

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При кристаллизации спиртового раствора нингидрина без добавок образуются крупные кристаллы в форме правильных сферолитов. В ходе эксперимента форма и размер кристаллов менялись. На ранних этапах регенерации кристаллы приобретали форму полусферолитов, в процессе заживления количество лучей прогрессивно нарастало. К завершению регенераторного процесса (21-е сутки) кристаллы имели форму сферолитов, сходную с таковой у интактных животных. Кристалломорфология плазмы может быть использована в качестве одного из дополнительных методов исследования и диагностики характера регенераторного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буглак А. О., Шестакова В. Г., Ганина Е. Б. Биокристалломика как метод прогнозирования течения репарации ожоговых ран кожи // Молодежный инновационный вестник. 2023. Т. 12. № 1. С. 24–25.
2. Курбатова Л. А. Кристаллизация в биологических средах // Тезисы докладов. Тверь: Изд-во ТГМИ, 1992. С. 16.
3. Мартусевич А. К., Ковалева Л. К., Самodelкин А. Г. Современные методы биокристалломики в оценке состояния организма животного // Вестник Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии. 2019. № 2(22). С. 54–57.

УДК 576.088

Бугрова М. Л.

ВЛИЯНИЕ МЕКСИДОЛА НА ПРЕДСЕРДНЫЙ НАТРИЙУРЕТИЧЕСКИЙ ПЕПТИД В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

*Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород,
Российская Федерация*

Аннотация. Целью работы является исследование влияния мексидола на содержание предсердного натрийуретического пептида в плазме и в гранулах кардиомиоцитов крыс в условиях хронической сердечной недостаточности.

Методика работы заключается в количественном анализе иммуномеченных гранул секреторных кардиомиоцитов правого предсердия и иммуноферментном анализе плазмы экспериментальных животных.

Контингент испытуемых: белые аутбредные крысы-самцы Wistar массой 280–300 г в количестве 32 животных.

Основные результаты работы показали, что введение мексидола в дозе 25 мг/кг в течение 14 суток после моделирования сердечной недостаточности

приводит к восстановлению гранулообразования в кардиомиоцитах, что является благоприятным прогнозом в плане развития патологии. Нами не выявлено увеличение концентрации предсердного натрийуретического пептида в плазме, которое фиксируют при хронической сердечной недостаточности. Низкий уровень пептида на 14-е сутки после отмены нагрузки может быть связан с уменьшением процессов гранулообразования в секреторных кардиомиоцитах на 21-е сутки эксперимента.

Ключевые слова: предсердный натрийуретический пептид, мексидол, экспериментальная хроническая сердечная недостаточность.

Bugrova M. L.

THE EFFECT OF MEXIDOL ON ATRIAL NATRIURETIC PEPTIDE IN EXPERIMENTAL CHRONIC HEART FAILURE

Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract. The aim of the work is the study of influence of mexidol on the atrial natriuretic peptide in plasma and in granules of rat cardiomyocytes in chronic heart failure.

The method of the work consists of the quantitative analysis of immuno-labeled granules of secretory cardiomyocytes of the right atrium and immunoassay analysis of plasma of experimental animals.

The contingent of subjects is white outbred Wistar male rats weighing 280–300 g, 32 animals.

The main results of the work showed that the administration of mexidol at a dose of 25 mg/kg for 14 days after the simulation of heart failure leads to the restoration of granulation in cardiomyocytes, which is a positive prognosis for the development of pathology. We have not detected an increase in the plasma level of the atrial natriuretic peptide, which is fixed in chronic heart failure. The low level of the peptide on the 14th day after the cancellation of the load may be associated with a decrease in granulation processes in secretory cardiomyocytes on the 21st day of the experiment.

Keywords: atrial natriuretic peptide, mexidol, experimental congestive heart failure.

ВВЕДЕНИЕ

Предсердный натрийуретический пептид (ПНП) является важным звеном в сложной системе поддержания водно-солевого баланса в организме, обладает способностью снижать артериальное давление за счет повышения диуреза и натрийуреза и подавления ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [1]. По данным литературы, роль ПНП в развитии сердечно-сосудистой патологии неоднозначна [2]. С одной стороны, его синтетические аналоги используют при терапии кардиологических заболеваний [3, 4]; однако не всегда его применение эффективно [5]. С другой стороны, сам пептид может участвовать в развитии патологических состояний, например, артериальной гипертензии [6]. Исследовате-

ли отмечают «притупление» реакции на натрийуретический пептид у пациентов с прогрессирующей сердечной недостаточностью (СН) и после перенесенного инфаркта миокарда [7]. Поэтому исследования ПНП в плане его клинического назначения и взаимодействия с другими лекарственными средствами являются актуальными.

В России в 1999 года был разработан и внедрен в клинику мексидол — синтетический антигипоксанта с антиоксидантными свойствами (3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина сукцинат). Известны его кардиопротекторный, нейропротекторный и другие эффекты, которые обусловлены антиоксидантной активностью 3-оксипиридинов (снижением микровязкости липидного компонента мембран и ингибирующим действием на процессы перекисного окисления липидов) и антигипоксическим свойством янтарной кислоты [8]. Действие мексидола на различные органы в условиях патологии изучается давно [8–10]. В наших работах ранее было показано положительное влияние препарата на образование, накопление и выведение пептида в условиях постреперфузионного периода [9] и в изолированном перфузированном по Лангендорфу сердце крысы [8].

Цель работы — оценить влияние мексидола на содержание ПНП в гранулах предсердных секреторных кардиомиоцитов и в плазме крыс в условиях хронической сердечной недостаточности (ХСН).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 32 белых аутбредных крысах-самцах Wistar массой 280–300 г. Для моделирования ХСН животному внутримышечно вводили 0,1 мл 1%-ного раствора мезатона (фенилэфрин) с последующим свободным плаванием (в среднем по 25–30 минут в день) до глубокого утомления в течение 21 дня [11, 12]. Анализировали 4 группы животных: интактные, животные с ХСН (21-е сутки эксперимента), через 14 суток после отмены нагрузок и крысы с ХСН, которым вводили мексидол в течение 14 суток внутривнутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг. Терапевтические эффекты мексидола выявляются в диапазоне доз от 10 до 300 мг/кг: препарат в дозе 25 мг/кг оказывает выраженное вазопротекторное и кардиопротекторное действие [8–10]. Электронно-микроскопический анализ ткани правого предсердия проводили по стандартной методике. Клеточную локализацию ПНП выявляли на ультратонких срезах с помощью поликлональных антител (Rabbit anti-Atrial Natriuretic Factor (1–28) (rat), Peninsula Laboratories, LLC, Bachem). Считали гранулы двух типов в полях зрения 38×38 мкм²: гранулы А-типа с хорошо визуализируемой мембраной (осуществляют накопление и хранение пептида) и гранулы В-типа с растворяющейся мембраной (выделяющие гормон в саркоплазму) [6]. Для определения ПНП в плазме крови использовали ИФА-набор SEA225Ra (Cloud-clone Corp). Для оценки достоверности данных применяли тест Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно авторам методики [12], к 21-м суткам эксперимента у животных развивается устойчивая ХСН. Наблюдали подобные изменения в секреторных кардиомиоцитах правого предсердия, как и в левом желудочке, описанном исследователями [12]. Часть клеток имела некротические изменения в виде ядер,

содержащих гетерохроматин, митохондрий с разной степенью повреждений мембран (от просветления матрикса до деструкции крист и образования вакуолей); нарушений в сократительном аппарате (лизиса миофибрилл, их пересокращения), большого количества кавеол в сарколемме. Выявлялись и полностью некротизированные клетки, и практически неизменные. В ткани миокарда наблюдался интерстициальный отек и изменения в микроциркуляторном русле: агрегация эритроцитов, выросты люминальной поверхности эндотелиоцитов, темная плазма в просветах капилляров.

Нами выявлено достоверное снижение гранул А-типа на 23%, В-типа на 26%, общего количества гранул на 24% по сравнению с показателями интактных животных. При этом уровень ПНП в плазме достоверно не отличался от среднего значения интактных крыс. Полученные данные свидетельствуют об уменьшении процессов гранулообразования и выделения пептида в саркоплазму в кардиомиоцитах правого предсердия. Пул циркулирующего в кровотоке ПНП поддерживался на прежнем уровне, тогда как синтетические процессы в кардиомиоцитах снижались, резерв внутриклеточного пептида истощался из-за нарушений в ультраструктуре, вызванных нагрузками на миокард, которые приводили к энергетическому дефициту и деструкции синтетического аппарата. Вследствие этого снижались процессы гранулообразования. В то же время нормальный уровень плазменной концентрации ПНП не согласовывался с данными литературы, в которых количественный показатель пептида должен в десятки раз возрастать при ХСН [8]. Вероятно, на данном этапе мы наблюдаем начало развития патологии, кардиомиоциты компенсируют содержание ПНП в плазме за счет расхода внутриклеточного пептида.

Через 14 дней после отмены нагрузок в миокарде правого предсердия контрольных животных наблюдалось восстановление структуры. В некоторых клетках сохранялись дистрофичные изменения, как в первой наблюдаемой группе, но большинство клеток практически не отличалось от интактных. Гемокапилляры содержали светлую плазму, тени эритроцитов не выявлялись. Подобную морфологическую картину в левом желудочке наблюдали авторы методики и объясняли этот факт включением компенсаторных механизмов в сердце при прекращении воздействия негативных факторов [12].

В секреторных кардиомиоцитах наблюдали увеличение гранулообразования: по сравнению с характеристиками интактных животных число А-гранул возросло на 53%, В-гранул — на 28% и общее количество — на 43%. Уровень ПНП в плазме снизился на 80% по сравнению с исходным. Низкое содержание пептида наблюдается при повышенном сахаре в крови [13]. Содержание глюкозы может увеличиваться при ХСН [14]. Мы не измеряли уровень глюкозы, поэтому можем лишь предположить повышение ее уровня в этот период. Циркулирующий пептид быстро подвергается ферментативному расщеплению эндопептидазой [1]. Сниженное гранулообразование через 21 сутки эксперимента, возможно, не компенсировало утилизацию ПНП. С другой стороны, низкий уровень плазменной концентрации пептида снова свидетельствует не в пользу развития ХСН в наблюдаемый период эксперимента. Можно предположить, что увеличение интенсивности гранулообразования в кардиомиоцитах в дальнейшем способствует повышению плазменного пула ПНП, то есть необходимы наблюдения более отдаленных сроков.

Через 14 дней после отмены нагрузок в миокарде правого предсердия животных, которым вводили мексидол, также выявлено улучшение ультраструктуры миокарда. Однако процесс гранулообразования отличался от контроля: наблюдали увеличение гранул А-типа на 24% и общего количества на 14% от показателей интактных крыс. Число гранул В-типа не отличалось от нормы. Концентрация ПНП в плазме была такой же, как в контрольной группе (на 80% ниже интактных крыс). Предполагаем, что такая картина может быть благоприятной в плане прогноза развития ХСН. Если в контрольной группе мы наблюдали возрастание гранулообразования с возможным увеличением плазменного уровня ПНП, то после воздействия мексидола вероятно возвращение к нормальному состоянию. Авторами показаны положительный инотропный и хронотропный эффекты мексидола в условиях ХСН [10]. В наших экспериментах кардиопротекторное действие препарата показано в постреперфузионном периоде: сохранение ультраструктуры кардиомиоцитов и отсутствие развития фиброза [9]. Стоит отметить, что мексидол значительно увеличивал гранулообразование даже в изолированном перфузируемом сердце [8]. По-видимому, мы наблюдаем системное воздействие мексидола и купирование развития ХСН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, введение мексидола в дозе 25 мг/кг в течение 14 суток после моделирования ХСН приводит к возвращению количественных показателей гранулообразования в кардиомиоцитах на уровень интактных, что является благоприятным прогнозом в плане развития патологии и дополнительным доказательством кардиопротекторного эффекта препарата. Нами не выявлено многократного увеличения плазменной концентрации ПНП в течение эксперимента, которое фиксируют при клинической диагностике ХСН. Возможно, высокий уровень пептида будет наблюдаться в более отдаленном периоде, что требует дальнейших исследований. Низкий уровень ПНП в плазме на 14-е сутки после отмены нагрузки может быть связан с уменьшением процессов гранулообразования в секреторных кардиомиоцитах на 21-е сутки эксперимента. Параллельное изучение процессов гранулообразования в кардиомиоцитах и биохимический анализ плазменной концентрации натрийуретических пептидов, безусловно, является перспективным исследованием механизмов сердечно-сосудистой патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nakagawa Y., Nishikimi T., Kuwahara K. Atrial and brain natriuretic peptides: Hormones secreted from the heart. *Peptides*. 2019; 111:18–25.
2. Díez J. Chronic heart failure as a state of reduced effectiveness of the natriuretic peptide system: implications for therapy. *European Journal of Heart Failure*. 2017; 19(2):167–176.
3. Rafa S., Forte M., Gallo G., Ranieri D., Marchitti S., Magri D., Testa M., Stanzone R., Bianchi F., Cotugno M., Fiori E., Visco V., Sciarretta S., Volpe M., Rubattu S. Atrial natriuretic peptide stimulates autophagy/mitophagy and improves mitochondrial

- function in chronic heart failure. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2023; 80:134. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-023-04777-w>
4. Sangaralingham S. J., Kuhn M., Cannone V., Chen H. H., Burnett Jr J. C. Natriuretic peptide pathways in heart failure: further therapeutic possibilities. *Cardiovascular Research*. 2022; 118:3416–3433. DOI: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvac125>
 5. Tholén M., Kolsrud O., Dellgren G., Karason K., Lannemyr L., Rickste S. Atrial natriuretic peptide in the prevention of acute renal dysfunction after heart transplantation — a randomized placebo-controlled double-blind trial. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2023; 67:738–745.
 6. Бугрова М. Л., Галкина М. В. Образование и выведение предсердного натрийуретического пептида в секреторных кардиомиоцитах при экспериментальной гипертензии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2020. № 2. С. 152–155.
 7. Bozkurt B., Nair A., Misra A., Scott C., Mahar J., Fedson S. Nprilysin Inhibitors: The Science and Unanswered Questions. *Jacc: basic to translational science*. 2023; 8(1):88–105. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2022.05.010>
 8. Бугрова М. Л., Харьковская Е. Е., Яковлева Е. И. Влияние Мексидола на предсердный натрийуретический пептид в изолированном по Лангендорфу сердце крысы // Современные технологии в медицине. 2014. Т. 6. № 2. С. 25–31.
 9. Бугрова М. Л. Влияние мексидола на предсердный и мозговой натрийуретические пептиды миоцитов правого предсердия крыс в постреперфузионном периоде // Морфологические ведомости. 2016. Т. 24. № 1. С. 16–21.
 10. Замотаева М. Н., Инчина В. И., Зайцева Е. Н., Мальцева Ю. В., Горьканова А. А., Смирнова В. Д., Кузнецов Ю. В. Сравнительная характеристика новых антиоксидантов при терапии хронической сердечной недостаточности // Российский кардиологический журнал. 2022. № 27(S6), доп. выпуск (апрель). С. 70.
 11. Болотских В. И., Макеева А. В., Луцки М. В., Мокашева Ек. Н., Мокашева Ев. Н., Шишкина В. В. Оценка результативности и воспроизводимости биологических моделей хронической сердечной недостаточности // Успехи современной биологии. 2022. № 4. С. 382–389.
 12. Лискова Ю. В., Саликова С. П., Стадников А. А. Экспериментальные модели сердечной недостаточности: состояние вопроса и результаты собственного исследования // Морфологические ведомости. 2014. № 1. С. 46–53.
 13. Lauria P., Del Puerto H., Reis A., Candido A., Reis F. Low plasma atrial natriuretic peptide: a new piece in the puzzle of polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98(12):4882–4889. Doi: 10.1210/jc.2013-2141
 14. Guo Jing-chuan, Li Zhao-ping, Gao W., Guo Yan-hong, Mao Jie-min. Prognostic importance of abnormal glucose metabolism in chronic heart failure. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2010; 90(20):1385–1388.