

**На правах рукописи**

**ПРОДАНЕЦ Наталья Николаевна**

**ДЕЙСТВИЕ МЕКСИДОЛА НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ  
ПЕРЕСТРОЙКИ СТЕНКИ МАГИСТРАЛЬНЫХ СОСУДОВ В  
ПОСТРЕПЕРФУЗИОННОМ ПЕРИОДЕ**

03.00.13 – физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Нижний Новгород

2007

Работа выполнена в Центральной научно-исследовательской лаборатории ГОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

**Научный руководитель:**

доктор биологических наук, профессор И.В.Мухина

**Официальные оппоненты:**

доктор биологических наук, профессор Бирюкова Ольга Вениаминовна

доктор медицинских наук, профессор Смирнов Владимир Павлович

**Ведущее научное учреждение:**

Российский государственный медицинский университет г. Москва

Защита состоится \_\_\_\_\_ 2007 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 212.166.15 при Нижегородском государственном университете им. Н. И. Лобачевского (603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ННГУ

Автореферат разослан

\_\_\_\_\_ 2007 г.

Учёный секретарь  
диссертационного совета  
доцент, к.б.н.

А.С. Корягин

### **Актуальность проблемы**

В последние годы активно изучаются и обсуждаются постреперфузионные изменения, развивающиеся в сосудистом бассейне организма после тотальной ишемии (Петрищев, Власов, 2000; Беленков, 2001). Доказано, что реперфузия после ишемии часто лишь усугубляет первичную гипоксию (Неговский, Гурвич, 1996; Долгих и др., 1999).

Известно, что изменение баланса регуляторных систем при ишемии и последующей реперфузии ведет к запуску этапов ремоделирования в сосудистой стенке. Взаимное усиление действия ишемического/реперфузионного воздействия с факторами развития атеросклероза или механического повреждения сосудистой стенки может приводить к многократному ускорению развития ремоделирования (Фитилева и др., 1998), увеличению механической «жесткости» и выраженному изменению функций стенки магистральных артерий (London et al., 1996; London, Paifrey, 1997).

«Ремоделирование» - процесс последовательных компенсаторно-приспособительных структурных перестроек тканей (Weissmann et al., 1985; Флоря, 1997). Ремоделирование сосудистой стенки включает трансформацию структуры с миграцией, пролиферацией и трансформацией гладкомышечных клеток, макрофагов, фибробластов, разрастанием элементов соединительной ткани. Результатом изменений является утолщение стенки, увеличение жесткости, а также инициация или значительное ускорение механизмов атеросклероза (Шляхто, Моисеева, 2002).

Пусковым моментом, инициирующим цепь адаптационных реакций в сосудистой стенке при разных воздействиях, является изменение функции эндотелия. Эндотелий – это активный барьер, интенсивно участвующий в поддержании тонуса и структуры сосудов, локального гомеостаза и пролиферации клеток сосудистой стенки (Dzau et al., 2001). Эндотелиальные клетки испытывают постоянное воздействие со стороны кровотока, тромбоцитарных факторов, нейрогормонов.

Одним из важнейших аспектов предупреждения реперфузионных осложнений является разработка мероприятий, связанных с коррекцией постреперфузионных перестроек в сосудистой стенке. В этой связи внимание привлечено мексидол (2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат), сочетающий антиоксидантные и антигипоксические свойства (Лукьянова, 2000; Новикова, Катунина, 2002; Новиков, Маслова, 2003). В настоящее время доказано его нейропротекторное действие (Дюмаев, 1995), гепатопротекторные свойства (Солонина, 2003; Сударева, 2003), гиполипидемический эффект (Воронина и др., 2001; Власов и др., 2003), но нет доказательств тропного влияния на ткань сосудов. Поэтому актуальной является оценка эффективности его применения с целью уменьшения возникающих в сосудистой стенке постреперфузионных перестроек.

### **Цель исследования**

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния мексидола на структурно-функциональные перестройки стенки магистральных сосудов различных гистологических типов у крыс в раннем и отдаленном постреперфузионном периоде.

### **Задачи исследования**

1. Исследовать влияние мексидола на структурно-функциональные изменения магистральных сосудов в раннем постреперфузионном периоде.
2. Выявить превентивное действие мексидола на развитие ремоделирования магистральных сосудов и эндотелий-зависимую вазодилатацию в отдаленном постреперфузионном периоде.
3. Изучить влияние мексидола на показатели свободно-радикального окисления в плазме и тканях магистральных сосудов в постреперфузионном периоде.

### **Научная новизна**

В результате проведенных исследований в работе впервые:

- показано влияние мексидола на структурно-функциональные перестройки магистральных сосудов крыс в ответ на ишемическое/реперфузионное повреждение в раннем и отдаленном постреперфузионном периоде;
- проанализировано действие мексидола на показатели свободно-радикального окисления в тканях сосудов и плазмы крови в постреперфузионном периоде;
- изучена эндотелий-зависимая вазодилатация бедренной артерии при применении мексидола в постреперфузионном периоде.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Рассмотрение проблемы постреперфузионных изменений в магистральных сосудах разных гистологических типов имеет определенное значение как для физиологии, гистологии, так и патологии. Показано, что одними из ключевых механизмов развития артериальной гипертензии после кратковременной ишемии являются разрастание элементов соединительной ткани в стенках сосудов и снижение эффективности действия синтезируемого эндотелием оксида азота на гладкие мышцы сосудов. Полученные в работе данные позволяют обосновать возможность использования мексидола для предупреждения и коррекции возникающих структурно-функциональных перестроек сосудистой стенки в постреперфузионном периоде.

### **Положения, выносимые на защиту**

Мексидол в раннем постреперфузионном периоде оказывает протекторное действие на структуру эндотелиального слоя и гладкомышечные клетки магистральных сосудов, предупреждая негативные

структурно-функциональные перестройки сосудистой стенки в отдаленном постреперфузионном периоде.

Одним из механизмов превентивного действия мексидола на процессы ремоделирования сосудистой стенки в отдаленном постреперфузионном периоде является предупреждение реперфузионных изменений митохондрий и нормализация процессов свободно-радикального окисления в тканях сосудов и плазмы крови в раннем постреперфузионном периоде.

Превентивное применение мексидола в раннем постреперфузионном периоде предупреждает нарушение вазодилатирующих свойств сосудистой стенки в отдаленном постреперфузионном периоде.

### **Апробация работы**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГОУ ВПО НижГМА Росздрава и апробирована на расширенном заседании ЦНИЛ НижГМА (Н.Новгород, 2007). Основные положения диссертации доложены и обсуждены на VII Конгрессе международной ассоциации морфологов (Казань, 2004), III Всероссийском конгрессе по патофизиологии с международным участием (Москва, 2004), VIII Конгрессе международной ассоциации морфологов (Орел, 2006), Десятой Всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей «Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2007).

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация объемом в 176 страниц состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, двух глав собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Работа иллюстрирована 28 рисунками и 21 таблицей. Список литературы включает 334 источников литературы, в том числе 165 отечественных и 169 иностранных авторов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты были проведены на 185 белых лабораторных нелинейных крысах-самцах массой 200-250 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Распределение по сериям представлено в таблице (табл.1).

В работе был использован препарат ацетилхолина хлорид (ООО «Диам», Россия).

Таблица 1

Основная характеристика серий экспериментальных животных

Серии экспериментов	Характеристика серии	Количество крыс
Интактная	Без введения каких-либо препаратов и проведения операций	32
Контроль 60 мин	Тотальная ишемия, постреперфузионный период 60 мин	40
Мексидол 60 мин	Тотальная ишемия, в/б мексидол 25мг/кг, постреперфузионный период 60 мин	33
Контроль 60 сут	Тотальная ишемия, постреперфузионный период 60 суток	38
Мексидол 60 сут	Тотальная ишемия, в/б мексидол 25мг/кг, постреперфузионный период 60 суток	42

Модель тотальной ишемии по Корпачеву создавали 10 мин пережатием сердечно-сосудистого пучка (Корпачев и др., 1982) с последующими реанимационными мероприятиями и восстановлением сердечной деятельности, кровотока и дыхания. Реанимацию проводили с помощью наружного массажа сердца и искусственной вентиляции легких.

Как на этапах эксперимента, так и в интактной группе соответственно временным интервалам измеряли артериальное давление в бедренной артерии, определяли эндотелий-зависимую вазодилатацию, иссекали ткани магистральных сосудов для биохимических и морфологических

исследований, определяли интенсивность свободно-радикального окисления и содержание продуктов оксида азота (NO) нитритов/нитратов (NOx) в плазме крови.

Для световой микроскопии фрагменты сосудов фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезвоживали в спиртах и заливали в парафин. Приготовленные на микротоме Leica SM 2000R срезы, толщиной 5-7 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином – обзорная окраска, по Ван-Гизону для выявления коллагеновых волокон, фукселином по Вейгерту для выявления эластических волокон (Волкова, Елецкий, 1982) и изучали с помощью микроскопа Leica DMLS.

Для электронно-микроскопического исследования участок сосудистой стенки фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере (рН=7,4) с последующей дофиксацией в 1% растворе четырехоксида осмия. Образцы обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заключали в смесь эпон-812-аралдит (Уикли, 1975). Ультратонкие срезы готовили на ультратоме ULTRACUT (Reichert-yung), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по методу Reynolds F.S. и просматривали в электронном микроскопе Morgagni 268D фирмы FEI.

Полуколичественный анализ полученных цифровых изображений проводился с использованием стереологического метода с применением многоцелевой контрольной системы путем наложения на изображение в стандартном увеличении сетки с фиксированным размером ячеек (Wassilew et al., 1982). На электронограммах определяли следующие параметры:

Р<sub>мх</sub> – объем митохондрий;

Р<sub>эпр</sub> - объем эндоплазматического ретикулума (ЭПР);

С<sub>мх</sub> – площадь наружных мембран митохондрий;

С<sub>крис</sub>т – площадь крист митохондрий;

С<sub>эпр</sub> – площадь мембран ЭПР

Для определения интенсивности свободно-радикального окисления (СРО) и антиоксидантной активности (АОА) плазмы крови, использовали измерение хемилюминесценции (ХЛ) на биохемилуминометре БХЛ-06 (Кузьмина и др., 1983; Владимиров, Шерстнев, 1989).



Анализ содержания малонового диальдегида (МДА) в тканях сосудов проводили по реакции с тиобарбитуровой кислотой (Ланкин и др., 1979; Гаврилов и др., 1987).

Измерение артериального давления у крыс проводили инвазивным методом, катетеризируя бедренную артерию. Запись артериального давления осуществляли с помощью датчика давления фирмы «Motorola» MPX 5050DP. Полученный сигнал обрабатывали с помощью программного комплекса «PowerGraph» V.2.0.

Оценка эндотелий-зависимого расслабления сосудов осуществлялась в тесте с ацетилхолином. Эндотелий-зависимое расслабление бедренной артерии вызывали локальным введением ацетилхолина ( $10^{-7}$ М).

Продукцию оксида азота (маркера эндотелиальной функции) оценивали по анализу суммарного содержания в плазме крови конечных продуктов метаболизма NO нитритов/нитратов (NOx) (Guevara et al., 1998; Голиков, 2004). Количество NOx в плазме выражали в мкмоль/л.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета Microsoft Excel и программы Statistica 6.0. Парные внутригрупповые и межгрупповые сравнения средних определяли по критериям Уилкоксона, Манна-Уитни. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **Влияние мексидола на структурно-функциональные перестройки магистральных сосудов в раннем постреперфузионном периоде**

Анализ динамики артериального давления (АД) в раннем постреперфузионном периоде выявил следующие закономерности (рис. 1).

Сразу же после реанимационных мероприятий и восстановления сердечной деятельности в контрольной группе животных наблюдалось повышение артериального давления на 52,4% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с исходным уровнем. В последующие 5 мин происходило падение АД на 12,7% ( $p < 0,05$ ) от исходного значения. Затем наблюдалось постепенное его

восстановление и на 60 мин уровень АД не отличался от первоначального. При введении мексидола после реанимационных мероприятий резкого повышения артериального давления не отмечалось. Показатели АД достоверно не отличались от исходных значений. В последующие 5 мин происходило падение давления ниже исходных значений на 15,4% ( $p < 0,05$ ). Через 60 мин уровень АД также практически не отличался от первоначального.

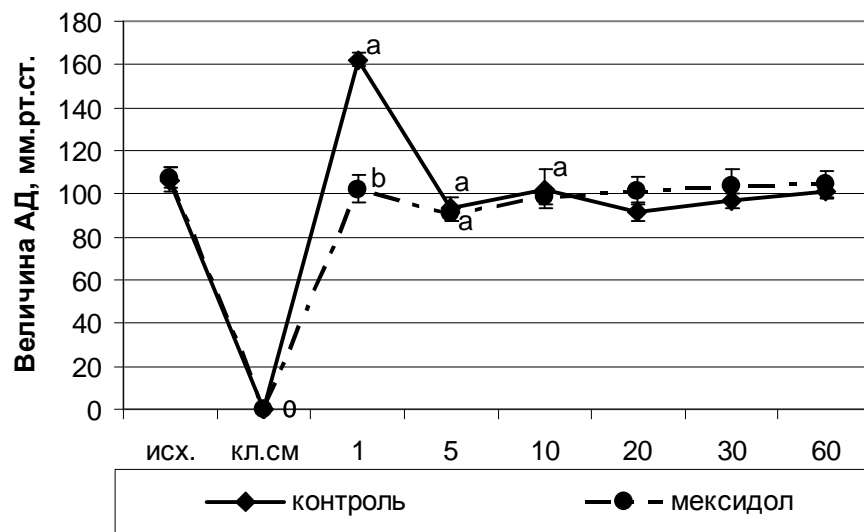


Рис.1. Влияние мексидола на динамику артериального давления в раннем постреперфузионном периоде (60 мин).

Примечание: а - достоверность различий с исходным уровнем, b - достоверность различий с контролем 60 мин;  $p < 0,05$ .

Выявленное увеличение АД в первые минуты после реанимации является известным фактом (Евтушенко, 1989) и связано с увеличением активности сердечной мышцы, повышением ударного объема (Евтушенко, Шалякин, 1988), а также активацией симпатической нервной системы, особенно при введении адреналина с целью стимуляции ритмической функции сердца при оживлении (Долгих, 1987). С одной стороны, резкое увеличение АД в первые минуты реперфузии является адаптационным гемодинамическим фактором, направленным на поддержание и восстановление периферического кровообращения. С другой стороны,

подъем давления приводит к повышению напряжения сдвига, которое в данных условиях было направлено на поврежденный ишемией и окислительным реперфузионным стрессом эндотелий, что облегчало нарушение целостности эндотелиального слоя. В аорте в контроле отмечалась десквамация единичных клеток, в сонной артерии - групп клеток, а в бедренной артерии – десквамация эндотелиальных клеток (ЭК) пластом. Мексидол способствовал сохранению ЭК по сравнению с контролем: в аорте количество эндотелиоцитов было больше на 13,3% ( $p < 0,05$ ), в сонной артерии -15,8% ( $p < 0,05$ ) и бедренной артерии – 53,3% ( $p < 0,05$ ) (рис. 2).

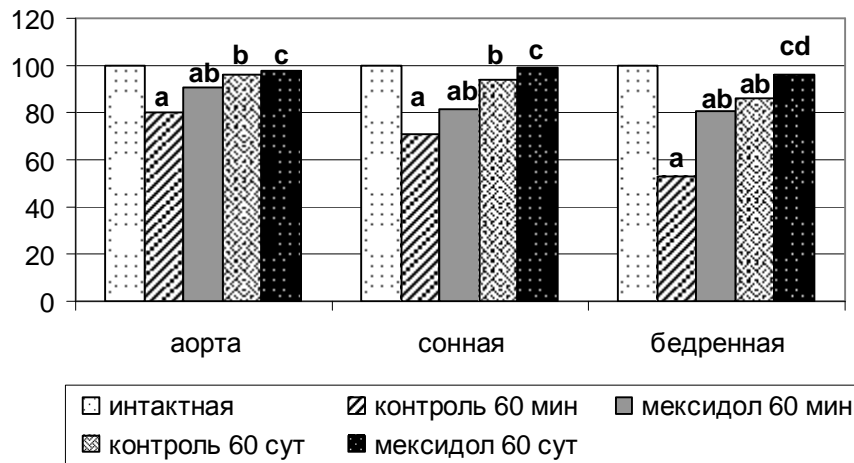


Рис.2. Количество эндотелиальных клеток на внутренней поверхности сосудов крыс в постреперфузионном периоде (в % от интактной серии).

Примечание: а - достоверность различий с интактной серией, b - достоверность различий с контролем 60 мин, c – достоверность различий с мексидолом 60 мин, d- достоверность различий с контролем 60 сут;  $p < 0,05$ .

При микроскопическом исследовании в просвете всех сосудов отмечались клеточные агрегаты, состоящие из форменных элементов крови, расположенных пристеночно, что явилось следствием нарушения целостности эндотелиального слоя и изменения адгезивных свойств эндотелия сосудистой стенки артерий в раннем постреперфузионном периоде. При применении мексидола клеточные агрегаты были незначительны, отмечалась сохранность эндотелия.

Электронно-микроскопически на 60 минуте постреперфузионного периода в серии с мексидолом в структуре эндотелиального пласта всех сосудов были представлены клетки с разной выраженностью и комбинацией деструктивных и адаптивных проявлений. В контрольной серии преобладали клетки с проявлением деструктивных реакций: выраженный внутриклеточный отек, образование в цитоплазме вакуолей, наличие митохондрий с просветленным матриксом и деструкцией крист, появление миелоноподобных структур, свидетельствующих об активации перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Морфометрически в ЭК в контроле выявлялось уменьшение объема, площади наружных мембран и крист митохондрий. При введении мексидола отмечалось увеличение объема, площади наружных мембран и крист митохондрий (рис. 3,4). Количественный анализ не выявил значимых изменений объема и площади мембран ЭПР как в контроле, так и в серии с мексидолом.

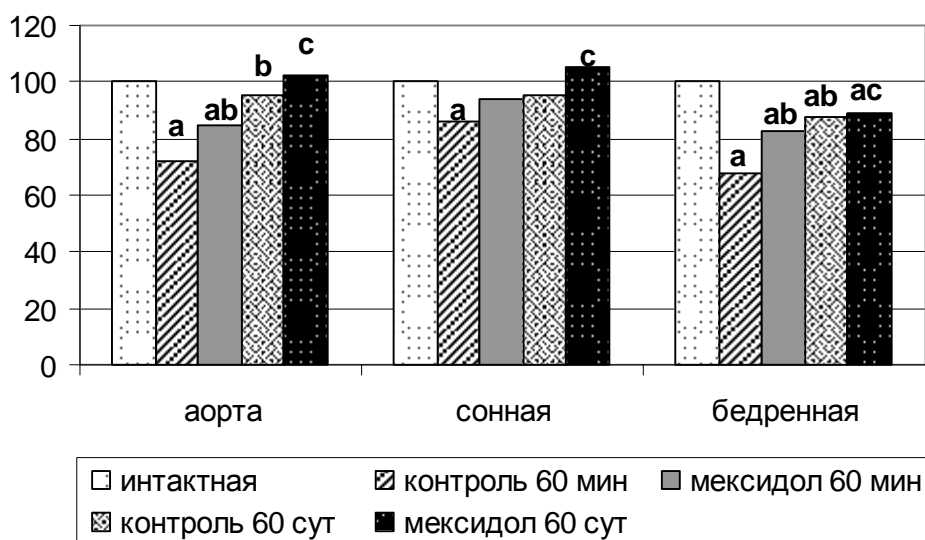
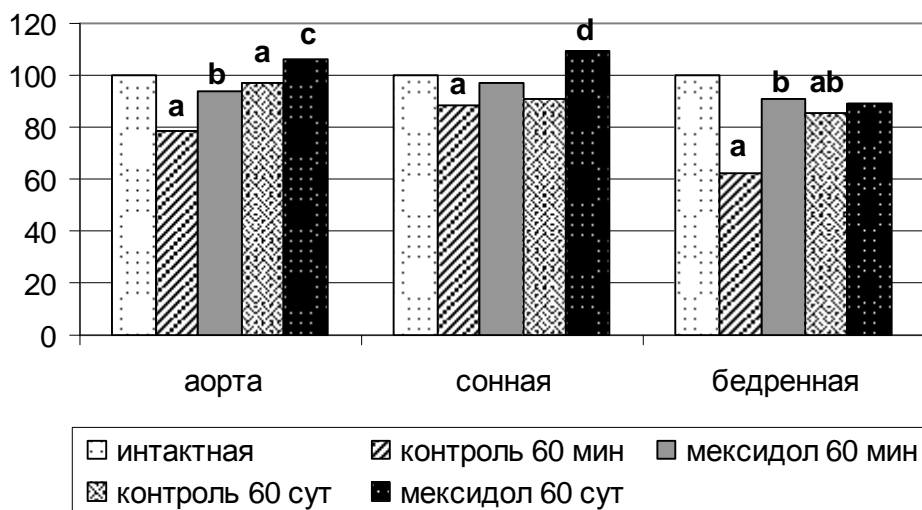
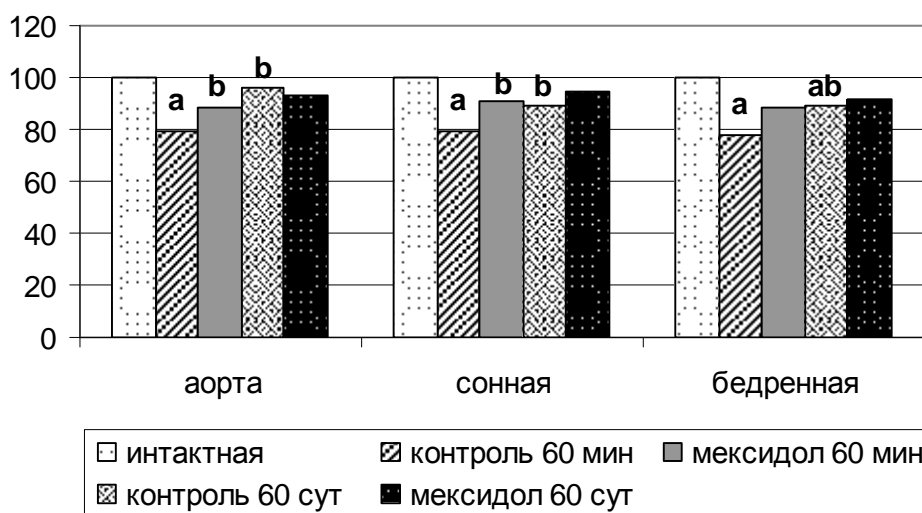


Рис.3. Площадь крист митохондрий ЭК в постреперфузионном периоде (в % от интактной серии).

Примечание: а – достоверность различий с интактной серией, b – достоверность различий с контролем 60 мин, с – достоверность различий с мексидолом 60 мин, d – достоверность различий с контролем 60 сут;  $p < 0,05$ .



А



Б

Рис.4. Объем (А) и площадь наружных мембран (Б) митохондрий ЭК в постреперфузионном периоде (в % от интактной серии).

Примечание: а – достоверность различий с интактной серией, b – достоверность различий с контролем 60 мин, с – достоверность различий с мексидолом 60 мин, d – достоверность различий с контролем 60 сут;  $p < 0,05$ .

Реакция средней оболочки (меди) на ишемию/реперфузию была более однородна. Ключевыми проявлениями окислительного повреждения меди были диффузно-расположенные миелиноподобные структуры, набухание клеток и межклеточного вещества. В гладкомышечных клетках (ГМК)

отмечался отек различной степени: от выраженного до умеренного. По направлению к адвентиции степень отека уменьшалась. Максимальный внутриклеточный отек и вакуолизация цитоплазмы наблюдались в участках меди, расположенных непосредственно под дезнотелизированными фрагментами интимы, особенно в бедренной артерии. Митохондрии набухшие с просветленным матриксом и частичной деструкцией крист. ЭПР расширен. При введении мексидола миелиноподробные структуры были единичны, внутриклеточный отек был незначительным, митохондрии в основном находились в состоянии физиологической нормы.

Морфометрически в ГМК с мексидолом в отличие от контроля выявлялось увеличение объема, площади наружных мембран и крист митохондрий (рис. 5,6). Также как и в ЭК количественный анализ объема и площади мембран ЭПР не выявил существенных изменений в контроле и в серии с введением с мексидолом.

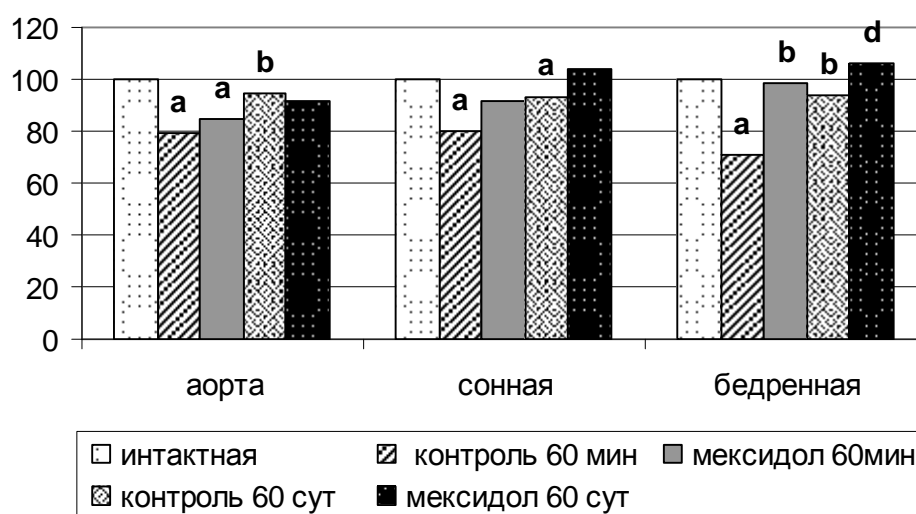
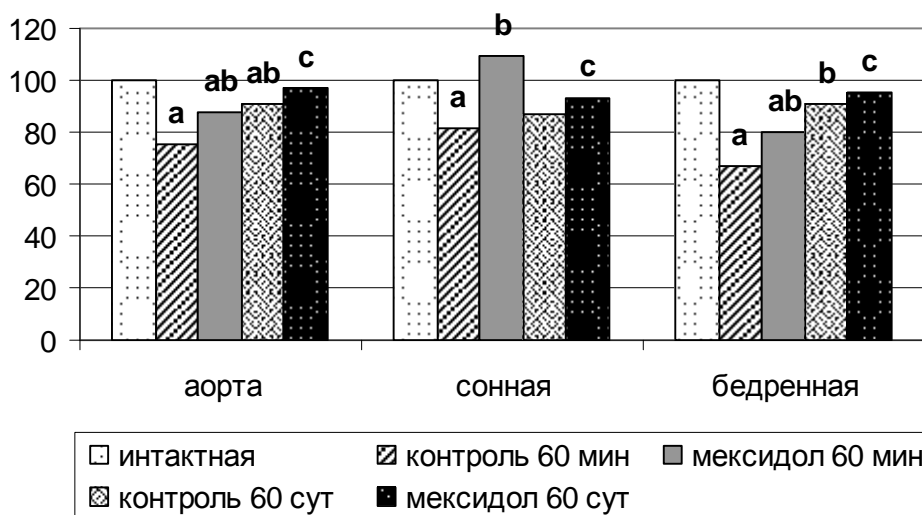
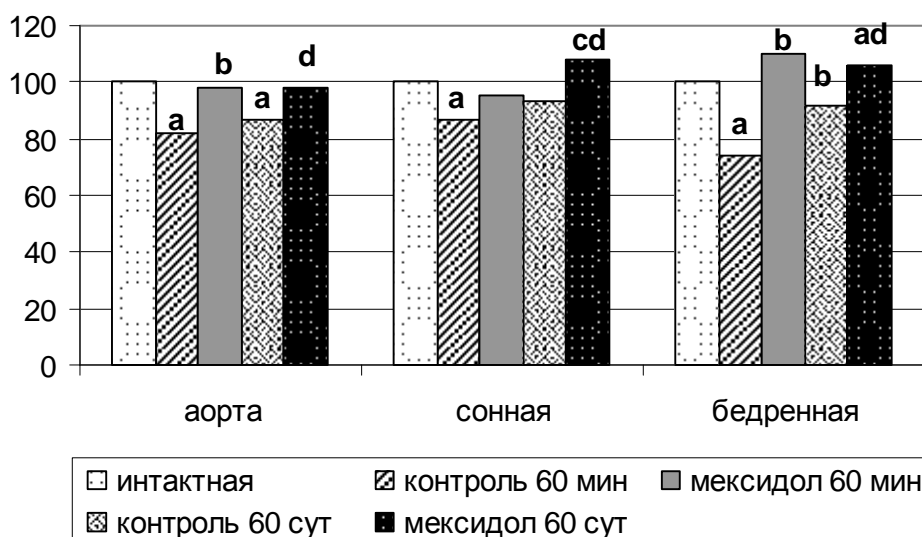


Рис.5. Объем митохондрий гладкомышечных клеток в постреперфузионном периоде (в % от интактной серии).

Примечание: а – достоверность различий с интактной серией, b – достоверность различий с контролем 60 мин, с – достоверность различий с мексидолом 60 мин, d – достоверность различий с контролем 60 сут;  $p < 0,05$ .



А



Б

Рис.6. Площадь наружных мембран (А) и крист (Б) митохондрий гладкомышечных клеток в постреперфузионном периоде (в % от интактной серии).

Примечание: а – достоверность различий с интактной серией, б – достоверность различий с контролем 60 мин, с – достоверность различий с мексидолом 60 мин, d – достоверность различий с контролем 60 сут;  $p < 0,05$ .

Измерение максимальной интенсивности свечения плазмы крови (по данным биохемилюминесценции (БХЛ)) в раннем постреперфузионном

периоде выявило достоверное увеличение свободно-радикальной активности плазмы в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ) в контроле относительно уровня интактных животных и снижение общей АОА плазмы по показателю светосуммы БХЛ в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ).

В серии с мексидолом отмечалось увеличение АОА плазмы примерно в 2 раза ( $p < 0,05$ ) и снижение свободно-радикальной активности в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной серии. Сравнение с интактными животными показало, что мексидол способствовал приближению значений прооксидантно-антиоксидантной активности плазмы к норме (табл.2).

Содержание МДА в ткани артериальных сосудов в контроле было выше уровня интактных животных в 4,6 раза ( $p < 0,05$ ). При введении мексидола содержание МДА снижалось относительно контрольной серии в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ), но оставалось выше значений интактных животных (табл.2).

Таблица 2

Влияние мексидола на показатели биохемилюминесценции плазмы крови и содержание МДА в ткани сосудов в постреперфузионном периоде ( $M \pm m$ )

Серии экспериментов	$I_{\max}$ , mV	S, mV	МДА, нмоль/г ткани
Интактная	$1,97 \pm 0,11$	$18,69 \pm 1,68$	$1,66 \pm 0,21$
Контроль 60 мин	$3,64 \pm 0,11^a$	$41,21 \pm 1,25^a$	$7,64 \pm 0,14^a$
Мексидол 60 мин	$2,78 \pm 0,18^b$	$20,77 \pm 1,47^b$	$4,88 \pm 0,33^b$
Контроль 60 сут	$3,20 \pm 0,13^{ab}$	$39,75 \pm 1,25^a$	$5,48 \pm 0,34^{ab}$
Мексидол 60 сут	$2,07 \pm 0,24^{cd}$	$22,91 \pm 1,85^{ad}$	$2,52 \pm 0,22^{acd}$

Примечание: a - достоверность различий с интактной серией, b - достоверность различий с контролем 60 мин, c – достоверность различий с мексидолом 60 мин, d- достоверность различий с контролем 60 сут;  $p < 0,05$ .

Таким образом, в раннем постреперфузионном периоде в контроле наблюдалась активация свободно-радикального окисления. В момент



реперфузии не только кровь, обогащенная кислородом и содержащая вымываемые из тканей продукты метаболизма, но и сами ЭК и ГМК являлись источником свободных радикалов (Маянский, Маянская, 2001). Введение антиоксиданта мексидола непосредственно после реанимационных мероприятий предупреждает значительное усиление ПОЛ в ткани артериальных сосудов при реоксигенации, приближая значения прооксидантно-антиоксидантной активности плазмы к норме.

Анализ содержания продуктов метаболизма NO, отражающих его уровень в плазме при продукции эндотелиоцитами, в контроле и серии с мексидолом показал увеличение содержания NOx в раннем постреперфузионном периоде относительно интактной серии (рис.7), что подтверждается и другими исследователями (Schwartz, 1999; Topper, Gimbrone, 1999).

Мексидол не оказывал достоверного влияния на показатель NOx в плазме, что свидетельствовало об отсутствии его действия на продукцию NO эндотелиоцитами в раннем постреперфузионном периоде.

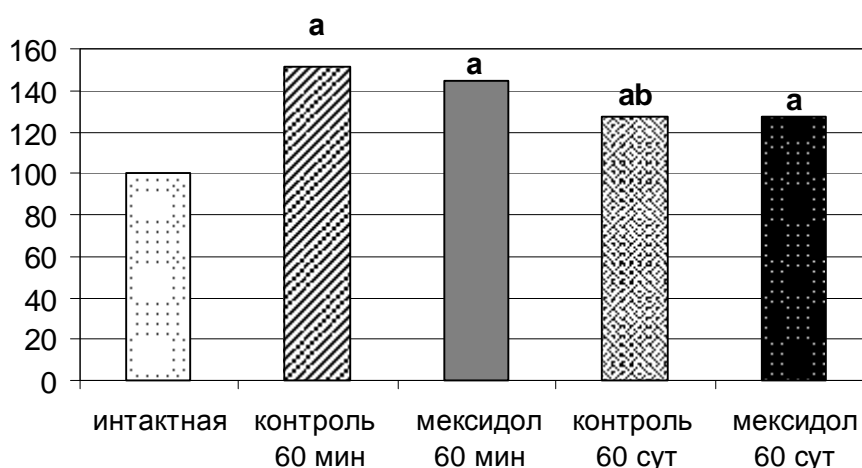


Рис.7. Влияние мексидола на суммарное содержание нитритов/нитратов в плазме в постреперфузионном периоде (в % от интактной серии).

Примечание: а – достоверность различий с интактной серией, b - достоверность различий с контролем 60 мин;  $p < 0,05$ .

## **Влияние мексидола на структурно-функциональные перестройки магистральных артерий в отдаленном постреперфузионном периоде**

В отдаленном постреперфузионном периоде (60 суток) в контроле отмечался рост артериального давления по сравнению с исходным уровнем до моделирования тотальной ишемии.

Гипертензия сопровождалась нарушением реакции расслабления в ответ на введение ацетилхолина, о чем свидетельствовало уменьшение вазодилатации в контроле по сравнению с интактными животными. Мексидол, введенный в первые 60 мин после реанимации, в отдаленном постреперфузионном периоде способствовал стабилизации АД и сохранению вазодилатирующей способности сосудистой стенки (табл.4).

Таблица 4

Артериальное давление и его динамика при проведении ацетилхолиновой пробы на эндотелий-зависимую вазодилатацию в отдаленном постреперфузионном периоде ( $M \pm m$ )

Серии экспериментов	АД до тестирования, мм рт.ст	АД после введения ацетилхолина, мм рт. ст
Интактная	108,3±2,2	90,8±2,4
Контроль 60 сут	133,6±3,2 <sup>a</sup>	118,2±2,3 <sup>a</sup>
Мексидол 60 сут	110,5±2,5 <sup>b</sup>	94,4±1,3 <sup>b</sup>

Примечание: а - достоверность различий с интактной серией, b - достоверность различий с контролем 60 сут;  $p < 0,05$ .

Итак, мексидол, вводимый на ранних этапах после реанимации, устранял внутриклеточный оксидативный стресс, играющий важную роль в нарушении эндотелий-зависимой вазодилатации (Britten, Schuchinger, 1998).

В отдаленном постреперфузионном периоде, в отличие от контроля, при введении мексидола было отмечено уменьшение выраженности соединительнотканых волокон в меди и в подэндотелиальном слое, не наблюдалось нарушения четкой строго послойной структуры расположения волокон в исследуемых сосудах.

Изучение ультраструктуры интимы артерий в отдаленном постреперфузионном периоде показало восстановление эндотелиального пласта. Количество эндотелиоцитов как в контроле, так и в серии с мексидолом было сравнительно одинаковым и не отличалось между собой и по сравнению с интактными животными (рис. 2).

В контрольной серии, в отличие от мексидола, в некоторых участках аорты, сонной и особенно бедренной артерии наблюдались дезориентированные к кровотоку клетки.

Большинство ЭК как в контроле, так и в серии с мексидолом характеризовались восстановлением внутриклеточных структур. Морфометрически это подтверждалось приближением показателей объема, площади наружных мембран и крист митохондрий к интактным значениям (рис. 3,4).

В меди магистральных сосудов в отдаленном постреперфузионном периоде в контроле и при введении мексидола, отмечались отросчатые ГМК синтетического типа, веретенообразные ГМК сократительного типа и переходные клетки – миофибробласты. В контроле распространение их отростков, а иногда и миграция этих клеток шли через места разволокнения внутренней эластической мембраны. В некоторых ГМК отмечался незначительный внутриклеточный отек, единичные миелиноподобные структуры. Ядро неправильной формы с инвагинациями кариолеммы. Митохондрии разного размера с четкими кристами. Во внутренних, прилегающих к интима слоях, было отмечено больше разнонаправленных коллагеновых, и меньше эластических волокон. Данные изменения были минимальны в серии с мексидолом.

Морфометрически в серии с введением мексидола, в отличие от контроля, выявлялось увеличение объема, площади наружных мембран и крист митохондрий (рис. 5,6).

Таким образом, в отдаленном постреперфузионном периоде было отмечено восстановление эндотелиального пласта, трансформация ГМК из сократительного типа в секреторный, с последующим синтезом ими элементов соединительной ткани. Применение мексидола в раннем постреперфузионном периоде уменьшало, но полностью не предотвращало структурные изменения в стенках магистральных артерий в отдаленном постреперфузионном периоде.

Измерение максимальной интенсивности свечения плазмы крови в отдаленном постреперфузионном периоде выявило увеличение свободно-радикальной активности плазмы в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ) и снижение общей АОА плазмы по показателю светосуммы БХЛ в 2,1 раза ( $p < 0,05$ ) относительно уровня интактных животных (табл.2).

В серии с введением мексидола было отмечено увеличение общей АОА плазмы в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ) и снижение свободно-радикальной активности в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ) в отдаленном постреперфузионном периоде. Сравнение с интактными животными показало, что мексидол приближал значения прооксидантно-антиоксидантной активности плазмы к норме.

Содержание МДА в ткани артериальных сосудов в контроле было выше уровня интактных животных в 3,3 раза ( $p < 0,05$ ). При введении мексидола содержание МДА снижалось относительно контрольной серии в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ) (табл.2).

Таким образом, мексидол существенно корректировал метаболизм ткани артериальных сосудов и плазмы крови крыс в условиях ишемии/реперфузии. Положительные эффекты препарата связаны с ингибированием анаэробного гликолиза, интенсификацией окислительного метаболизма, ингибированием свободно-радикальных процессов при

активации антиоксидантной ферментативной системы (Крылов, Бобырёв, 1999).

В исследуемый период показатели NOx снижались относительно раннего постреперфузионного периода, но оставались выше значений интактной серии. Мексидол также как и в раннем постреперфузионном периоде не оказывал влияния на синтез NO (рис.7).

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Развитие структурно-функциональных изменений в сосудистой стенке в ответ на ишемическое/реперфузионное воздействие приводит к изменению структуры и функций магистральных сосудов, связанных с обеспечением функционального состояния организма. В настоящее время остается актуальной разработка мероприятий, препятствующих развитию данных изменений.

Проведенные исследования структуры аорты, сонной и бедренной артерий в контроле в раннем постреперфузионном периоде выявили выраженные структурно-функциональные изменения интимы магистральных артериальных сосудов. Эндотелиоциты подвергались десквамации и реагировали на реперфузионное воздействие преимущественно деструктивными процессами, что наиболее выражено в бедренной артерии. Реакция гладкомышечных клеток состояла в разной степени выраженности внутриклеточного отека, активации перекисных процессов, о чем свидетельствовало наличие миелиноподобных структур. В данный период отмечалась активация свободно-радикального окисления, которая являлась одним из важных повреждающих ЭК и ГМК факторов.

Установлено, что введение мексидола после реанимационных мероприятий предупреждало повышение артериального давления и способствовало сохранности структуры эндотелиального и гладкомышечного слоев, приближало значения прооксидантно-антиоксидантной активности

плазмы к исходным показателям и предупреждало значительное усиление ПОЛ в ткани артериальных сосудов при реоксигенации.

Сравнительный анализ продуктов NO в постреперфузионном периоде как в контроле, так и в сериях с мексидолом выявил повышенное содержание нитритов/нитратов в плазме крови. Несмотря на это в контроле отмечалось нарушение эндотелий-зависимой вазодилатации. Данный факт свидетельствовал о снижении биодоступности NO для гладкомышечных клеток сосудистой стенки после реперфузии. Мексидол улучшал эндотелий-зависимую вазодилатацию, не влияя на продукцию оксида азота.

Применение мексидола в раннем постреперфузионном периоде включало адаптационные механизмы, которые в дальнейшем определяли направленность восстановительных процессов, препятствуя развитию структурно-функциональных перестроек магистральных сосудов.

Таким образом, результаты проведенного исследования представляют не только общебиологический интерес, но имеют важное значение для практической медицины.

## **ВЫВОДЫ**

1. Введение мексидола крысам в дозе 25 мг/кг в раннем постреперфузионном периоде предотвращает повышение артериального давления в первые минуты после восстановления кровотока и способствует его нормализации в отдаленном постреперфузионном периоде.

2. Применение мексидола обеспечивает сохранение эндотелиального слоя стенки аорты, сонной и бедренной артерий при реперфузии после кратковременной тотальной ишемии у животных.

3. Мексидол, применяемый в раннем постреперфузионном периоде, препятствует развитию негативного ремоделирования сосудистой стенки, последствиями которого являются разрастание соединительнотканых

волокон и нарушение функции сосудов в отдаленном постреперфузионном периоде.

4. Введение мексидола предупреждает развитие реперфузионных изменений структуры митохондрий в эндотелиальных и гладкомышечных клетках магистральных сосудов крыс.

5. Мексидол препятствует развитию оксидативного стресса в раннем и отдаленном постреперфузионных периодах, что выражается в снижении содержания МДА в ткани сосудов и интенсивности биохемилюминесценции плазмы крови.

6. Введение мексидола после реанимационных мероприятий в раннем постреперфузионном периоде способствует сохранению эндотелий-зависимой вазодилатации магистральных сосудов в отдаленном постреперфузионном периоде.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Мухина, И.В. Изменение структуры стенки каротидных сосудов в постишемическом периоде / И.В. Мухина, Н.Н. Проданец, Р.С. Куликов, Л.Б. Снопина, Е.И. Яковлева // Морфология. – 2004. - Т. 126, №4. - С. 87.

2. Мухина, И.В. Структурно-функциональная перестройка кровеносных сосудов в постишемическом периоде / И.В. Мухина, Р.С. Куликов, Н.Н. Проданец, М.Л. Смирнова, Л.Б. Снопина // Тез. докл. III Росс. Конгр. по патофизиологии. М., - 2004. - С. 55-56.

3. Мухина, И.В. Влияние мексидола на структуру стенки магистральных сосудов в постреперфузионном периоде. И.В.Мухина, Н.Н. Проданец, Е.И. Яковлева, М.В. Рахчеева // Морфология. – 2006. – Т. 129, №4. - С.89.

4. Мухина, И.В. Особенности структурно-функциональной перестройки магистральных артериальных сосудов в отдаленном постреанимационном периоде. И.В. Мухина, Р.С. Куликов, Е.И. Яковлева, Н.Н. Андреева, Н.Н.

Проданец, Л.Б. Снопина, М.Л. Бугрова / Общая реаниматология. – 2007. Т.3, № 2. – С.8-13.

5. Проданец, Н.Н. Изучение влияния мексидола на процесс ремоделирования магистральных сосудов / Н.Н. Проданец // Человек и здоровье: Тез. докл. десятой Всеросс. медико-биологической конф. молодых исследователей. - Санкт-Петербург, - 2007. – С.358-359.

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АД – артериальное давление

АОА – антиоксидантная активность

БХЛ - биохемилюминесценция

ГМК – гладкомышечная клетка

МДА – малоновый диальдегид

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СРО – свободно-радикальное окисление

ХЛ – хемилюминесценция

ЭК – эндотелиальная клетка

ЭПР – эндоплазматический ретикулум

I<sub>max</sub> – максимальная интенсивность свечения исследуемой пробы

NO – оксид азота

NO<sub>x</sub> – суммарное содержание нитрит/нитрат

S – показатель светосуммы хемилюминесценции