

УДК 615.214.22+615.22]: 615.015.4

Э.В. Карнаух

Харьковский национальный медицинский университет

АНТИСТРЕССОВОЕ КАРДИОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПИРАЦЕТАМА ПРИ ЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ ПО КРИТЕРИЮ ОГРАНИЧЕНИЯ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОЙ ФЕРМЕНТЕМИИ И ПРОТЕОЛИЗА

Изучено влияние пирарцетама на активность общей лактатдегидрогеназы, сердечной фракции ЛДГ₁, протеиназ в сыворотке крови и тканях миокарда у крыс в условиях экспериментальной модели острого эмоционального стресса. Повышение активности этих основных маркерных ферментов характеризует развитие стрессогенных деструктивных и дегенеративных изменений в мембранных субклеточных структурах кардиомиоцитов. Ограничение стресс-индуцированной ферментемии и протеолиза под влиянием пирарцетама является проявлением его мембрано- и цитопротекторного действия в отношении кардиомиоцитов. Сохранение структурной целостности кардиомиоцитов можно расценивать как проявление антистрессового кардиопротекторного действия пирарцетама при эмоциональном стрессе.

Ключевые слова: эмоциональный стресс, лактатдегидрогеназы (общая ЛДГ, ЛДГ₁), протеиназы, миокард, пирарцетам.

Известно, что больные кардиологического профиля наиболее подвержены действию психоэмоциональных стрессорных факторов. Учитывая известное взаимоотношение влияния стресса и основных сердечно-сосудистых заболеваний (ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, гипертоническая болезнь, атеросклероз), клинически важно достоверно оценить риск развития миокардиодистрофий стрессового генеза.

Ферментативная активность миокарда служит ранним и объективным критерием его функционального состояния [1–3]. На основании биохимического исследования активности основных маркерных ферментов можно задолго до клинических проявлений и ЭКГ-подтверждения диагностировать развитие миокардиодистрофий стрессового генеза, чтобы своевременно и целенаправленно включить в состав комплексной терапии сердечно-сосудистой патологии эффективный антистрессовый препарат с кардиопротекторным действием.

Целью данного исследования явилось изучение влияния пирарцетама на активность

основных ферментов, характеризующих структурную целостность кардиомиоцитов у крыс в условиях острого эмоционального стресса.

Материал и методы. Опыты проведены на половозрелых крысах линии Вистар обоего пола. Животных содержали в условиях, соответствующих требованиям «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» (Страсбург, 1986). Крысы были разделены на три группы по 6 особей в каждой: 1-я – интактные (служили контролем); 2-я – животные, подвергавшиеся воздействию острого эмоционального стресса (ЭС), и 3-я – которым моделировали ЭС на фоне предварительного введения (за 1–1,5 часа до окончания стрессирования) стресс-протектора из группы ноотропов пирарцетама (200 мг/кг подкожно). Для моделирования острого ЭС была использована реалистическая модель нейрогенного стресса Ф.П. Ведяева «Конфликт афферентных раздражений» [4].

© Э.В. Карнаух, 2013

Для характеристики структурной целостности и степени развития стрессогенных деструктивно-дегенеративных изменений кардиомиоцитов была исследована активность основных маркерных ферментов в сыворотке крови: общей лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и с учётом тканевой специфичности её пяти изоэнзимов активность сердечной фракции ЛДГ₁, а также активность протеиназ в сыворотке крови и тканях миокарда.

Активность протеиназ в сыворотке крови и тканях миокарда определяли с помощью нового высокочувствительного ферментного метода (чувствительность составляет 10^{-9} – 10^{-10} г), разработанного в Институте терапии им. Л.Т. Малой НАМН Украины (Харьков)*. Метод основан на использовании для протеолитической реакции иммобилизованного субстрата в виде сывороточного альбумина быка (Serva, Германия), содержащего

крови их активность значительно ниже – $(7,40 \pm 0,11)$ мкг·л⁻¹·ч⁻¹. Сывороточная активность общей ЛДГ составляет $(9,100 \pm 0,355)$ мккат/л, активность сердечной фракции ЛДГ₁ – $(0,910 \pm 0,032)$ мккат/л (таблица).

В условиях острого ЭС наблюдается выход тканевых протеиназ в кровь с увеличением их активности в сыворотке крови в 4,2 раза – до $(31,0 \pm 0,18)$ мкг·л⁻¹·ч⁻¹, и снижением на 38 % их активности в тканях миокарда — до $(7,2 \pm 0,29)$ мкг·л⁻¹·ч⁻¹ (по сравнению с контролем, $p < 0,001$). Наряду с этим, в сыворотке крови на 53 % повышается активность общей ЛДГ – до $(13,92 \pm 0,812)$ мккат/л, и в 2,9 раза активность ЛДГ₁ – до $(2,60 \pm 0,352)$ мккат/л (по сравнению с контролем, $p > 0,001$).

Предварительное введение пираретама предотвращает чрезмерную ферментацию и ограничивает стресс-индуци-

Влияние пираретама на активность ферментов в миокарде и сыворотке крови у крыс в условиях острого эмоционального стресса ($M \pm m$; $n = 6$)

Условия опыта	Активность			
	протеиназ в миокарде, мкг·л ⁻¹ ·ч ⁻¹	протеиназ в сыворотке крови, мкг·л ⁻¹ ·ч ⁻¹	общей ЛДГ в сыворотке крови, мккат/л	ЛДГ ₁ в сыворотке, крови, мккат/л
Контроль	$11,6 \pm 0,72$	$7,4 \pm 0,11$	$9,10 \pm 0,355$	$0,91 \pm 0,032$
ЭС	$7,2 \pm 0,29^*$	$31,0 \pm 0,18^*$	$13,92 \pm 0,812^*$	$2,60 \pm 0,352^*$
Пираретам+ЭС	$15,6 \pm 0,72^{*#}$	$14,2 \pm 0,47^{*#}$	$8,92 \pm 0,43^{\#}$	$1,02 \pm 0,043^{\#}$

Примечание. $p < 0,05$; * по сравнению с контролем; # по сравнению с ЭС.

маркерный фермент – пероксидазу из хрена (Calbiochem, США) [5, 6]. Активность общей ЛДГ и ЛДГ₁ определяли с помощью наборов фирмы Labsystems (Финляндия) унифицированным клиническим методом. Цифровой материал обработали методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента. Наблюдавшиеся изменения расценивали как статистически достоверные при $p < 0,05$.

Результаты. У интактных крыс основная часть протеиназ сосредоточена в тканях миокарда, активность которых составляет $(11,6 \pm 0,72)$ мкг·л⁻¹·ч⁻¹, тогда как в сыворотке

рованный протеолиз. Пираретам снижает выход тканевых протеиназ в кровяное русло до $(14,2 \pm 0,47)$ мкг·л⁻¹·ч⁻¹ (по сравнению с ЭС, $p < 0,001$), но в миокарде их активность становится выше контрольного уровня и уровня при ЭС – $(15,6 \pm 0,72)$ мкг·л⁻¹·ч⁻¹ ($p < 0,02$). При этом активность общей ЛДГ и ЛДГ₁ в сыворотке крови нормализуется и соответствует контрольному значению – $(8,92 \pm 0,43)$ и $(1,02 \pm 0,043)$ мккат/л соответственно ($p > 0,05$).

Обсуждение результатов. Общая ЛДГ (L-лактат, НАД-оксидоредуктаза) – гликолитический фермент, обратимо катализи-

* Метод разработан на базе биохимической лаборатории под руководством канд. мед. наук Л.М. Самохиной.

рующий окисление L-лактата в пировиноградную кислоту, а в качестве промежуточного акцептора водорода требуется НАД: L-лактат + НАД \leftrightarrow пируват + НАД·Н₂.

Изоэнзим ЛДГ₁ (α -гидроксибутират-дегидрогеназа) происходит из ткани сердца, является мочевиностабильной фракцией. Активность общей ЛДГ в сыворотке крови повышается при всех заболеваниях, сопровождающихся деструкцией тканей, и по её повышению и одновременному повышению активности ЛДГ₁ можно судить о степени повреждения миокарда. Характерно, что эти изменения обнаруживаются задолго до ЭКГ-подтверждения, а степень активности ЛДГ₁ коррелирует с размерами очага деструкции [2, 3].

В последнее время широко изучается новое звено стресс-реализующей системы – усиление реакций ограниченного протеолиза в ответ на действие различных стрессорных факторов. Экстренная мобилизация и перераспределение энергетических и структурных ресурсов клетки, являясь характерной чертой стресс-синдрома, в большинстве случаев приводит к различным деструктивным изменениям мембранных и белковых структур клеток и тканей. При этом отмечается резкое повышение активности протеолитических ферментов [5, 6]. При воздействии стресса достаточной силы эндогенные ингибиторы протеиназ не способны ограничить повреждающее действие продуктов протеолиза на клеточные структуры, что приводит к необратимым морфологическим нарушениям.

В наших опытах острый ЭС сопровождается усилением реакций ограниченного протеолиза. При этом наблюдается выход тканевых протеиназ в кровь с увеличением их активности в сыворотке крови в 4,2 раза и соответствующим снижением в 1,6 раза их активности в тканях миокарда. Наряду с этим, наблюдается повышение в 1,5 раза сывороточной активности общей ЛДГ и в 2,9 раза её сердечной фракции ЛДГ₁.

Разнонаправленное изменение активности протеиназ в миокарде и сыворотке крови, возможно, связано с особенностями механизмов ограничения реакций протеолиза пирарцетамом при его однократном или длительном курсовом применении. Как цикли-

ческое производное ГАМК, содержащее кольцо пирролидона с медиаторной ГАМК-миметической активностью метаболического действия [1], пирарцетам в условиях острого опыта и однократного применения, вероятно, проявляет преимущественно мембраностабилизирующее действие, ограничивая выход активированных стрессом тканевых протеиназ из миокарда в кровяное русло. А для эффективного ограничения протеолиза путём активации эндогенных ингибиторов тканевых протеиназ в миокарде пирарцетаму, как и всем препаратам метаболического типа действия, необходимо не однократное (как в нашей серии опытов), а длительное курсовое введение.

В отношении фермента ЛДГ и его сердечной фракции ЛДГ₁ даже при однократном введении пирарцетама отмечается статистически достоверная нормализация этих показателей в условиях острого ЭС, что свидетельствует о предотвращении грубых стрессогенных деструктивных изменений миокарда [1, 7].

Эффективное предотвращение грубых деструктивных и дегенеративных процессов в кардиомиоцитах и сохранение структурной целостности мембранных структур миокарда под влиянием пирарцетама в условиях острого ЭС подтверждается и данными патоморфологического исследования с помощью трансмиссионной электронной микроскопии, что наглядно иллюстрирует взаимосвязь между структурой и функцией в отношении субклеточных органелл кардиомиоцитов.

Выводы

1. В условиях модели острого эмоционального стресса «Конфликт афферентных раздражений» наблюдается усиление реакций ограниченного протеолиза и стресс-индуцированная ферментемия, что характеризует развитие грубых стрессогенных деструктивных изменений мембранных и белковых структур кардиомиоцитов

2. Применение пирарцетама предотвращает стрессогенную ферментемию и ограничивает стресс-индуцированный протеолиз. Нормализуется активность основных биохимических маркёрных ферментов – общей

ЛДГ і ЛДГ₁. Ограничение реакций протеолиза и предупреждение агрессии протеолитических ферментов в отношении мембранных структур и клеточных органелл кардиомиоцитов в наших опытах характеризуется выраженным снижением выхода тканевых протеиназ в кровяное русло.

3. Биохимические эквиваленты мембрано- и цитопротекторного влияния и сохранения структурной целостности кардиомиоцитов в условиях острого эмоционального стресса можно расценивать как проявление антистрессового кардиопротекторного действия пираретама.

Список литературы

1. Карнаух Е. В. Кардіопротекторні властивості препаратів, які володіють антистрессовою дією: автореф. дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Е. В. Карнаух. – К., 2001. – 16 с.
2. Чекман И. С. Биохимическая фармакодинамика / И. С. Чекман. – К.: Здоров'я, 1991. – 200 с.
3. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск: Беларусь, 1982. – С. 241–242.
4. Ведяев Ф. П. Модели и механизмы эмоциональных стрессов / Ф.П. Ведяев, Т.М. Воробьева. – К.: Здоров'я, 1983. – 134 с.
5. Пат. 20171 Україна, МПК С 12 Q 1/38. Спосіб визначення активності протеїназ або їх інгібіторів в біологічних рідинах / Самохіна Л.М., Дубінін А.А. – Опубл. 25.12.97. Бюл. № 6.
6. Самохіна Л. М. Активність протеїназ і α_1 -інгібітора протеїназ при адреналовому стресі у крыс / Л.М.Самохіна, П.А. Калиман // Укр. біохім. журн. – 1994. – № 5. – С. 93–96.
7. Карнаух Э. В. Пираретам: морфофункциональная антистрессовая кардиопротекция по данным электронной микроскопии / Э.В. Карнаух // Медицина сьогодні і завтра. – 2011. – № 3 (52). – С. 28–32.

Е.В. Карнаух

АНТИСТРЕСОВА КАРДИОПРОТЕКТОРНА ДІЯ ПІРАЦЕТАМУ ПРИ ЕМОЦІЙНОМУ СТРЕСІ ЗА КРИТЕРІЄМ ОБМЕЖЕННЯ СТРЕС-ІНДУКОВАНОЇ ФЕРМЕНТЕМІЇ ТА ПРОТЕОЛІЗУ

Вивчено вплив пірацетаму на активність загальної ЛДГ, серцевої фракції ЛДГ₁, протеїназ у сироватці крові та тканинах міокарда у щурів в умовах експериментальної моделі гострого емоційного стресу. Підвищення активності цих основних маркерних ферментів характеризує розвиток стрессогенних деструктивних і дегенеративних змін у мембранних субклітинних структурах кардіоміоцитів. Обмеження стрес-індукованої ферментемії та протеолізу під впливом пірацетаму є проявом його мембрано- та цитопротекторної дії відносно кардіоміоцитів. Збереження структурної цілісності кардіоміоцитів можна розцінювати як прояв антистрессової кардіопротекторної дії пірацетаму при емоційному стресі.

Ключові слова: емоційний стрес, лактатдегідрогенази (загальна ЛДГ, ЛДГ₁), протеїнази, міокард, пірацетам.

Е. V. Karnaukh

ANTISTRESS CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF PYRACETAM UNDER EMOTIONAL STRESS BY RESTRICTIONS STRESS-INDUCED FERMENTEMIA AND PROTEOLYSIS CRITERION

Studied the effect of Pyracetam on the activity of LDG total, cardiac fraction LDG₁, proteases in the blood and tissues of the myocardium of rats under an experimental model of acute emotional stress. Increased activity of these key marker's enzymes characterizes the development of stressful destructive and degenerative changes in membrane subcellular structures cardiomyocytes. Limitation of stress-induced proteolysis and fermentemia influenced Pyracetam is a manifestation of its membrane- and cytoprotective action on cardiomyocytes. Preservation of the structural integrity of cardiomyocytes can be regarded as a manifestation of antistress cardioprotective effect of Pyracetam under emotional stress.

Key words: emotional stress, lactate dehydrogenase (LDG total, LDG₁), proteinase, myocardium, Pyracetam.