

УДК: 576.8.094.7: 541.459: 616.12-008.318:615.015

МЕХАНІЗМИ ПРОНИКЛИВОСТІ КЛІТИННИХ МЕМБРАН ДЛЯ КАТІОНІВ І ПЕРЕКИСНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ: ЇХ ЗВ'ЯЗОК З ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ МІОКАРДА

М.В.Йолтухівський, Н.М.Бандурка

Вінницький національний медичний університет ім.М.І.Пирогова (вул.Пирогова, 56, м.Вінниця-18, 21018, Україна)

Резюме. У статті представлені результати дослідження механізмів позаканальної проникливості клітинних мембран для катіонів при активації перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) на мембранодеструктивній моделі аритмії серця, а також комбінованого застосування аміодарону з мембранопротекторним засобом ритмокором. Досліди проведені на 150 лабораторних щурах. Встановлено, що при пошкодженні мембрани продуктами ПОЛ (відтворення мембранодеструктивної моделі аритмії серця) підвищується її проникливість та виникають порушення серцевого ритму. Комбінація аміодарону з ритмокором, на відміну від самостійного застосування аміодарону, зменшувала проникливість клітинних мембран, рівень ПОЛ та проявляла більш виражений антиаритмічний ефект. Обговорюється доцільність клінічних досліджень для рекомендації використання такої комбінації у хворих з аритміями серця.

Ключові слова: проникливість клітинних мембран, перекисне окислення ліпідів, аритмії серця, мембранодеструктивна модель аритмії серця, аміодарон, ритмокор.

Summary. The results of investigation of the mechanisms of extracanal cell membrane permeability for ions in activation of lipid peroxide oxidation (LPO) on membrane-destructive model of cardiac arrhythmia, and also combined use of Amiodarone and membrane protective agent Rhythmor are presented in the article. Experiments were done on 150 laboratory rats: it was shown that lesions of membrane caused by LPO products (reproduction of membrane-destructive model of cardiac arrhythmia) increased its permeability and disorders of cardiac rhythm occurred. Combination of Amiodarone and Rhythmor in contrast to the use of Rhythmor alone decreased cell membrane permeability and LPO level, and also had more evident antiarrhythmic effect. Advisability of clinical investigation for recommendations as to the use of such combination in patients with cardiac arrhythmias is discussed now.

Key words: cell membrane permeability, peroxide oxidation of lipids, cardiac arrhythmia, membranodestructive model of arrhythmia, Amiodarone, Rhythmor.

Вступ

Біологічні мембрани є необхідною умовою існування клітини як єдиного цілого [Албертс с соавт., 1994; Генніс, 1997; Ганонг, 2002]. Структурно-функціональні характеристики клітинних мембран є інформативним показником різноманітних фізіологічних станів організму. Це набуває особливої актуальності у дослідженнях клітин міокарда, функції яких забезпечуються мембранними структурами.

Відомо, що в основі формування та розповсюдження біопотенціалів є мембранний механізм, а саме зміна іонної проникливості мембрани [Антонов, 1982; Болдырев, 1985; Ганонг, 2002]. ПОЛ є одним із процесів, який впливає на морфофункціональні параметри мембрани та змінює її проникливість і, як наслідок, електрофізіологічні властивості кардіоміоцитів [Меерсон, Белкина, 1986; Биленко, 1989; Мхитарян, Орлова, 2001; Frolkis et al., 1987; Opie, 1990; Leibovitz, 1999]. Вивчення механізму аритмогенезу, пов'язаного з порушенням структурно-функціональної цілісності мембрани та її проникливості для катіонів є одним із перспективних та багатообіцяючих напрямків у з'ясуванні проблеми медикаментозної терапії аритмії серця.

Метою нашого дослідження було вивчення механізмів проникливості клітинних мембран для катіонів та впливу комбінованого застосування аміодарону з мембранопротекторним засобом ритмокором на проникливість мембран кардіоміоцитів та електричну активність міокарда.

Матеріали та методи

Експерименти виконані на 58 безпородних білих лабораторних щурах обох статей, масою 150-180 г. Тварин наркотизували нембуталом (40 мг/кг внутрішньочеревно) і проводили реєстрацію ЕКГ в II відведенні від кінцівок. Тварини були розподілені на групи відповідно до кількості методик та препаратів, що використовувались.

У дослідженнях використовували мембранодеструктивну модель аритмії серця (АС), яку відтворювали шляхом внутрішньовенного послідовного введення індукторів ПОЛ: 10% розчину аскорбінової кислоти (50 мг/кг), 1% розчину сульфату заліза (10 мг/кг) та 10% розчину хлориду кальцію (100 мг/кг) [Мороз с соавт., 2001].

Проникливість клітинних мембран досліджували за методом проникливості еритроцитарних мембран (ПЕМ) [Колмаков, Радченко, 1982], визначаючи гемоліз у робочих сумішах ізотонічних розчинів сечовини та хлористого натрію з такими об'ємними співвідношеннями: 40:60; 45:55; 50:50; 55:45; 60:40; 65:35; 100:0 відповідно. Осмотичну резистентність еритроцитів (ОРЕ) визначали за загальноприйнятим методом Лімбека та Рібера [Кост, 1986] у різних концентраціях гіпотонічного розчину хлористого натрію, а саме: 0,3%; 0,35%; 0,4%; 0,45%; 0,5%. Рівень малонового діальдегіду (МДА), вторинного продукту ПОЛ, досліджували за загальноприйнятим методом реакції з тіобарбітуровою кислотою з використанням фотоелектроколориметра КФК-2ПМ

при довжині хвилі 540 нм [Гаврилов с соавт., 1987]. Визначення ПЕМ, ОРЕ, МДА проводили при відтворенні мембранодеструктивної моделі аритмії серця. Забір крові проводили шляхом торакотомії й пункції лівого шлуночка в момент розвитку фібриляції шлуночків.

Оцінювали здатність аміодарону, ритмокору та їх комбінації попереджувати підвищену проникливість мембран, рівень ПОЛ та пов'язані з цим порушення ритму серця. Препарати застосовували в наступних дозах: аміодарон (фірма Sanofi-Synthelabo, Франція) 10 мг/кг та 5 мг/кг, ритмокор ("ФарКОС", Україна) 100 мг/кг та комбінація аміодарону 5 мг/кг із ритмокором 100 мг/кг. Отримані дані оброблені з використанням стандартних статистичних комп'ютерних програм.

Результати. Обговорення

При відтворенні мембранодеструктивної моделі АС виникають ектопічні порушення серцевого ритму, які призводять до появи фатальних аритмій та смерті тварин (табл. 1).

Таблиця 1. Вплив аміодарону, ритмокору та їх комбінацій на ПЕМ, ОРЕ, МДА і ритм серця при мембранодеструктивній моделі аритмії серця.

Дослідні групи та препарати	n	МДАС			ПЕМ	ОРЕ	МДА
		ЖЕ	ФШ	Вижило	%	%	ммоль/л
Інтактні (контроль)	10	-	-	-	84,1±2,2	15,5±0,7	14,2±3,1
Контроль на МДАС	10	9	7	-	90,4±2,3*	35,6±3,3*	33,1±4,5*
Аміодарон, 10 мг/кг	7	6	5	2	87,6±2,5	16,1±2,3*	42,1±5,1
Аміодарон, 5 мг/кг	6	6	5	1	84,5±2,2	28,4±3,1	28,5±5,4
Ритмокор, 100 мг/кг	7	5	4	5**	84,6±2,4	26,6±3,9**	18,1±4,8*
Аміодарон, 5 мг/кг + Ритмокор, 100 мг/кг	8	5	3**	6**	83,0±2,8**	17,1±2,4**	20,1±3,6*

Примітки: "*" - $p < 0,05$ у порівнянні з контролем; "**" - $p < 0,05$ у порівнянні з активацією ПОЛ.

При дослідженні проникливості еритроцитарних мембран (ПЕМ) встановлено, що в інтактних тварин вона становила в середньому 84,1±2,2% гемолізованих еритроцитів у пробі із співвідношенням сечовини до хлористого натрію як 50:50 відповідно. А у тварин, яким вводилися індуктори ПОЛ із метою ініціації аритмії серця ПЕМ дорівнювала 90,4±2,3% (табл. 1). При оцінці осмотичної резистентності еритроцитів (ОРЕ) у контрольній групі щурів вміст гемолізованих еритроцитів у пробі з розчином 0,45% NaCl складав 15,5±0,7%, а в групі тварин, яким відтворювали порушення серцевого ритму, зріс до 35,6±3,3% (табл. 1). Рівень малонового діальдегіду у тварин, яким ініціювали аритмії серця, підвищувався, порівняно з контрольною групою, з 14,2±3,1 до 33,1±4,5 ммоль/л (табл. 1).

Як видно з наведених у таблиці 1 даних, здатність препаратів, які досліджуються, впливати на електричну активність міокарда та ритм серця при мембранодеструктивній моделі АС проявлялась по-різному. Ефективність блокатора іонних каналів аміодарону була слабко вираженою, а комбінація аміодарону з ритмокором

проявляла достовірну антиаритмічну та протифібриляторну активність й підвищувала виживання тварин за рахунок мембранопротекторних властивостей ритмокору. Отримані результати антиаритмічної ефективності препаратів підтверджуються даними лабораторного дослідження проникливості клітинних мембран та стану ПОЛ. Нами встановлена тенденція підвищення рівня малонового діальдегіду під впливом аміодарону в порівнянні з групою контролю з 33,1±4,5 до 42,1±5,1 ммоль/л. У той же час, комбіноване застосування аміодарону з ритмокором має достовірну антиоксидантну активність, що свідчить про нівелювання ритмокором прооксидантних ефектів аміодарону. Вплив препаратів на осмотичну резистентність еритроцитів проявляється у здатності аміодарону, ритмокору та їх комбінацій підвищувати осмотичну стійкість, що пояснюється властивістю препаратів ущільнювати мембрану, тобто їх мембранопротекторними особливостями. Інша картина спостерігається при дослідженні впливу препаратів на проникливість еритроцитарних

мембран: аміодарон поступається активності ритмокору та їх комбінації. Це пояснюється прооксидантною дією аміодарону в умовах активації ПОЛ, що обмежує його пряму мембранопротекторну активність.

Таким чином, використана нами мембранодеструктивна модель АС, яка базується на принципах деструкції біліпідного шару мембран продуктами ПОЛ, що призводить до порушення катіонтранспортної функції клітинних мембран та

ініціації ектопічних аритмій серця, дозволила вивчити позаканальну проникливість клітинних мембран для катіонів та її вплив на електрофізіологічні властивості міокарда. Внутрішньоклітинний іонний дисбаланс, який виникає при цьому, є наслідком неелектрогенного, позаканального надходження іонів (переважно Ca^{2+}) через утворені шляхом деструкції пори в мембрані - "перекисні кластери" [Меєрсон, Белкіна, 1986]. Нами встановлено, що підвищення показників проникливості еритроцитарних мембран та рівня малонового діальдегіду корелює з виникненням порушень серцевого ритму.

Підтвердженням ролі позаканальної проникливості для аритмогенних катіонів у розвитку порушень серцевого ритму є слабка ефективність блокатора іонних каналів аміодарону та виражена антиаритмічна активність мембранопротекторного засобу ритмокору та його комбінації з аміодароном на мембранодеструктивну модель АС. Аміодарон, на відміну від комбінованого застосування з ритмокором, підвищує концентрацію малонового діальдегіду, не зменшує проникливість

клітинних (еритроцитарних) мембран, хоча й збільшує осмотичну резистентність еритроцитів. Вважається, що осмотична резистентність у більшій мірі характеризує механічну стійкість мембранних структур, а проникливість еритроцитарних мембран - електрофізіологічну стабільність. Тобто, можна вважати, що в ефективності комбінації аміодарону з ритмокором значну роль відіграють антиокислювальні властивості ритмокору, а також його пряма мембранотропна (мембранопротекторна) дія, яка, напевно, обумовлена особливостями хімічної будови складових препаратів.

Електрофізіологічні властивості аміодарону полягають у його здатності блокувати паталогічно активовані K^+ , Na^+ , Ca^{2+} -канали та проявляти антиадренергічну дію [Преображенський, 1999]. Але аміодарон, зменшуючи інтрацелюлярний дисбаланс, не впливає на проникливість іонів через "перекисні кластери". Антиаритмічна дія ритмокору реалізується через його вплив на мембрани кардіоміоцитів, що обумовлено його мембра-

нопротекторними властивостями й здатністю нормалізувати мембранний потенціал.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. На мембранодеструктивній моделі АС при виникненні порушень серцевого ритму у тварин встановлено підвищення концентрації кінцевого продукту ПОЛ малонового діальдегіду та проникливості клітинних мембран.

2. Комбіноване застосування блокатору іонних каналів аміодарону та мембранопротекторного засобу ритмокору зменшує проникливість клітинних мембран та рівень ПОЛ за рахунок антиоксидантних та мембранопротекторних властивостей ритмокору.

Дослідження механізмів порушення електричної активності міокарда, що обумовлено підвищенням проникливості клітинних мембран (в умовах активації ПОЛ) є перспективним напрямком в лікуванні аритмій серця.

Література

- Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж. Молекулярна біологія клетки. В 3 т. /М.: Мир.- 1994. - Т.1.- С.36-52.
- Антонов В.Ф. Липиды и ионная проницаемость мембран.- М.: Наука.- 1982.- 150с.
- Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (Молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения).- М.: Медицина.- 1989.- 386с.
- Болдырев А.А. Биологические мембраны и транспорт ионов.- М.: Высшая школа.- 1985.- 93с.
- Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль И.Н. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой //Вопр. мед. химии.- 1987.- №1.- С.118-122.
- Ганонг В.Ф. Фізіологія людини. Підручник (пер. з англ.).- Львів.- 2002.- 784с.
- Геннис Г. Биомембраны. Молекулярная структура и функции.- М.:Мир.- 1997.- 622с.
- Колмаков В.Н., Радченко В.Г. Значение определения проницаемости эритроцитарных мембран (ПЭМ) в диагностике хронических заболеваний печени //Тер. архив.- 1982.- №2.- С.59-62.
- Кост Е.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования.- М.: Медицина.- 1968.- 240с.
- Меерсон Ф.З., Белкина Л.Н. Предупреждение аритмий и фибрилляции сердца с помощью антиоксидантов // Пат. физиол. и эксперим. терапия.- 1986.- №6.- С.1-11.
- Мхитарян Л.С., Орлова Л.С. Роль перикисного окисления липидов при ИБС и некоронарогенных заболеваниях миокарда //Тези IV наук.-практ. конф.- Київ, 2001.- С.113.
- Преображенский Д.В. Амиодарон: место в современной антиаритмической терапии //Клин. фарм. и терапия.- 1999.- №8.- С.2-8.
- Сперелакис Н. Физиология и патофизиология сердца. В 2 т. /М.: Медицина.- 1988.- Т.1.- 621с; Т.2.- 623с.
- Экспериментальная мембранодеструктивная модель аритмий сердца / В.М.Мороз, Т.Н.Липницкий, В.А.-Козловський, Н.Н.Бандурка //Мат. укр. наук.-практ. конф.: Сучасні проблеми кардіології та ревматології - від гіпотез до фактів.- Київ, 2001.- С.226.
- Frolkis U., Frolkis R., Dubur G. Antioxydants as antiarrhythmic drags //Cardiologia.- 1987.- Vol.74, №2.- P.124-132.
- Leibovitz B. Phenethylamines, Free Radicals, and Antioxydants. MAPS., Newsletter.- 1999.- Vol.1.- P.1.
- Opie L. Cellular mechanism for ischemic ventricular arrhythmias //Ann. Rev. Med.- 1990.- P.231-238.

УДК: 618.5:575.3:616.45-001.1/.3.001.5

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ В ОРГАНАХ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ НАЩАДКІВ СТРЕСОВАНИХ МАТЕРІВ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

О.В.Картавцева, Л.Ю.Сергієнко, Г.М.Черевко

Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я.Данилевського АМН України (вул. Артема, 10, м.Харків, 61002, Україна)

Резюме. Досліджували вплив соціального стресу матерів протягом першого триместру вагітності на гістологічну структуру репродуктивної системи хлопчиків - їх нащадків. Материнський стрес індукує порушення структури і функції яєчок та передміхурової залози у нащадків. Показано, що стрес у ранній період вагітності є патогенетичним фактором розвитку порушень органів репродуктивної системи.

Ключові слова: материнський стрес, нащадки, гістологічна структура, яєчки, передміхурова залоза.