

УДК 616. 127-005.8-092.9-
085.272.4.014.42507:[616.127-008.939.15-39+616.127-008.939.53]

КОМБИНИРОВАННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ВИТАМИНА Е И НУКЛЕИНАТА НАТРИЯ В НОРМАЛИЗАЦИИ ФОСФОЛИПИДНОГО СОСТАВА И ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ МИОКАРДА ПРИ ЕГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНФАРКТЕ

А.А.Енгибарян, К.Г.Карагезян, С.С.Овакимян, А.В.Мелкумян

*/Ереванский государственный медицинский университет им.М. Гераци,
Институт молекулярной биологии НАН РА/
375025, Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: фосфолипиды, витамин Е, нуклеинат натрия, липидная пероксидация, инфаркт миокарда

Общеизвестно, что фосфолипиды (ФЛ) имеют существенное значение в структурной организации клеточных мембран и малейшие отклонения в постоянстве существующих ФЛ-ФЛ соотношений сопровождаются глубокими нарушениями в их структурной организации и активности мембраносвязанных ферментов, что существенно отражается на жизнедеятельности клетки в целом. Показано, что основным субстратом липопероксидации являются ненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав ФЛ и являющиеся самым лабильным компонентом мембранных структур.

В результате исследований последних лет установлено повреждающее действие гидроперекисей липидов на нормальное функционирование ионтранспортных систем сарколеммы, сопровождающееся метаболическим поражением кардиомиоцитов [1].

Цель настоящей работы — выявить закономерности в картине количественных сдвигов различных фракций ФЛ — суммарных, нейтральных (НФЛ) и кислых (КФЛ) как основных компонентов архитектоники биологических мембран на различных этапах развития заболевания после моделирования инфаркта миокарда без применения и с применением комбинированной антиоксидантотерапии.

Материал и методы

Исследования проводили на 40 кроликах-самцах средней массы; моделирование инфаркта миокарда осуществляли перевязкой нисходящей ветви левой коронарной артерии. Подопытные животные условно были разделены на 3 группы согласно срокам наблюдения и декапитировались на 1-, 3-, 7-, 15-, 25-е дни после моделирования инфаркта миокарда. Периинфарктную зону миокарда изолировали на холоду в максимально сжатые сроки, тщательно гомогенизировали

и использовали для получения ацетонного порошка. Экстракцию ФЛ производили из последнего, как описано ранее [5], фракционирование ФЛ осуществляли методом одномерной восходящей хроматографии на бумаге Фильтрак ФН-11 (ГДР), пропитанной кремниевой кислотой [3, 5, 7]. Интенсивность процесса липидной пероксидации в NADPH-зависимой системе окисления определяли по выходу малонового диальдегида (МДА) [2].

Введение α -токоферола (α -ТФ) производили внутримышечно из расчета 2 мг на 1 кг массы в сочетании с нуклеинатом натрия (предшественником нуклеопротеидов) в дозе 25 мг на 1 кг массы на протяжении 25 дней после моделирования инфаркта миокарда.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований (табл.1) показали значительное снижение содержания суммарных ФЛ на 1- и особенно на 3-й день после моделирования инфаркта миокарда — приблизительно на 25 и 30% соответственно. Эти изменения происходят за счет всех представителей ФЛ. На 7- и 15-й дни эксперимента, наоборот, обнаруживается увеличение содержания суммарных ФЛ, составляющих приблизительно 70% от контроля, а на 25-й день — понижение его примерно на 21%.

Комбинированное введение α -ТФ и нуклеината натрия оказывает ингибирующее действие на увеличение суммарных ФЛ (по сравнению с нелечеными случаями) и поддерживает уровень этих соединений в пределах нормы (табл.2). Описанные сдвиги характеризуются интересными закономерностями в картине количественных изменений НФЛ и КФЛ, наблюдающимися в различные сроки после моделирования инфаркта миокарда как без лечения, так и с применением комбинации отмеченных препаратов.

Содержание НФЛ в сердечной мышце на 1- и 3-й дни эксперимента убывает на 35 и 37% преимущественно за счет уменьшения содержания лизофосфатидилхолинов, сфингомиелинов и фосфатидилэтаноламинов. Аналогичные изменения обнаруживаются в содержании КФЛ (убыль на 15 и 35% соответственно) главным образом благодаря однотипным сдвигам в уровне монофосфоинозитидов и кардиолипидов. Примечательно, что как и в случае с суммарными ФЛ, возрастание содержания НФЛ и КФЛ в миокарде на 7- и 15-й дни эксперимента оказывается значительным, составляя приблизительно 63, 77, 83 и 70% от контроля, а понижение его на 25-й день наблюдения составляет примерно 20 и 24% соответственно. Описанные отклонения в содержании НФЛ и КФЛ обеспечиваются однонаправленными изменениями содержания их отдельных представителей.

Иной была динамика изменений содержания НФЛ и КФЛ в миокарде кроликов с моделированным инфарктом сердца на фоне комбинированного лечения (табл.2). Несмотря на однотипность в сдвигах содержания исследованных липидов в пораженном миокарде подопытных животных как нелеченых, так и подвергнутых комбинированному лечению процент отклонения их содержания от нормы при лечении оказывается минимальным. Интересно, что при этом в первые 2 срока после моделирования инфаркта сердца (1-3-й дни) с применением комбинированного лечения существенных отклонений в картине убыли суммарных и индивидуальных ФЛ пораженного миокарда практически не обнаруживалось. Эффекты примененного комбинированного лечения в наших исследованиях стали проявляться лишь с 7-го дня после моделирования инфаркта ми-

окарда. На 7- и 15-й дни наблюдения отмечено увеличение содержания НФЛ в миокарде всего на 12 и 17%, КФЛ — на 15 и 8%; уменьшение же количества этих липидов на 25-й день наблюдения отмечается на 13 и 15% соответственно.

Таблица 1

Количественные изменения ФЛ (в мкг липидного фосфора на 1г влажной ткани) в сердечной мышце кролика и динамика интенсивности свободнорадикального окисления липидов в NADP-H-зависимой системе окисления (иМ МДА на 1г влажной ткани) в различные сроки после моделирования инфаркта миокарда (М±m)

ФЛ	Контроль	1-й день	3-й день	7-й день	15-й день	25-й день
ЛФХ	72.0	49.1±7.6*	43.2±5.8*	89.4±3.4*	84.5±4.3*	57.7±2.8*
МФИ	64.4	42.3±9.3*	39.9±8.2*	104.0±13.2*	104.8±14.4*	107.4±6.1*
СМ	106.0	56.1±6.0*	45.3±8.3*	161.7±16.0*	204.0±14.8*	77.0±9.0*
ФХ	137.0	125.0±8.1	109.3±11.9	150.6±18.6	157.4±18.0*	136.5±23.5
ФС	50.0	60.1±9.0	43.1±7.3	163.8±13.0*	145.4±17.7*	64.5±7.4
ФЭА	90.0	43.1±8.7*	62.1±6.2*	97.0±4.3*	151.2±20.0*	67.6±8.0*
КЛ	78.5	66.3±9.8*	47.3±3.9*	565.5±28.2*	69.7±5.0	37.0±3.7
НФЛ	405.0	274.1±18.3*	259.9±12.9*	352.4±26.6*	597.1±40.0*	338.8±14.8
КФЛ	192.9	168.7±17.3*	130.3±14.1*	1.6±0.1*	319.9±24.0*	208.9±12.7*
НФЛ/КФЛ	2.1	1.6	2.0	927.9*	1.9	1.6
ΣФЛ	597.9	442.8±28.7*	390.0±10.6*	0.76±0.03*	917.0±41.8*	547.7±36.4
МДА	0.26	0.65	0.93	0.04*	0.56*	0.86

Примечание. *Здесь и в табл. 2 различия по отношению к контролю достоверны ($p < 0,01-0,001$). ЛФХ—лизофосфатидилхолин, МФИ—монофосфоинозитиды, СМ—сфингомиелины, ФХ — фосфатидилхолины, ФС — фосфатидилсерины, ФЭА — фосфатидилэтаноламины, КЛ — кардиолипины, НФЛ — нейтральные ФЛ, КФЛ — кислые ФЛ, МДА — малоновый диальдегид.

В NADP-H — зависимой системе окисления липидов во все сроки исследования обнаруживается увеличение срока МДА, превышающее его нормальный уровень приблизительно на 200 — 330% (табл.1). Примечательно, что снижение примерно на 21% содержания суммарных ФЛ на 25-й день моделирования инфаркта соответствует более чем трехкратному увеличению (330%) интенсивности пероксидации липидов в тот же период наблюдения.

Комбинированное лечение α-ТФ и нуклеинатом натрия значительно уменьшает интенсивность пероксидации липидов, главным образом на 7- и 15-й дни эксперимента. Отмеченные сроки характеризуются значительным

уменьшением содержания МДА (по сравнению с контролем на 85 и 65%, а по сравнению с нелечеными случаями — на 95 и 84% соответственно). Иная картина наблюдается на 25-й день постинфарктного периода на фоне комбинированного лечения. В этих случаях имеет место некоторое торможение (примерно на 28%) процесса свободнорадикального окисления липидов (по сравнению с нелечеными случаями), хотя уровень МДА тем не менее превосходит контрольные цифры (примерно на 240%).

Таблица 2

Количественные изменения суммарных и индивидуальных ФЛ (в $\mu\text{кг}$ липидного фосфора на 1г влажной ткани) миокарда кролика и динамика интенсивности свободнорадикального окисления липидов в NADP-H-зависимой системе окисления ($\mu\text{М}$ МДА на 1г влажной ткани) в различные сроки после экспериментального инфаркта миокарда с применением α -ТФ (2мг на 1кг массы) и нуклеината натрия (25мг/кг)

ФЛ	Контр.	1-й день	3-й день	7-й день	15-й день	25-й день
ЛФХ	72.0	50.0 $\pm$ 7.8*	45.1 $\pm$ 6.0	Не обнаружено	55.3 $\pm$ 3.5	62.6 $\pm$ 13.8
МФИ	64.4	41.3 $\pm$ 9.1*	39.7 $\pm$ 9.8*	78.6 $\pm$ 8.5, 0.05	71.4 $\pm$ 6.0	51.7 $\pm$ 14.0
СМ	106.0	55.25 $\pm$ 10.3*	44.7 $\pm$ 8.1*	142.5 $\pm$ 4.5*	139.3 $\pm$ 14.6	106 $\pm$ 29.5
ФХ	137.0	127.4 $\pm$ 7.9	107.0 $\pm$ 12.0*	192.6 $\pm$ 3.3*	194.0 $\pm$ 30	143.5 $\pm$ 12.5
ФС	50.0	60.1 $\pm$ 9.0*	44.3 $\pm$ 7.0	78.4 $\pm$ 5.6	76.3 $\pm$ 6.0	81.36 $\pm$ 19.3
ФЭА	90.0	44.0 $\pm$ 9.0	61.3 $\pm$ 61.3*	85.5 $\pm$ 5.5	85.4 $\pm$ 5.0	62.0 $\pm$ 17.8
КЛ	78.5	67.7 $\pm$ 10.0	47.1 $\pm$ 4.8*	60.6 $\pm$ 2.4*	58.1 $\pm$ 7.0	30.24 $\pm$ 1.6*
НФЛ	405.0	276.7 $\pm$ 18.8*	258.2 $\pm$ 12.7*	420.6 $\pm$ 16.0*, 0.01	440.6 $\pm$ 13.2*, 0.01	353 $\pm$ 19.3*
КФЛ	193.0	169.6 $\pm$ 12.0	131.1 $\pm$ 3.3	217.7 $\pm$ 0.7	205.8 $\pm$ 14.5	163.33 $\pm$ 14.3
НФЛ/КФЛ	2.1	1.63	1.97	1.93	2.1	2.16
Σ ФЛ	598.0	446.3 $\pm$ 28.5*	389.3 $\pm$ 10.6*	638.3 $\pm$ 16.5*	264.4 $\pm$ 30.0*	1201.0 $\pm$ 34.5*
МДА	0.26	0.50*	0.48*	0.04*	0.09*	0.62*

Полученные результаты указывают на эффективность нуклеината натрия и особенно его сочетания с α -ТФ при инфаркте миокарда. Эти препараты способствуют поддержанию в мышце сердца постоянного уровня нейтральных и кислых ФЛ как двух структурно и функционально различных категорий ФЛ, необходимых для обеспечения нормальных физико-химических свойств функционирующей мембраны. Предотвращение возможных колебаний в качественном и количественном содержании ФЛ в биологических системах является одним из главных условий обеспечения их нормального физиологического статуса [3].

Придавая возможное значение не только качественному набору различных представителей ФЛ в данной биологической системе, но также их количественным соотношениям, мы исследовали динамику изменений величины коэффициента отношения суммы нейтральных ФЛ к сумме кислых. На протяжении 25 дней после моделирования инфаркта миокарда существенные изменения величины этого коэффициента мы обнаружили только на 1-й день. В остальные периоды несмотря на наличие существенных отклонений в содержании НФЛ и КФЛ изменения в величине коэффициента НФЛ/КФЛ были незначительными.

Таким образом, на фоне развития морфологических и метаболических нарушений в мышце сердца при инфаркте имеет место сохранение существующих в норме количественных соотношений между индивидуальными представителями этих соединений, что мы рассматриваем как частное проявление компенсаторно-приспособительной реакции организма. Описанные изменения в величине указанного коэффициента в раннем периоде развития инфаркта сердца важны для понимания механизма развития многочисленных метаболических нарушений, обусловленных дисфункциями ряда мембраносвязанных ФЛ-зависимых ферментных систем. Описанные сдвиги, характерные для 1-го дня заболевания, важны для оценки результатов комплексного лечения. Существенно купирующее действие нуклеината натрия на развитие отклонений в соотношениях ФЛ в миокарде. Применение α -ТФ в сочетании с нуклеинатом натрия поддерживает уровень НФЛ и КФЛ в пределах нормы и препятствует развитию заметных колебаний в величине изученного коэффициента.

Наши данные свидетельствуют о значительном ингибирующем эффекте сочетанного воздействия α -ТФ и нуклеината натрия на перекисидацию липидов преимущественно на 7- и 15-й дни после моделирования инфаркта миокарда. Неожиданно интенсификация перекисидации липидов на 25-й день развития заболевания, когда отмечалось снижение содержания ФЛ. Этот факт, представляющий самостоятельный интерес, пока необъясним и указывает на необходимость учета динамики процессов перекисидации липидов как фактора, могущего служить ценным прогностическим показателем.

Поступила 09.11.95

ՄՐԱՍՄԱՆԻ ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ԻՆՖԱՐԿՏԻ ՊԱՅՄԱՆԵՐՈՒՄ

Ե ՎԻՏԱՄԻՆԻ ԵՎ ՆԱՏՐԻՈՒՄ ՆՈՒՎԼԵՆԱՏԻ ՀԱՍՏԱԿՑՎԱԾ

ՕԳՏԱԳՈՐԾՈՒՄԸ ՖՈՍՖՈՒԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ԲԱՂԱԳՐՈՒԹՅԱՆ

ԵՎ ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՅՄԱՆ ԿԱՆՈՆԱՎՈՐՄԱՆ ՆՊԱՏԱԿՈՎ

Ա.Ա.Ենգիբարյան, Կ.Գ.Կարազոզյան, Ս.Ս.Հովակիմյան, Ա.Վ.Մելքունյան

Ճագարների սրտամկանի փորձարարական ինֆարկտի տարբեր օրերին որոշվել է սրտամկանում անհատական ֆոսֆոլիպիդների, նրանց ընդհանուր բաղադրության, հիմնային եւ թթվային ֆոսֆոլիպիդների որակական ու քանակական հարաբերակցությունը, ինչպես նաեւ լիպիդային գերօքսիդացման ինտենսիվությունը: Այդ ընթացքում հայտնաբերվել են տարբեր ֆոսֆոլիպիդների, մասնավորապես կարդիոլիպիդի քանակական արտահայտված տեղաշարժեր եւ լիպիդների գերօքսիդացման ուժեղացում:

Յույց է տրված α -տոկոֆերոլի եւ մատրիում մուկլեինատի համակցված օգտագործման արդյունավետությունը սրտամկանի ֆոսֆոլիպիդների որակական ու քանակական տեղաշարժերի եւ լիպիդների գերօքսիդացման կանոնավորման վրա:

Նշված դեղամիջոցների օգտագործումը ապահովում է փորձարարական ինֆարկտի պայմաններում թթվային եւ հիմնային ֆոսֆոլիպիդների, ինչպես նաեւ ֆոսֆոլիպիդ-ֆոսֆոլիպիդային հարաբերակցության կայունությունը, որը շատ էական է

կարդիոմիոցիտների կենսագործունեության պահպանման գործում: Այս արդյունքը ի հայտ է գալիս ինֆարկտի մոդելավորման առաջին օրվանից սկսած եւ շարունակվում է մինչեւ 25-րդ օրը: Նշված փոփոխությունները ուղեկցվում են լիպիդների ազատ-ռադիկալային օքսիդացման վիճակագրորեն հավաստի թուլացմամբ: Սակայն հետազոտության 25-րդ օրը նորից այս պրոցեսը բուժված կենդանիների մոտ եւս ուժեղանում է: Հա անհրաժեշտություն է առաջացնում շարունակելու պատճառագիտական եւ ախտագրագանձման մեխանիզմների հետազոտումնասիրությունը:

COMBINED USE OF VITAMIN E AND SODIUM NUCLEINATE FOR NORMALISATION OF MYOCARDIUM PHOSPHOLIPID COMPOSITION AND LIPID PEROXIDATION WHILE STIMULATING MYOCARDIAL INFARCTION

A.A.Yengibarian, K.G.Karagiozian, S.S. Hovakimian, A.V. Melkumian

It is shown that combined administrations of α -tocoferol and sodium nucleinate lead to normalisation of qualitative and quantitative content of phospholipids. The changes are accompanied by a simultaneous limitation of lipid peroxidation activity and normalisation of the phospholipid-phospholipid interrelations. The results of the studies of phospholipids spectrum changes of the so-called "non-damaged" necrosis regions of the muscle allow to conclude that the isolated introduction of α -tocoferol and sodium nucleinate to the animals as well as the use of their combination regulate the total and the individual phospholipids correlations. It concerns in particular such phospholipids as cardiolipines and phosphatidylethanolamines, which are effectors of the key-enzymes of nucleic and energetic metabolism. The significance of the revealed changes is not only in their phospholipids functional role in the structural and functional organisation of the cardiomyocytes membranes, but also in the fact that many of them having antioxidant properties are at the same time the main labile substrates, involved into the reactions of the free-radical peroxidation. The therapeutic role of the compounds tested is discussed.

ЛИТЕРАТУРА

1. Енгибарян А.А., Акопян В.П., Карагезян К.Г. Комбинированная антиоксидантотерапия при коронарно окклюзионном инфаркте миокарда. Ереван, 1994.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах М., 1972.
3. Карагезян К.Г. Лаб. дело, 1969, 1, с.29.
4. Крепс Е.М. Фосфолипиды клеточных мембран нервной системы в развитии животного мира (Баховские чтения XXII). Л., 1967.
5. Смирнов А.А., Чирковская Е.В., Манукян К.Г. Биохимия, 1961, 26, с. 1027.
6. Folch J. J. Biol. Chem., 1946, 35, p.142.
7. Marinetti G.V., Stoltz E. Biochem, Biophys. Acta, 1956, 21, p. 168.