirnov

THE INFLUENCE OF RGPU-147 COMPOUND ON ANIMALS' MYOCARDIAL MORPHOFUNCTIONAL CONDITION AFTER LONG-TERM EXPOSURE TO STRESS

RGPU-147 compound and phenibute, GABA derivatives, limit the damaging effect of stress on the myocardium, which is indicated by inessential morphological changes and much higher indices of myocardial contractility noted in stressed animals in the study group in comparison with the control group.

Keywords: stress, myocardial morphofunctional changes, inotropic reserves, GABA, cardioprotective action.

Анализ литературных данных показывает, что выраженные и продолжительные эмоционально-стрессовые состояния приводят к изменению структуры и функции миокарда [6, 9]. Патологические изменения кардиомиоцитов заключаются в нарушении целостности клеточных мембран и митохондрий, исчезновении запасов гликогена, образовании жировых капель в саркоплазме, появлении в цитоплазме эндотелиальных клеток микроциркуляторного русла большого количества пиноцитозных пузырьков, выходе эритроцитов в межклеточное пространство, возникновении признаков кальциевой перегрузки (наличие областей пересокращения миофибрилл, нередко с образованием контрактурных участков) [1]. Структурные изменения в клетках сердца приводят к депрессии сократительной функции миокарда, уменьшению функциональных резервов сердца [4].

Ограничение стресс-реакции в организме осуществляется стресс-лимитирующими системами, к основным из которых относится ГАМК-ергическая система [6, 9, 11]. Результаты работ, проведенных Меерсоном Ф. З. и соавт. (1981), Ковалевым Г. В. и соавт. (1983) и другими исследователями [2, 7, 10, 12], показывают, что медиатор и модуляторы стресс-лимитирующей системы ГАМК и ее аналоги — оксибутират натрия, фенибут и др. значительно уменьшают повреждающее действие стресса на сердце.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение кардиопротекторного действия структурного аналога фенибута — соединения РГПУ-147 при морфофункциональных нарушениях сердца после длительного стрессорного воздействия.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на белых нелинейных крысах-самцах массой 270—350 г. Животные были разделены на 4 группы по 12 в каждой: 1-я группа — интактные животные, не подвергавшиеся стрессорному воздействию (позитивный контроль), 2-я группа — негативный контроль, животные, получавшие за 60 минут до стрессирования физраствор внутривенно в течение 2 недель 1 раз в день, 3-я и 4-я группы опытные, за 60 минут до стрессирования животным вводились соединение РГПУ-147 в дозе 50 мг/кг и препарат сравнения фенибут (50 мг/кг) в аналогичном контрольным группам режиме.

Использовалась модель двухнедельного неизбегаемого стресса, включавшего иммобилизацию и электрошоковое раздражение [13].

После двухнедельного стрессирования по 6 животных из каждой группы под нембуталовым наркозом декапитировали. Исследуемый материал (ткани сердца целиком) фиксировали в 10%-м растворе формалина в течение 48 часов с дальнейшим обезвоживанием и изготовлением парафиновых блоков. Для морфологического исследования миокарда использовались серийные фронтальные срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, суданом III и IV. Было произведено 100 срезов на каждое сердце экспериментального животного. Микрофотосъемку с микропрепаратов производили фотокамерой «CONTEX» на увеличении 100, 400.

По 6 животных из каждой группы были взяты для исследования сократимости миокарда и его инотропных резервов, которое проводилось с помощью нагрузочных проб: нагрузки объемом, максимальной изометрической нагрузки. Нагрузка объемом осуществлялась путем введения 3 мл/кг физраствора, максимальная изометрическая нагрузка — пережатием восходящей части дуги аорты на 30 с. При этом регистрировались левожелудочковое давление (ЛЖД) и его первая производная ($dp/dt+$ и $dp/dt-$). Полученные данные сопоставлялись между собой. Более высокие показатели сократимости миокарда и инотропные резервы у животных опытных групп по сравнению с контрольной группой стрессированных животных свидетельствовали о кардиопротекторном действии исследуемых веществ.

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с помощью программы STATISTICA с использованием критерия Ньюмена-Кейлса и представлена в виде $M \pm S$, где M — средняя арифметическая, S — стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологическое исследование сердца показало, что у интактных животных контрольной группы миокард левого желудочка представлен па-

раллельно расположенными кардиомиоцитами с овальными ядрами в центре и умеренно эозинфильной саркоплазмой. При постановке реакции с шисс-иодной кислотой (ШИК-реакции) отмечено неравномерное распределение гликогена в различных отделах миокарда левого желудочка. В саркоплазме кардиомиоцитов обнаруживается умеренное количество гликогена в виде гранулярного диффузно распределенного ШИК-позитивного материала, который в несколько большем количестве находится в периферических субсарколеммальных отделах клеток. При окраске «на ишемию» ГОФПК (гематоксилин-основной фуксин пикриновая кислота) в миокарде большинства интактных животных саркоплазма кардиомиоцитов не обладает фуксинофилией (табл.).

Морфологические изменения в миокарде животных, подвергшихся длительному стрессорному воздействию (данные представлены в баллах)

Морфологические параметры	Интактные животные (физраствор)	Физраствор + стресс	Соединение РГПУ-147 + стресс	Фенибут + стресс
Включения гликогена	1,8	0,6	0,8	1
Фуксинофилия саркоплазмы, кардиомиоциты	0,6	1,6	0,2	1
Эозинофилия саркоплазмы, кардиомиоциты	0,6	2,4	0,8	1,2
Полнокровие сосудов миокарда	0	1	0,2	0,8
Интерстициальный отек	0	1	1	0

В миокарде стрессированных животных в большинстве случаев обнаруживаются небольшие участки повышенной ацидофилии саркоплазмы кардиомиоцитов в субэндокардиальных и субэпикардиальных отделах, а также в межжелудочковой перегородке, что свидетельствует о метаболических изменениях в сосудах микроциркуляторного русла, проявляющихся в умеренно выраженном полнокровии, интерстициальном отеке. При постановке ШИК-реакции в 60 % случаев гликоген обнаруживается в небольшом количестве в виде пылевидного ШИК-позитивного материала в саркоплазме отдельных кардиомиоцитов в субэндокардиальных и центральных отделах миокарда. В 40 % случаев гликоген не обнаруживается в саркоплазме кардиомиоцитов, что свидетельствует о достаточно выраженном снижении энергетического резерва клеток. При окраске ГОФПК в большинстве случаев в субэндокардиальных и центральных отделах миокарда присутствуют очаги фуксинофилии саркоплазмы кардиомиоцитов, что свидетельствует об ишемическом повреждении миокарда и развитии ацидоза у стрессированных животных (рис. 1, 2, табл.).

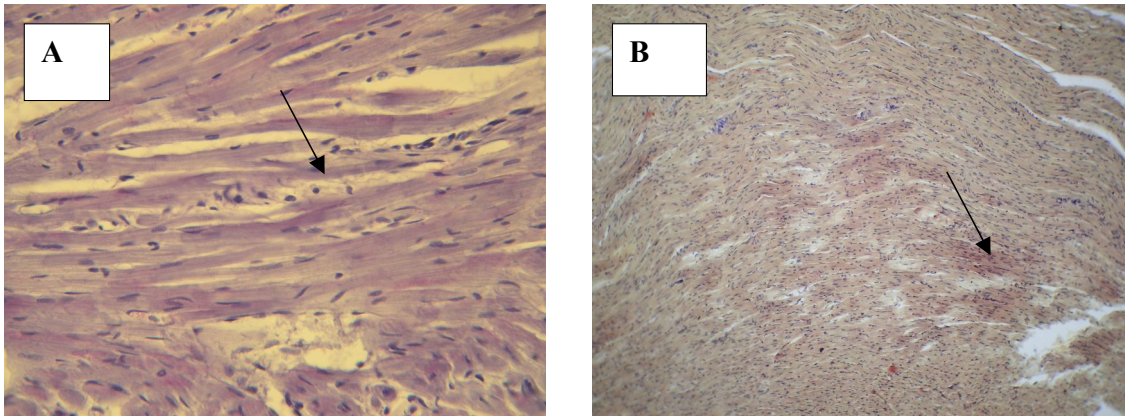


Рис. 1. Миокард стрессированного животного. А – резко выраженное снижение ШИК-позитивного материала (гликогена) в саркоплазме кардиомиоцитов. ШИК-окраска. Ув. $\times 400$. В – участки повышенной фуксинофилии саркоплазмы кардиомиоцитов. Окраска ГОФПК. Ув. $\times 100$

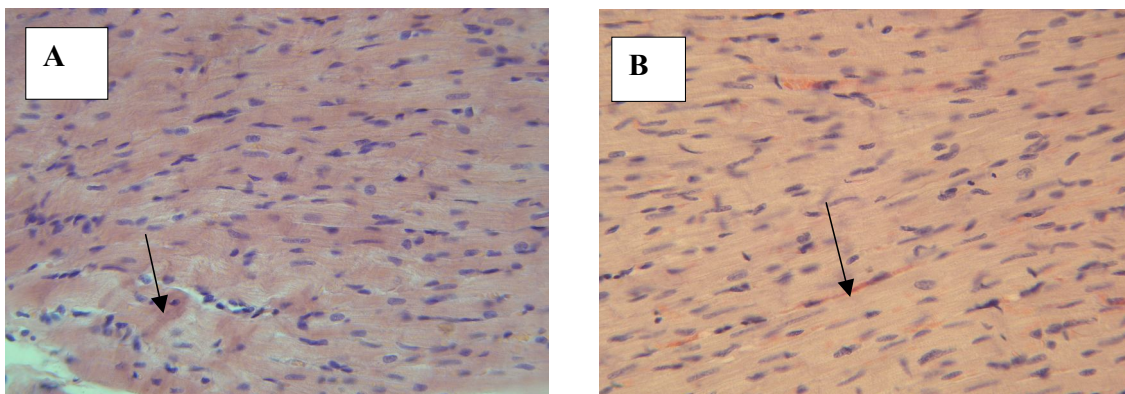


Рис. 2. Миокард стрессированного животного. А – мозаичное усиление ацидофилии в саркоплазме кардиомиоцитов. Окраска гематоксилин-эозин (ГЭ). Ув. $\times 400$. В – полнокровие сосудов микроциркуляторного русла. Окраска ГЭ. Ув. $\times 400$

У большинства стрессированных животных, получавших фенибут, в миокарде левого желудочка обнаруживаются участки повышенной ацидофилии саркоплазмы кардиомиоцитов в субэндокардиальных и субэпикардиальных отделах. В миокарде отмечается умеренно выраженное полнокровие сосудов, что свидетельствует о незначительных микроциркуляторных нарушениях.

При постановке ШИК-реакции гликоген обнаруживается в небольшом количестве в виде гранулярного ШИК-позитивного материала в периферических отделах саркоплазмы кардиомиоцитов. Содержание гликогена несколько ниже, чем у интактных животных, однако выше, чем у группы стрессированных животных, что свидетельствует о незначительном снижении энергетических резервов в миокарде. Отмечается слабо выраженный ацидоз, проявляющийся в виде очагов со слабой фуксинофилией саркоплазмы кардиомиоцитов в субэндокардиальных отделах миокарда при окраске «на ишемию» ГОФПК. Эти участки имеют меньшую выраженность, что свидетельствует о незначительном ишемическом повреждении миокарда после стресса у группы животных, получавших фенибут (рис. 3, табл.).

У стрессированных животных, получавших соединение РГПУ-147, большая часть миокарда левого желудочка окрашивается равномерно, хотя обнаруживаются единичные зоны неравномерной мозаичной усиленной ацидофилии саркоплазмы кардиомиоцитов в субэндокардиальных отделах, что свидетельствует о возникновении дистрофических изменений и нарушении метаболизма в сердечной мышце. Однако эти зоны значительно меньше, чем у стрессированных животных контрольной группы. В миокарде отмечается умеренно выраженный интерстициальный отек, что косвенно говорит о меньших нарушениях микроциркуляции, чем у животных контрольной группы. Содержание гликогена в миокарде животных, получавших соединение РГПУ-147, больше, чем у стрессированных животных контрольной группы, что свидетельствует о большей сохранности энергетических резервов в кардиомиоцитах. Саркоплазма кардиомиоцитов в большинстве случаев не обладает фуксинофилией, что указывает на сохранении ее тинкториальных свойств. В совокупности, все перечисленные данные говорят о достаточно выраженном кардиопротекторном эффекте исследуемого вещества (рис. 4, табл.).

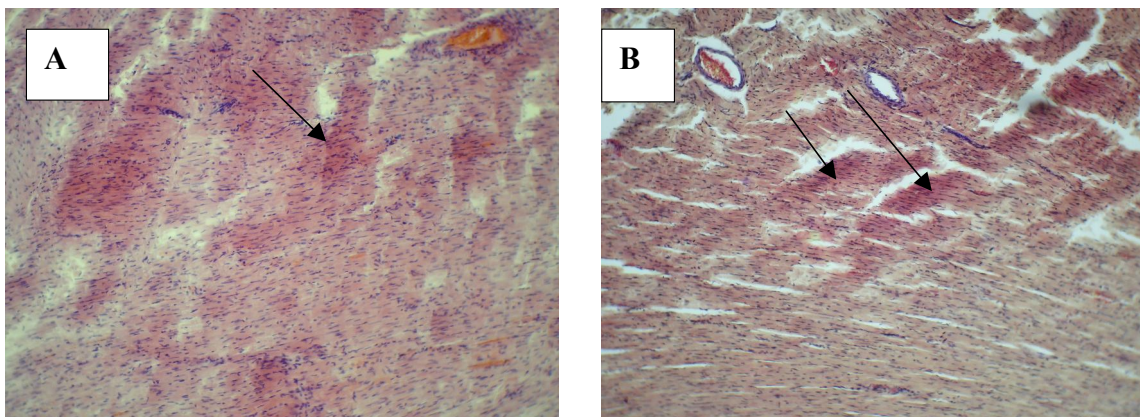


Рис. 3. Миокард стрессированных животных, получавших фенибут. А – усиление ацидофилии саркоплазмы кардиомиоцитов. Окраска ГЭ. Ув. × 100. В – участки повышенной фуксинофилии саркоплазмы кардиомиоцитов. Окраска ГОФПК. Ув. × 100

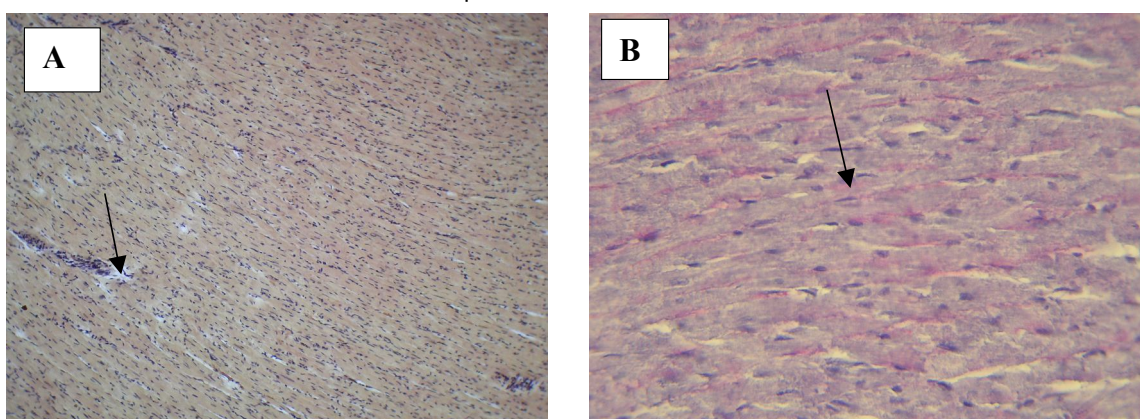


Рис. 4. Миокард стрессированных животных, получавших соединение РГПУ-147. А – слабовыраженный периваскулярный отек. Окраска ГОФПК. Ув. × 100. В – сохранность в отдельных кардиомиоцитах ШИК-позитивного материала (гликогена). ШИК-окраска. Ув. × 400

Длительное стрессорное воздействие способствует выраженному уменьшению инотропных резервов сердца, что проявляется в снижении скорости сокращения и скорости расслабления миокарда, а также ЛЖД в группе стрессированных животных, получавших физраствор по сравнению с группой интактных животных в условиях проведения функциональных тестов: нагрузки объемом, максимальной изометрической нагрузки.

Соединение РГПУ-147 и препарат сравнения фенибут, вводимые за 60 минут до стрессирования, значительно уменьшают повреждающее действие хронического стресса, о чем свидетельствует тот факт, что у этих животных при проведении нагрузочных проб отмечается более выраженное повышение ЛЖД, увеличение скорости сокращения и расслабления миокарда и максимальной интенсивности функционирования структур по сравнению с контрольной группой стрессированных животных (рис. 5).

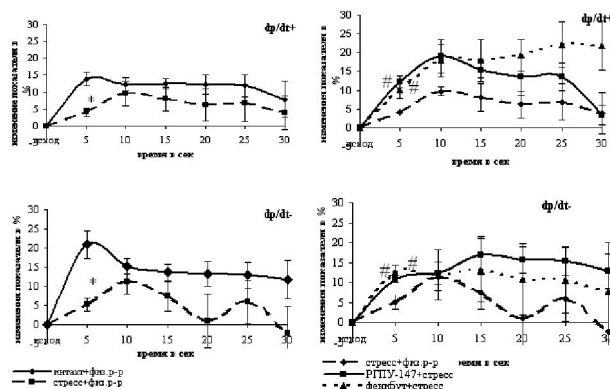
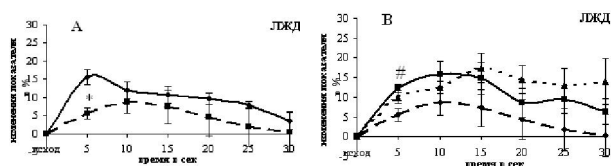


Рис. 5. Изменения показателей кардиодинамики животных, подвергшихся хроническому стрессорному воздействию (А), и под влиянием соединения РГПУ-147 и фенибута (В) в условиях нагрузки объемом



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при проведении морфофункционального исследования выявлено, что длительное стрессорное воздействие приводит к повреждению миокарда у животных, что проявляется в снижении

инотропных резервов сердца при использовании нагрузочных тестов. Соединение РГПУ-147 и препарат сравнения фенибут способны ограничивать депрессию сократительной функции миокарда, дистрофические изменения в кардиомиоцитах, нарушение кровообращения, уменьшение концентрации гликогена.

Вероятно, кардиопротекторный эффект соединения РГПУ-147 и фенибута обусловлен их центральным симпатингибирующим действием [8], ограничением чрезмерного выброса катехоламинов, что способствует ограничению изменений структуры и функции миокарда [6, 9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопян А. С., Камалян Р. Г. // Биохимия. — 2008. — Т. 108, № 3. — С. 270—275.
2. Клейменова Н. Н., Арефолов В. А., Бондаренко Н. А. // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1983. — Т. 95, № 1. — С. 18—21.
3. Ковалев Г. В., Гурбанов К. Г., Тюренков И. Н. // Фармакол. и токсикол. — 1983. — Т. 46, № 3. — С. 41—44.

4. Меерсон Ф. З., Шимкович М. В., Хорунжий В. А. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1980. — № 3. — С. 272—274.

5. Меерсон Ф. З., Лившиц Р. И., Павлова В. И. // Вопросы медицинской химии. — 1981. — Т. 27, № 1 (вып. 1.) — С. 35—39.

6. Меерсон Ф. З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. — М.: Медицина, 1984. — 272 с.

7. Надирадзе З. З. Активация ГАМК-ергической стресс-лимитирующей системы в защите миокарда при искусственном кровообращении: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Иркутск, 2000. — 25 с.

8. Петров В. И. // Фармакология и токсикология. — 1983. — Т. 46, № 1. — С. 13—16.

9. Пшеничкова М. Г. // Пат. физиология и эксперим. терапия. — 2000. — № 2. — С. 24—31.

10. Пушкарев Б. Г., Надирадзе З. З. // Бюллетень СО РАМН. — 2003. — Т. 109, № 3. — С. 6—10.

11. Хоженко Е. В. // Клиническая медицина. — 2009. — № 4. — С. 4—9.

12. Яркова М. А., Воронин М. В., Серединин С. Б. // Эксперим. и клинич. фармакол. — 2005. — № 3. — С. 3—5.

13. Petty F. Kramer G., Wilson L. A. // Pharmacol. Biochem. and Behav. — 1992. — Vol. 43 — P. 361—367.

В. Е. Жуков, И. П. Скалич

Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии
Федерального медико-биологического агентства России

МОДЕЛИРОВАНИЕ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ВОДКОЙ МАРКИ «БАЙКАЛ»

УДК 615.01

Представлены результаты сравнительных исследований токсичности 40%-го этилового спирта, приготовленного на дистиллированной и на питьевой воде (с содержанием кислорода 4,8 мг/л), а также водки «Байкал» с содержанием кислорода 11,4 мг/л. Определена среднеэффективная доза (ED_{50}) этанола при его однократном внутрижелудочном введении подопытным крысам. Показано, что по количеству выявленных статистически достоверных изменений и амплитуде отклонений водка «Байкал» наименее токсична.

Ключевые слова: этанол, водка, оксигенация, токсичность.

V. Y. Zhukov, I. P. Skalich

MODELING OF ALCOHOL INTOXICATION WITH BAIKAL VODKA

The results of comparative toxicity studies of 40.0% ethyl alcohol prepared on the basis of both distilled and drinking water containing 4.8 mg/L of oxygen and Baikal vodka containing 11.4 mg/L of oxygen were presented. Median effective dose (ED_{50}) of ethanol for experimental rats upon a single intragastric administration was determined. It was demonstrated that, according to the number of detected statistically significant changes and deviation amplitude, Baikal vodka is less toxic.

Key words: ethanol, vodka, oxygenation, toxicity.

В последние два десятилетия резко обострилась проблема алкоголизации населения [6]. Ассортимент алкогольной продукции весьма об-

ширен как по стоимости, так и качеству изделий. Приоритетным спросом пользуются дешевые сорта водок.