

В. Ф. Сагач, А. В. Дмитрієва, Т. В. Шиманська, С. М. Надточій

Фактор, який вивільнюється під час реперфузії ішемізованого серця, дослідження впливу на міокард, коронарні та периферичні судини

В опытах на сердце морской свинки, изолированном по методу Лангендорфа, трабекуле из правого предсердия и артериальной сосудистой полоске показано, что в течение реперфузии ишемизированного сердца из него выделяется фактор, который вызывает развитие аритмий, угнетение сократительной активности последовательно перфузированного изолированного сердца, депрессию сократительной активности последовательно перфузируемых предсердной трабекулы и артериальной сосудистой полоски. Фактор сохранял свои депрессорные свойства в условиях его хранения 24 ч при комнатной температуре. На основании полученных результатов мы предполагаем, что стабильный фактор, который освобождается из ишемизированного миокарда, способен осуществлять гуморальное влияние не только на коронарную циркуляцию и сократительную активность сердца, но и на тонус периферических сосудов.

ВСТУП

Проблемою ішемії-реперфузії міокарда науковці займаються протягом багатьох десятиріч, а кількість публікацій з цієї тематики обчислюється тисячами. Перелік біологічно активних речовин і метаболітів, які беруть участь у розвитку зворотних та незворотних порушень діяльності серця, також перевищує два десятки [7,10,12,13]. Крім того, не можна обійти увагою вплив рефлекторних реакцій, які роблять істотний внесок у ішемічні та реперфузійні зміни кардіо- та гемодинаміки [6]. Проте, незважаючи на зусилля багатьох дослідників, проблема механізмів розвитку постішемічних розладів діяльності серця і периферичної циркуляції лишається дуже далекою від остаточного вирішення. Виключаючи вплив кардіо-кардіальних, кардіо-васкулярних рефлексів та крові на стан серця і периферичного кровообігу ми вирішили дослідити зміни кардіодинаміки, коронарного потоку і тонузу периферичних судин, які ініціює ішемія-реперфузія, в експериментах

на ізольованих серці, міокардальній трабекулі та судинних смужках за умов їх перфузії сольовим розчином.

МЕТОДИКА

Експерименти проводили на ізольованих серцях морських свинок масою 350-450 г. Перфузію коронарних судин здійснювали за методом Лангендорфа за умов постійного тиску і температури 37⁰С розчином наступного складу (у ммоль/л): NaCl – 118, KCl - 4,7, MgSO₄ - 1,2, NaHCO₃- 24, KH₂PO₄ - 1,2, глюкоза – 10, CaCl₂ - 2,5. Перфузійний розчин аерували карбогеном (95% O₂ і 5% CO₂). Тиск у порожнині лівого шлуночка - розвинутий тиск - (P_p) та кінцево-діастолічний тиск (КДТ) - вимірювали за допомогою латексного балончика тензодатчиками 746 і реєстрували на багатоканальному полікардіографі «Мінгограф-82» («Елема», Швеція). Скороочувальну активність лівого шлуночка оцінювали за значенням dp/dt_{max} і dp/dt_{min} . Величину коронарного потоку вимірювали за

© В.Ф.Сагач, А.В.Дмитрієва, Т.В.Шиманська, С.М.Надточій

об'ємом відтікаючого від ізольованого серця перфузійного розчину за 1 хв. Діастолічну жорсткість міокарда розраховували за співвідношенням КДТ та додаткового об'єму, який вводили в балончик.

Напруження кисню у перфузійному розчині вимірювали за допомогою газоаналізатора BMS 3 Mk 2. Розраховували об'єм споживання кисню за методом Neely [11] та кисневу вартість роботи серця за співвідношенням споживання кисню та тиску, який розвивав лівий шлуночек.

Ішемію-реперфузію моделювали за допомогою повної зупинки перфузії серця на 20 хв і наступної реперфузії впродовж 40 хв. Реєстрацію досліджуваних показників проводили через кожні 5 хв спостереження. Перфузійний розчин, що відтікав із легеневої артерії, збирали окремо за перші 5 хв реперфузії, з 5-ї по 20-ту хвилину, з 20-ї до 40-ї хвилини та після реоксигенації перфузували ними друге інтактне серце, міокардіальну трабекулу та судинну смужку.

Друга частина експериментів виконана на препаратах кільцевих смужок з каротидної артерії і трабекули з вушка правого передсердя морських свинок. Міокардіальні (Д-донор) та судинні (Р-реципієнт) препарати перенесли у термостатовану, двокамерну установку, яка давала змогу як послідовної, так і ізольованої перфузії досліджуваних препаратів [1]. У досліджах використовували синхронну електричну стимуляцію ізольованих препаратів з такими параметрами: 5 Гц, 50 мс, 30 В.

Статистичну обробку результатів проводили методом різниць за допомогою критерію t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати наших досліджень свідчать про те, що 20-хвилина тотальна ішемія серця та наступна його реперфузія призводили до розвитку суттєвих порушень кардіодинаміки та скорочувальної активності міокарда. Тиск, який розвивав лівий шлуночек, вже на 5-й хвилині реперфузії вірогідно знижувався до $51,8 \text{ мм рт.ст.} \pm 2,0 \text{ мм рт.ст.}$ ($P < 0,05$), а на 40-й хвилині дорівнював $38,1 \text{ мм рт.ст.} \pm$

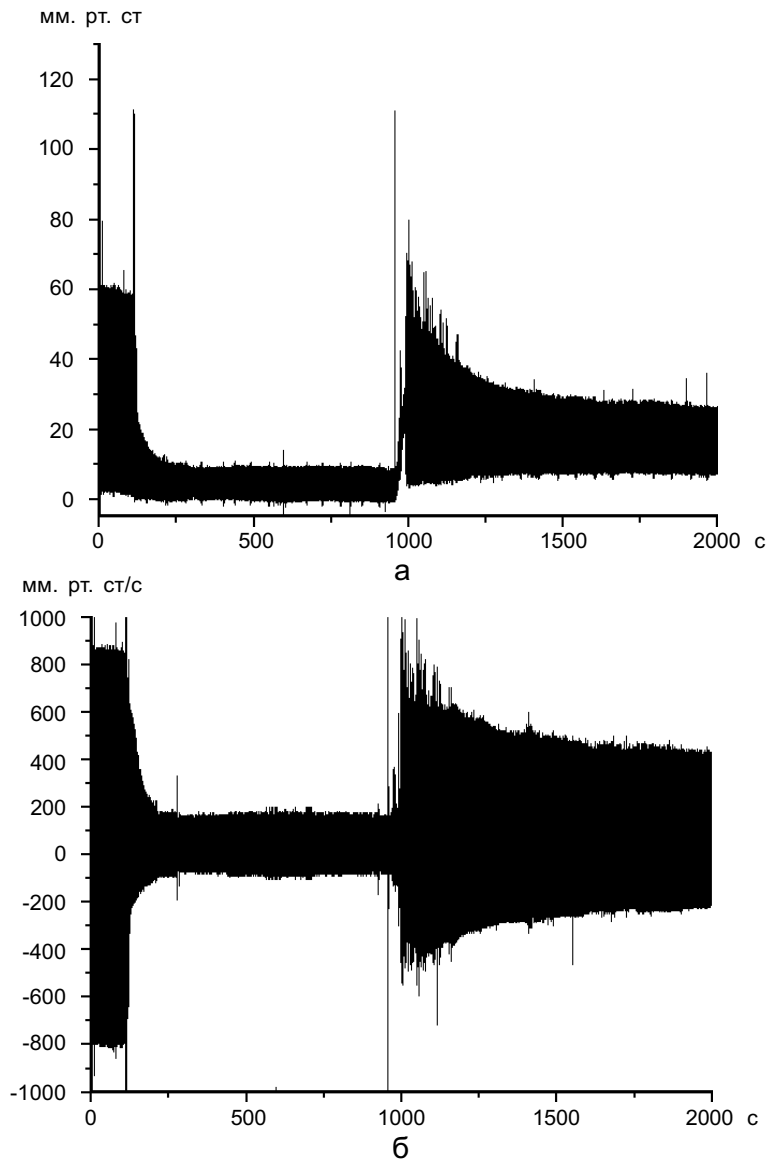


Рис.1. Зміни тиску у лівому шлуночку (а) і параметрів скорочувальної активності міокарда (б) під час ішемії-реперфузії.

1,9 мм рт.ст. (до ішемії він становив 73,0 мм рт.ст. \pm 7,0 мм рт.ст.). Показники скорочувальної активності міокарда dP/dt_{max} і dP/dt_{min} на 5-ту хвилину зменшувалися до 71 та 60% відповідно, відносно вихідного рівня (рис.1). З початком реперфузії серця КДТ починав збільшуватися, на 5-й хвилині ці зміни були вже вірогідними, а на 40-й хвилині він підвищився на 4,0 мм рт.ст. \pm 0,4 мм рт.ст. ($P < 0,001$). Негативні зміни dP/dt_{min} і КДТ супроводжувалися підвищенням діастолічної жорсткості міокарда, значення якої на 40-ву хвилину реперфузії збільшилося на 41%. Коронарний потік впродовж реперфузії поступово зменшувався, на 15-й хвилині реперфузії ці зміни ставали достовірними, на 40-й хвилині спостереження коронарний потік становив 9,5 мл/хв \pm 1,16 мл/хв порівняно з 14,0 мл/хв \pm 1,32 мл/хв до ішемії ($P < 0,01$).

У наших дослідях з початком реперфузії міокарда спостерігалися суттєві порушення серцевого ритму. За перші 5 хв реперфузії кількість екстрасистол була 250 ± 57 ($P < 0,002$), однак уже на 15-20-ту хвилину ритм нормалізувався і кількість екстрасистол не відрізнялася від норми.

Порушення кардіодинамики та скорочувальної активності міокарда супроводжувалися відповідними змінами показників кисневого обміну. Споживання кисню серцевим м'язом мало тенденцію до зниження, а киснева вартість роботи серця істотно збільшувалося, на 10-й хвилині реперфузії вона була більшою на 41% відносно вихідного рівня ($P < 0,05$). Таким чином, тотальна 20-хвилинна ішемія та наступна реперфузія міокарда призводили до суттєвих порушень діяльності серця та зниження ефективності споживання кисню міокардом.

Участь аутокоїдів у розвитку депресії міокарда протягом постішемичної реперфузії продемонстрована в численних дослідженнях [3,13], але порушення, які ми спостерігали, не були транзиторними і не відновлювалися впродовж реперфузійного періоду, що можна розцінювати як непряме свідчення наявності якогось стабільного фактора, котрий

здатен спричиняти депресію міокарда. Тому ми вирішили зробити послідовну перфузію двох сердець. Перфузія другого інтактного серця розчином, який відтікав від першого ішемізованого серця протягом перших п'яти хвилин реперфузії, викликала розвиток потужної екстрасистолії (рис.2). Перфузія другого серця розчином, який збирали з 5-ї по 20-ту хвилину реперфузії першого серця, також спричиняла аритмію, але кількість екстрасистол істотно зменшувалась. Аритмія практично не реєструвалась у разі використання розчина, який був зібраний з 20-ї по 40-ву хвилину реперфузії першого ішемізованого серця. Одночасно P_p другого серця зменшувався під впливом розчину, який збирали під час реперфузії ішемізованого серця, з $53,5 \pm 2,9$ до $45,8$ мм рт.ст. \pm 3,9 мм рт.ст. ($P < 0,001$) через 5 хв перфузії. На той же час значення dP/dt_{max} також знижувалося з 1018 ± 117 мм рт.ст./с до 906 мм рт.ст./с \pm 101 мм рт.ст./с ($P < 0,02$), а dP/dt_{min} - з 708 ± 49 до 615 мм рт.ст./с \pm 66 мм рт.ст./с ($P < 0,05$). Розчин, зібраний за перші 5 хв реперфузії, ми зберігали при кімнатній температурі впродовж однієї доби, а потім перфузували ним інтактне серце, - аритмогенний і кардіодепресорний ефекти перфузату зберегалися в повному об'ємі. Отримані результати свідчать, що при тотальній ішемії ізолюваного серця у відтікаючий розчин вивільнюється стабільний фактор, який спричиняє порушення серцевого ритму та пригнічує скорочувальну активність міокарда. Проте слід відмітити, що амплітуда негативного впливу відтікаючого розчину значно менша за вплив ішемії-реперфузії.

Суперфузовані препарати: передсердну трабекулу і артеріальну судинну смужку ми використовували як модель для вивчення реакцій ефекторних структур серцево-судинної системи за умов виключення впливу змін коронарного потоку на скорочувальну активність міокарда та рефлекторних вазомоторних реакцій. Як контрольний розчин ми використовували перфузат, який відтікав від інтактного працюючого серця, а не розчин Кребса -

Хензелайта, тому що навіть інтактне серце вивільнює в розчин метаболіти, які дещо змінюють тонічне напруження ізольованих препаратів. Після стабілізації роботи та попередньої активації препаратів за допомогою електричної стимуляції, послідовна перфузія препаратів розчином, який був зібраний за

перші 5 хв реперфузії ішемізованого серця, викликала значне падіння тонічного напруження як трабекули, так і судинної смужки на $2,36 \pm 0,3$ і $2,24 \text{ мН} \pm 0,32 \text{ мН}$ відповідно. У тих випадках, коли ішемія спричиняла глибоку та незворотну депресію міокарда ізольованого серця, перфузія розчином, зібраним

за перші 5 хв реперфузії, викликала глибоку депресію трабекули і зниження тону артеріальної смужки, які не відмивалися впродовж 20 хв перфузії контрольним розчином. Перфузія ізольованих препаратів розчином, який збирали з 5-ї до 20-ї хвилини реперфузії ішемізованого серця викликала розвиток різнонаправлених реакцій міокардіального та судинного препаратів (рис.3). Тонічне напруження активованої трабекули зменшувалося на $1,23 \text{ мН} \pm 0,17 \text{ мН}$, а артеріальної судинної смужки збільшувалося на $1,13 \text{ мН} \pm 0,12 \text{ мН}$. Найменш виразним був вплив на тонічне напруження ізольованих препаратів перфузії розчином, який збирали за останні 20 хв реперфузії ішемізованого серця (рис.4). Тобто концентрація фактора, який вивільнюється з ішемізованого серця, є максимальною в перші хвилини і зменшується з часом реперфузії. Слід ще раз відмітити, що розчин, який добу зберігали при кімнатній температурі, не втрачав своєї депресорної дії на ізольовані міокардіальну трабекулу та артеріальну судинну смужку. Особливо треба підкреслити значно виразніший негативний вплив відтікаючого від ішемізованого серця розчину на ізольовані міокардіальні і, особливо, судинні

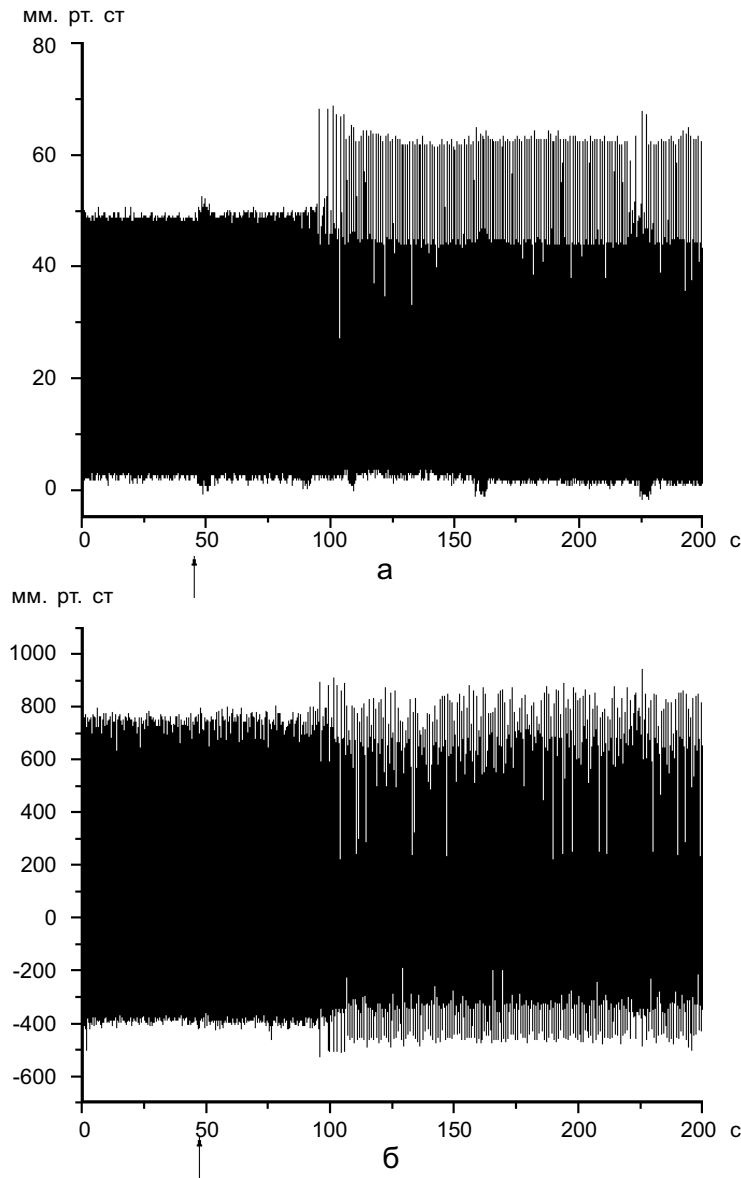


Рис.2. Зміни тиску у лівому шлуночку (а) і параметрів скорочувальної активності міокарда (б) при перфузії розчином, що відтікав за перші 5 хв реперфузії ішемізованого серця. Стрілкою позначено початок перфузії.

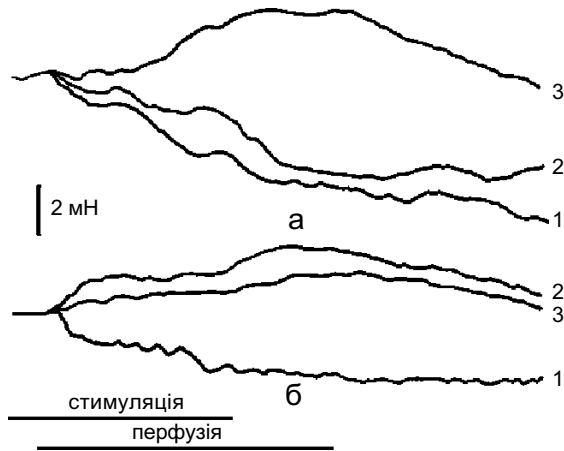


Рис.3. Вплив відтікаючого від ішемізованого серця перфузату на тонічне напруження ізольованих препаратів: а - передсердна трабекула, б - артеріальна судинна смужка;

1 - дія перфузату зібраного за перші 5 хв реперфузії;
2 - дія перфузату зібраного з 5-ї до 20-ї хвилини;
3 - дія перфузату зібраного з 20-ї до 40-ї хвилини.

препарати порівняно з ефектами на послідовно перфузоване серце.

Традиційно дослідники і практичні кардіологи приділяли увагу, насамперед, порушенням коронарної циркуляції і скорочувальної активності міокарда за умов ішемії-реперфузії серця, дилатацію периферичних резистивних і ємнісних судин вважали зумовленою кардіо-васкулярними рефлексамі [6]. Але в 1981 р. з'явилися дані про гуморальну зумовленість дилатації ємнісних судин за умов ішемічного і гіпоксичного пошкодження серця [2]. Пізніше виявили гуморальну регуляцію тону периферичних артеріальних і венозних судин за умов імунного та ішемічного пошкодження [3,4], але ці зміни кардіодинаміки і периферичної циркуляції спричинялися, на-

самперед, аутокоїдами мембранного походження [3,14], дія яких дуже короткочасна. В 1997 р. з'явилася стаття Felix з співавт. [8], в якій був описаний кардіодепресорний медіатор, що мав характеристики, дуже схожі з нашим фактором. Автори з'ясували, що він має небілкову природу, молекулярну масу близько 500 кДа і зберігає свої властивості впродовж однієї доби при кімнатній температурі. У результаті подальших досліджень автори дійшли висновку, що кардіодепресорний медіатор зменшує вхід кальцію в кардіоміоцити, блокуючи L-тип кальцієвих каналів [9]. Інші автори підкреслюють, що він діє через вплив на міофіламенти, знижуючи чутливість скоротливих білків до Ca^{2+} [15]. Проте природа цього медіатора нез'ясована, крім того, за межами інтересів дослідників лишився вплив відкритої ними речовини на периферичні судини. Наведені нами дані прямо свідчать, що стабільний фактор, який вивільнюється ішемізованим міокардом, здійснює гуморальну регуляцію не тільки коронарної циркуляції і скорочувальної активності серця, але і тону периферичних судин. На підставі літературних даних та власних результатів ми вважаємо, що найбільш імовір-

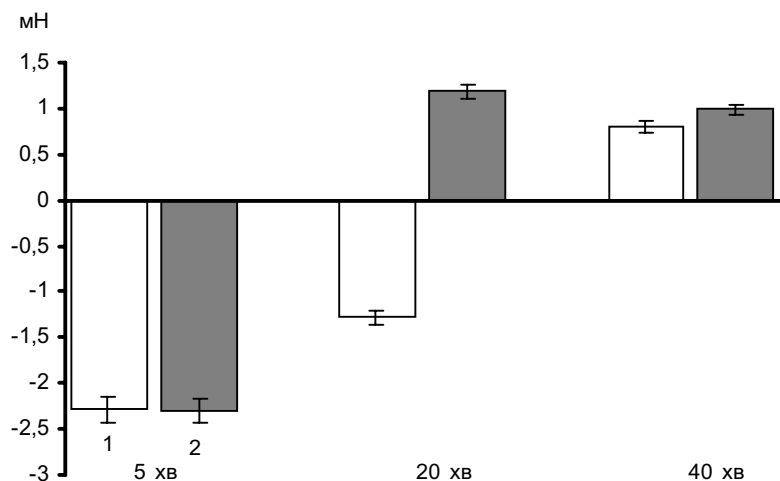


Рис.4. Зміни тонічного напруження міокардальної трабекули і судинної смужки під впливом відтікаючого від ішемізованого серця розчину, який збирали в різні періоди реперфузії: 1 - трабекула, 2 - артерія.

ним тригером утворення і вивільнення стабільного фактора із ішемізованого міокарда під час реперфузії можуть бути вільнорадикальні пошкодження структури і метаболізму кардіоцитів [5,12].

Таким чином, протягом реперфузії ішемізованого серця із нього вивільнюється стабільний фактор, який спричиняє розвиток аритмій, пригнічення скорочувальної активності ізольованого серця, депресію скорочувальної активності передсердної трабекули і артеріальної судинної смужки.

**V.F.Sagach, A.V.Dmitrieva,
T.V.Shimanskaya, S.M.Nadtochiy**

RELEASE OF A FACTOR AFTER MYOCARDIAL ISCHEMIA DURING REPERFUSION - THE INVESTIGATION OF ITS INFLUENCE ON MYOCARDIUM, CORONARY AND PERIPHERAL VESSELS

The effect of reoxygenated coronary effluent of an isolated guinea-pig heart on a sequentially perfused second heart, right auricle trabecula and arterial vessel rings was studied after 20 min ischaemia of the first heart. It has been shown that a factor released after myocardial ischemia/reperfusion stimulates arrhythmia, decreases myocardial contractility of the second heart and depresses tonical tension of the right auricle trabecula and arterial vessel rings. Storage of the coronary effluent up to 24 h did not modify its effects. These results suggest stable factor released from an isolated heart after ischaemia at reperfusion to exert humoral effect not only on a myocardial contractility and coronary circulation but on the peripheral vessels tonus.

*A.A. Bogomoletz Institute of Physiology
National Academy of Science of Ukraine, Kiev*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Жукова А. В. Модулюючий вплив ендотеліального релаксуючого фактора на реактивність міокарда та артеріальних судинних смужок // Фізіол. журн. - 1999. - 45, № 1-2. - С. 64-72.
2. Мойбенко А.А., Сагач В.Ф. О гуморальном механизме реакций емкостных сосудов при иммун-

ном и гипоксическом воздействии на сердце // Физиол. журн. СССР. - 1981. - LXVII, № 1. - С.73-80.

3. Мойбенко А.А., Сагач В.Ф. Иммуногенные нарушения деятельности сердечно-сосудистой системы. - К.: Наук.думка, 1992. - 302 с.
4. Сагач В.Ф., Дмитриева А.В. Кардио- и гемодинамика у собак при развитии постишемической шоковой реакции // Физиол. журн. - 1989. - 35, N 4. - С. 9-15
5. Сагач В.Ф., Шиманська Т.В., Надточій С.М. Вивчення ролі оксиду азоту у змінах споживання кисню та кисневої вартості роботи серцевого м'язу // Там само. - 2000. - 46, №2. - С.33-38.
6. Ткаченко Б.И., Поленов С.А., Агнаев А.К. Кардиоваскулярные рефлексy. - Л. Медицина, 1975. - 232 с.
7. Bolli R. Postischemic myocardial stanning. Pathogenesis, pathophysiology and clinical relevance. - In: Myocardial protection: the pathophysiology of reperfusion and reperfusion injury. - New York: Raven Press, 1992. - P. 105-149
8. Felix S.B., Stangl V., Frank T.M. et al. Release of a stable cardiodepresant mediator after myocardial ischemia during reperfusion // Cardiovasc. Res. - 1997. - 35. - P. 68-79.
9. Felix S.B., Stangl V., Pietsch P. et al. Soluble substances released from postischemic reperfused hearts reduce calcium transient and contractility by blocking the L-type calcium channel // J. Amer. Coll. Cardiol. - 2001. - 37, N 2. - P. 668-675.
10. Lefer A.M. Significance of lipid mediators in shock states // Circ. Shock. - 1989. - 27. - P. 3-12.
11. Neely J. R., Liebermeister H., Battersby E. J. et al. Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated heart // Amer. J. Physiol. - 1967. - 221. - P.804-813.
12. Reimer K.A., Tanaka M., Murray C.E. et al. Evaluation of free radical injury in myocardium // Toxicol. Pathol. - 1990. - 18. - P. 470-480.
13. Stangl V., Baumann G., Stangl K., Felix S.B. Negative inotropic mediators released from the heart after myocardial ischemia-reperfusion // Cardiovasc. Res. - 2002. - 53, N 1. - P. 12-30.
14. Zhukova A.V., Sagach V.F. Role of eicosanoids in the postischemic shock development // Pol. J. Pharmacol. - 1996. - 48, N 1. - P. 23-29.
15. Zhao-Kang Y, N.J.Draper, A.M.Shah. Ca²⁺-independent inhibition of myocardial contraction by coronary effluent of hypoxic rat hearts // Amer. J. Physiol. - 1999. - 276. - P. H623-H632.

*Ін-т фізіології ім.О.О.Богомольця НАН
України, Київ*

*Матеріал надійшов
до редакції 15.01.2002*