

ВЛИЯНИЕ МЕКСИДОЛА НА СОСТАВ И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ МИОКАРДА В ПОСТРЕАНИМАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

Н. Н. Андреева, И. В. Мухина, Т. И. Соловьева

Центральная научно-исследовательская лаборатория,
ГОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия МЗ и СР РФ

Postresuscitative Effects of Mexidole on Myocardial Lipid Composition and Peroxidation

N. N. Andreyeva, I. V. Mukhina, T. I. Solovyeva

Central Research Laboratory, Nizhni Novgorod State Medical Academy,
Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation

На экспериментальной модели клинической смерти с последующей реперфузией исследовано влияние антигипоксанта метаболического типа — мексидола на липидный состав и активность перекисного окисления липидов ткани сердца крыс в отдаленном постреанимационном периоде. Показано, что применение мексидола в раннем реперфузионном периоде приводило к изменению фосфолипидного состава кардиомиоцитов, нормализации активности супероксиддисмутазы и каталазы, снижению содержания малонового диальдегида на 30-е сутки постреанимационного периода. Модификации спектра липидов ткани сердца проявлялись увеличением содержания фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина, обеспечивающих поддержание внутриклеточного ионного гомеостаза и деятельности сердечной мышцы, уменьшением лизофосфатидилхолина, обладающего аритмогенным действием, сфингомиелина и фосфатидных кислот.

An experimental model of clinical death followed by reperfusion was used to study the postresuscitative effects of the anti-hypoxant mexidole on lipid composition and peroxidation rates in the rat myocardium. The use of mexidole in early reperfusion was shown to lead to the altered phospholipid composition of cardiomyocytes, the normalization of the activities of superoxide dismutase and catalase, the lower levels of malonic dialdehyde on postresuscitative day 30. Modifications of the myocardium lipid spectrum appeared as the elevated levels of phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine that maintained intracellular ionic homeostasis and myocardial performance, as well as decreases in lysophosphatidylcholine having proarrhythmic activity and in sphingomyelin and phosphatidic acids.

Изменение фосфолипидного компонента биологических мембран представляет собой важное звено патогенеза как ишемического, так и реперфузионного повреждения клеток различных органов [1, 2]. В качестве механизмов, дестабилизирующих липидный бислой мембранных структур, могут выступать избыточная активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) на фоне депрессии системы антиоксидантной защиты, повышенная активность фосфолипаз и повторное угнетение синтеза фосфолипидов [1, 3]. Результатом данных процессов является изменение физико-химических свойств биомембран и активности липидзависимых ферментов, обеспечивающих метаболические, транспортные, регуляторные и рецепторные функции клеток [1]. В связи с этим деструкция фосфолипидного компонента мембран при ишемии и повреждение процессов его репарации при реоксигенации и рециркуляции играют главную роль в возникновении

и развитии сердечной недостаточности в постреанимационном периоде [4, 5].

Одной из основных задач современной реаниматологии является разработка методов коррекции ишемических и реперфузионных изменений клеточного, субклеточного метаболизма и стабилизации мембранных структур [6].

Цель нашей работы — изучение действия антигипоксанта метаболического типа — мексидола (2-этил-6-метил-3-гидрокси-пиридина сукцинат) на обратимость изменений спектра липидов миокарда в отдаленном постреанимационном периоде.

Материал и методы исследования

Эксперименты выполнены на белых нелинейных крысах-самцах массой 180—220 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Клиническую смерть моделировали путем пережатия сердечно-сосудистого пучка [7]. Период прекращения кровообращения составил 10 мин. Оживление проводили, применяя непрямой массаж сердца и искусственную вентиля-

Таблица 1

Влияние мексидола (в %) на спектр нейтральных липидов миокарда в постреанимационном периоде ($M \pm m$)

Группа	СЖК	ХС	ТГ	ЭХ
Интактная	26,69 $\pm$ 1,80	34,04 $\pm$ 0,69	26,70 $\pm$ 2,34	12,57 $\pm$ 1,21
1-я контрольная	29,75 $\pm$ 0,94 *	30,65 $\pm$ 1,15 *	32,10 $\pm$ 1,32 *	7,50 $\pm$ 0,51 *
1-я основная	35,20 $\pm$ 1,38 ***	27,99 $\pm$ 1,31 *	30,87 $\pm$ 1,74	5,94 $\pm$ 0,48 ***
2-я контрольная	23,72 $\pm$ 3,75	35,76 $\pm$ 1,94	26,35 $\pm$ 1,17	14,17 $\pm$ 1,13
2-я основная	40,33 $\pm$ 4,00 ***	31,23 $\pm$ 2,88	23,83 $\pm$ 1,45	4,61 $\pm$ 0,47 8* ***

Примечание. СЖК — свободные жирные кислоты; ХС — холестерин; ТГ — триглицериды; ЭХ — эфиры холестерина. Достоверность различий: * — по сравнению с интактной группой; ** — по сравнению со 1-й контрольной группой; *** — по сравнению со 2-й контрольной группой; ($r \leq 0,05$).

цию легких. Животных разделили на группы. Сердце у наркотизированных животных забирали на 60-й минуте (1-я контрольная группа, $n=12$) и на 30-е сутки (2-я контрольная группа, $n=8$) постреанимационного периода. Животным 2 основных групп в раннем реперфузионном периоде вводили мексидол в дозе 50 мг/кг.

Липиды экстрагировали по J. Folch [8]. Разделение липидов на фракции проводили методом тонкослойной хроматографии [9]. Количественную оценку фракций фосфолипидов и нейтральных липидов осуществляли на сканере Scan Maker E6 фирмы «Microtek» с использованием программы «Sigma Gel». Содержание отдельных классов липидов выражали в процентах от суммы площадей пиков, принятой за 100%. Содержание диеновых и триеновых конъюгатов определяли по УФ-спектру поглощения раствора липидов в метанол-гексане [10], малонового диальдегида (МДА) — с помощью 2-тиобарбитуровой кислоты [11]. Определяли активность антиоксидантных ферментов каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) [12, 13]. Статистический анализ проводили с применением t -критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Ранее нами установлено [14], что после клинической смерти к 60-й минуте постреанимационного периода в кардиомиоцитах снижалось содержание основных мембранных фосфолипидов — фосфатидилэтаноламина (ФЭ) и фосфатидилхолина (ФХ), накапливались лизоформы ФЭ и фосфатидилсерина (ФС), увеличивалось относительное количество фосфатидных (ФК) и свободных жирных кислот (СЖК). Уменьшение содержания ФХ и ФЭ частично компенсировалось увеличением относительного количества фракций сфингомиелина (СМ) и ФС.

Выявленные изменения отражали деструкцию мембранного аппарата кардиомиоцитов и срыв компенсаторных реакций, обеспечивающих его восстановление.

Наиболее значимыми механизмами физико-химической и структурной альтерации мембран клеток миокарда при ишемии и последующей его реперфузии являются чрезмерная интенсификация липопероксидных реакций, фосфолиполиза, торможение репарации поврежденных мембран и повторного синтеза их компонентов [1, 2]. По мнению А. С. Лебедева (1983), именно высокий уровень липоперекисей в фосфолипидах миокарда в раннем постреанимационном периоде спо-

собствовал деградации липидного бислоя мембран кардиомиоцитов, которая и стала причиной развития недостаточности сократительной способности миокарда после оживления.

Результаты нашего исследования показали, что применение мексидола в период реперфузии оказывало существенное влияние на спектральный состав фосфолипидов миокарда. В кардиомиоцитах у животных 1-й основной группы при действии мексидола в раннем постреанимационном периоде по сравнению с 1-й контрольной группой увеличилось относительное количество ФХ и ФЭ на 30 и 36% соответственно, ФС — в 2,3 раза, значительно уменьшилось содержание лизофосфатидилхолина (ЛФХ) — в 8,8 раза, отсутствовали фракции лизофосфатидилсерина (ЛФС) и лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ), количество СМ и ФК уменьшилось на 83,4% и в 5,7 раза соответственно ($r \leq 0,05$; рис. 1, 2).

Изменения спектра нейтральных липидов ткани сердца при введении препарата в исследуемый период были менее выражены: наблюдалось увеличение содержания СЖК на 18% при одновременном уменьшении относительного количества эфиров холестерина (ЭХ) на 21% ($r \leq 0,05$; см. таблицу).

Выявленные изменения относительного количества фракций ФХ, ФС, ФЭ, СМ при неизменном содержании холестерина (ХС) при применении мексидола, вероятно, будут вызывать уменьшение микровязкости мембран кардиомиоцитов и, следовательно, способствовать повышению функциональной активности липидзависимых мембранолокализованных ферментов цикла Кребса, дыхательной цепи митохондрий, транспортных АТФаз. Такая взаимосвязь между активностью мембранных ферментов и микровязкостью липидного компонента мембран описана в литературе [1].

Способность 3-оксипиридинов модифицировать фосфолипидный состав и изменять физико-химические свойства наружной мембраны митохондрий гепатоцитов продемонстрирована Е. Б. Бурлаковой и соавт. [15]. Так, введение беспородным белым мышам 6-метил-2-этил-3-оксипиридина приводило к увеличению со-

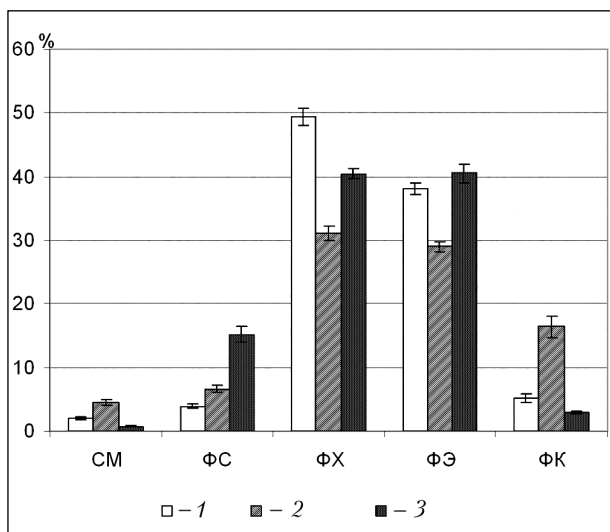


Рис. 1. Спектр фосфолипидов миокарда в реперфузионном периоде (60-я минута) при введении мексидола. Здесь и на рис. 2: 1 — интактная группа, 2 — 1-я контрольная группа, 3 — 1-я основная группа.

держания FX, FE и FC, снижению количества ЛФХ фракции в наружной митохондриальной мембране гепатоцитов, при этом микровязкость липидной компоненты мембран митохондрий уменьшалась.

Е. В. Левитиной [16] установлено, что у новорожденных детей с перинатальным гипоксическим повреждением нервной системы мексидол также вызывал модификацию фосфолипидного состава мембран тромбоцитов, которая проявлялась повышением содержания FC и тенденцией к увеличению FE, FX и общих фосфолипидов.

Выявленные нами изменения спектрального состава фосфолипидов миокарда в раннем постреанимационном периоде при действии мексидола отражают не только уменьшение микровязкости липидного бислоя, но и адаптационную направленность в организации клеточных мембран кардиомиоцитов, обуславливающую высокий уровень их антиоксидантной активности. Известно, что FX имеет антиоксидантные свойства и повышает резистентность мембран к ПОЛ, а FE усиливает антиоксидантную активность природных антиоксидантов [1].

Очевидно, мексидол, являясь антиоксидантом, что доказано Г. И. Клебановым и соавт. [17] на хемилюминесцентных модельных системах окисления, предупреждал «включение» FE, FX и FC в реакции ПОЛ и таким образом препятствовал делипидизации мембран кардиомиоцитов.

Согласно данным литературы [18], мексидол обладает прямым энергезирующим действием, поэтому увеличение содержания FC, FX, FE в ткани сердца в раннем постреанимационном периоде при введении мексидола, вероятно, связано с повторным их образованием и активацией реакций

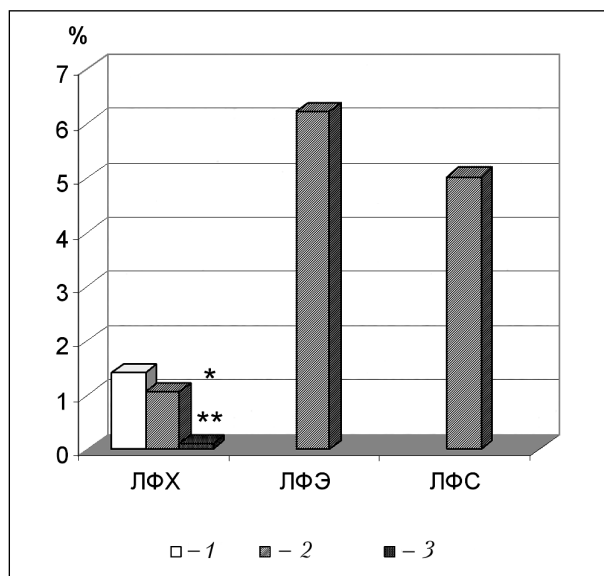


Рис. 2. Содержание лизофосфолипидов в ткани сердца в реперфузионном периоде (60-я минута) при введении мексидола.

Достоверность различий: * — с интактной группой; ** — с 1-й контрольной группой; ($p \leq 0,05$).

реацилирования, так как уменьшилось содержание FK и лизофосфолипидов. Существует зависимость работы кальциевого насоса клеточных мембран от содержания FE в составе фосфолипидного бислоя мембранных структур [1]. В связи с этим увеличение содержания FE в миокарде в исследуемый период при применении мексидола является одним из важных факторов, препятствующих избыточному накоплению Ca^{2+} в кардиомиоцитах и, следовательно, способствующих процессам сокращения и расслабления сердечной мышцы. Так, в эксперименте на изолированных сердцах крыс показано, что увеличение уровня цитоплазматического Ca^{2+} во время реперфузии сопровождалось деградацией фосфолипидного компонента мембран [19], также установлено [20], что мексидол уменьшал снижение показателей сокращения левого желудочка сердца крыс с локальной ишемией.

Лизофосфолипиды оказывают повреждающее действие на мембраны, ЛФХ обладает аритмогенной активностью [21], поэтому существенное уменьшение уровня ЛФХ и отсутствие фракций ЛФЭ и ЛФС в составе липидов кардиомиоцитов являются показателем кардиопротекторного действия мексидола в постреанимационном периоде. Выраженный антиаритмический эффект при введении мексидола наблюдали В. В. Гацура и соавт. [20] при моделировании инфаркта миокарда у крыс.

На 30-е сутки постреанимационного периода, как показано нами [14], в ткани сердца наблюдались деградация липидного компонента мембран, торможение процессов реацилирования фосфолипидов и повторного их синтеза, что про-

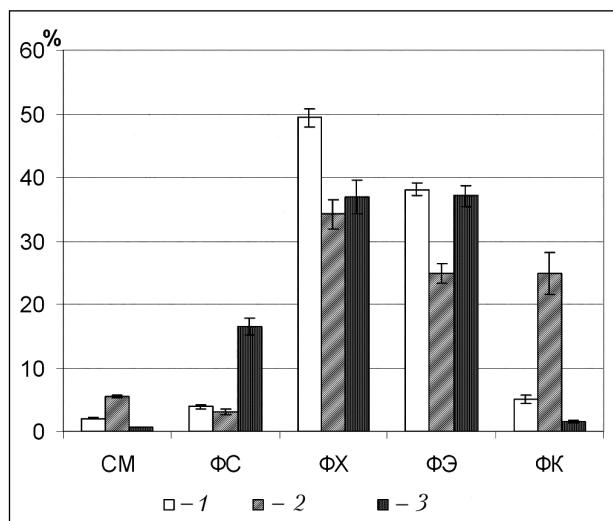


Рис. 3. Спектр фосфолипидов миокарда в постреанимационном периоде (30-е сутки) после введения мексидола.

Здесь и на рис. 4: 1 — интактная группа, 2 — 2-я контрольная группа, 3 — 2-я основная группа.

являлось уменьшением содержания основных фосфолипидов — ФХ, ФЭ, накоплением ЛФЭ и повышением относительного количества ЛФХ и ФК; при этом содержание ФС нормализовалось, а СМ — увеличилось.

Во 2-й основной группе по сравнению со 2-контрольной группой изменения фосфолипидного спектра кардиомиоцитов были связаны с увеличением ФС (в 5,3 раза), ФЭ (на 49%), существенным уменьшением ЛФХ (в 10 раз), СМ (в 8,4 раза) и ФК (в 16 раз) ($p \leq 0,05$; рис. 3, 4).

Учитывая, что ФС является предпочтительным липидом для $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-АТФазы}$, а ФЭ — фактором активации кальциевого насоса клеточных мембран [1], увеличение содержания этих фракций в фосфолипидном бислое кардиомиоцитов можно рассматривать как механизм, направленный на поддержание внутриклеточного ионного гомеостаза и обеспечения процессов сокращения и расслабления сердечной мышцы. Повышение во 2-й основной группе относительного количества ФЭ в составе липидов миокарда в отдаленном постреанимационном периоде после введения мексидола по сравнению со 2-й контрольной группой важно для функционирования липидзависимых ферментов дыхательной цепи митохондрий и, следовательно, обеспечения энергообразующей функции этих органелл. Доказательством этого предположения являются данные о способности мексидола повышать степень энергизации клетки [18].

Применение мексидола в раннем реперфузионном периоде способствовало уменьшению вязкости липидного компонента мембран кардиомиоцитов в отдаленном постреанимационном периоде за счет изменения соотношения насыщенных фосфолипидов (СМ) и ненасыщенных (ФС и ФЭ) на фоне стабильного уровня ХС.

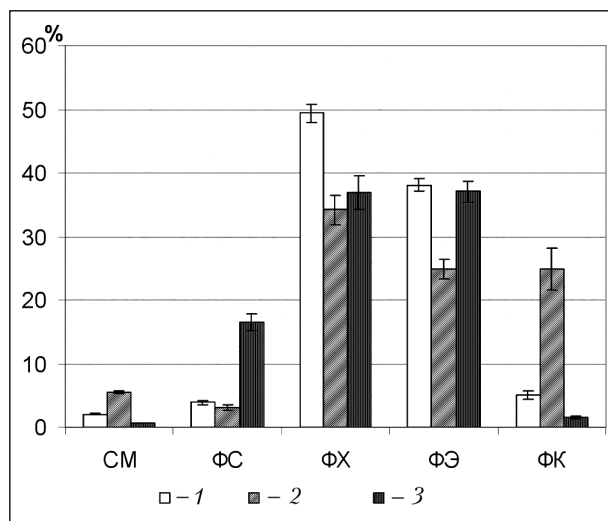


Рис. 4. Содержание лизофосфолипидов в ткани сердца в постреанимационном периоде (30-е сутки) после введения мексидола.

На 30-е сутки постреанимационного периода у животных 2-й основной группы по сравнению с таковыми 2-й контрольной в ткани сердца наблюдалось также увеличение содержания СЖК на 70% при параллельном уменьшении ЭХ на 67,5% ($p \leq 0,05$; см. таблицу).

В физиологических условиях основной пул СЖК в миокарде преимущественно вовлечен в β -окисление, обеспечивающее сердечную мышцу энергией, и поддержание мембранного гомеостаза. Незначительное количество СЖК участвует в синтезе простагландинов и окисляется в пероксисомах без образования энергии [2]. Так как применение мексидола вызывало увеличение содержания ФС, ФЭ во 2-й основной группе по сравнению со 2-й контрольной, и при этом уровень ЛФЭ оставался неизменным, а фракция ЛФС отсутствовала, следовательно, СЖК активно включались в процесс реацилирования. Уменьшение же содержания ЭХ и одновременное повышение количества СЖК, по-видимому, связано с мобилизацией депонированной формы липидов (ЭХ) для последующей утилизации СЖК в энергообразующих реакциях.

Кардиопротекторное действие мексидола, направленное на уменьшение содержания ЛФХ, вызывающего нарушения сердечного ритма [21], сохранялось и на 30-е сутки постреанимационного периода. Очевидно, уменьшение ЛФХ обусловлено активацией лизофосфолипазы, так как содержание ФХ не изменилось.

После введения мексидола на 30-е сутки постреанимационного периода (2-я основная группа) в ткани сердца наблюдалась нормализация активности антиоксидантных ферментов СОД и каталазы ($p \leq 0,05$) на фоне снижения содержания МДА по сравнению с контролем (2-я

контрольная группа) на 26% ($r \leq 0,05$), количество диеновых и триеновых конъюгатов не изменилось.

Таким образом, мексидол способствовал модификации фосфолипидного состава кардиомиоцитов в отдаленном постреанимационном периоде при нормализации ПОЛ, что выража-

лось увеличением содержания фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина, обеспечивающих поддержание внутриклеточного ионного гомеостаза и деятельности сердечной мышцы, уменьшением лизофосфатидилхолина, обладающего аритмогенным действием, сфингомиелина и фосфатидных кислот.

Литература

1. Биленко М. В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. М.: Медицина; 1989.
2. Гринберг А. Роль липидов в метаболизме сердечной мышцы. Медикография. 1999; 2: 29–38.
3. Оковитый С. В., Смирнов А. В. Антигипоксанта Эксперим. и клинич. фармакология. 2001; 64 (3): 76–80.
4. Долгих В. Т., Русаков В. В., Корпачева О. В. и др. Ведущие патогенетические факторы постреанимационной кардиодепрессии Теоретические и клинические проблемы современной реаниматологии: Материалы Международного симпозиума, посвящен. 90-летию со дня рождения академика РАМН В. А. Неговского, 23–24 марта 1999г. М.; 1999: 56.
5. Лебедев А. С. Перекисное окисление липидов в миокарде крыс после оживления В кн.: Терминальные состояния.: Сб. науч. тр. Новосибирск; 1983: 3–5.
6. Неговский В. А., Мороз В. В. Теоретические и клинические проблемы реаниматологии Анестезиология и реаниматология. 2000; 6: 4–6.
7. Корпачев В. Г., Лысенков С. П., Тель Л. З. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс Патол. Физиология. 1982; 3: 78–80.
8. Folch J., Less M., Stanley G. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissue. Biol. Chem. 1957; 226 (2): 497–509.
9. Паршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Разделение липидов по классам Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. М.: Мир; 1980: 536–541.
10. Ланкин В. З., Герасимова Е. Н., Касаткин Л. Б. Перекиси липидов и атеросклероз. Ферментативная детоксикация перекисей липидов в крови больных ишемической болезнью сердца, обусловленной атеросклерозом коронарных артерий. Кардиология. 1979; 6: 71–75.
11. Smith J. B., Ingberman C. M., Silver M. J. Malondialdehyde formation as an indication of prostaglandin production by human platelets. J. lab. Clin. Med. 1976; 88 (1): 167–172.
12. Aebi H. Methoden der erymatiechen analyses. Biochemistry. 1970; 2: 636–647.
13. Nischikimi M., Rao A., Xagi K. The occurrence of superoxide anion in reaction of reduced phenaxinemetasulfate and molecular oxygen. Biochem. Biohys. Res. Commun. 1972; 146 (2): 849–854.
14. Андреева Н. Н., Мухина И. В., Лапшин Р. Д. Модификации фосфолипидного компонента мембран кардиомиоцитов и гепатоцитов в постишемическом периоде. Нижегородский мед. журн. 2003; 2: 20–25.
15. Бурлакова Е. Б., Кайране Ч. Б., Молочкина Е. М. и др. Модификация липидов наружной мембраны митохондрий печени мышей и кинетических параметров мембраносвязанной моноаминоксидазы *in vivo* и *in vitro*. Вопр. мед. химии 1984; 1: 66–72.
16. Левитина Е. В. Влияние мексидола на клинко-биохимические проявления перинатальной гипоксии у новорожденных детей. Эксперим. и клинич. фармакология. 2001; 64 (5): 34–36.
17. Клебанов Г. И., Любичкий О. Б., Васильева О. В. и др. Антиоксидантные свойства производных 3-оксипиридина: мексидола, эмоксипина и проксипина. Вопр. мед. химии. 2001; 47: 288–300.
18. Лукьянова Л. Д. Новые подходы к созданию антигипоксанта метаболического действия. Вестник РАМН. 1999; 3: 18–25.
19. Ivancics T., Miklos Z., Dezsi L. et al. Concomitant accumulation of intracellular free calcium and arachidonic acid in the ischemic-reperfused rat heart Mol. Cell. Biochem. 2001; 226 (1–2): 119–128.
20. Гацура В. В., Пичугин В. В., Сернов Л. Н. и др. Противоишемический кардиопротекторный эффект мексидола. Кардиология. 1996; 36 (11): 59–62.
21. Опи Л. Х. Обмен веществ и энергии в миокарде. Физиология и патофизиология сердца/ Под ред. Н. Сперелакиса. Т. 2. М.: Медицина; 1990: 7–63.

Поступила 15.06.04