

## On Functional Changes in the Vessels in Experimental Elevation of Vascular Tone

M. F. Sirotina

*Laboratory of circulatory physiology of the A. A. Bogomoletz Institute of Physiology of the Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev*

### Summary

The state of the peripheral circulation and the blood composition were investigated in the dynamics of development of experimental forms of hypertension. The vascular permeability was studied on 52 rabbits and 11 dogs with the aid of albumin labelled with  $^{131}\text{I}$  and Evans' blue stain.

Chronic elevation of arterial pressure leads to accelerated elimination from the vascular stream of large-molecular compounds. In rabbits with renal and reflexogenic hypertension the most distinct removal from the vascular system of coarsely disperse compounds coincides with the periods of highest rise of arterial pressure.

Chronic elevation of vascular tone is attended in all investigated animals by an increase in total protein, progressive increase in the quantity of globulins and a decrease in the albumin-globulin coefficient. Experimental hypertension evokes changes in the morphological composition of the peripheral blood; a considerable rise in the number of thrombocytes, reticulocytes is observed; the erythrocyte and hemoglobin contents increase; changes occur in the total quantity of leukocytes and in some leukogram components.



## Дихання мітохондрій та анаеробний гліколіз у динаміці розвитку експериментального інфаркту міокарда

Н. М. Розумна

*Відділ біохімії Інституту клінічної медицини ім. акад. М. Д. Стражеска, Київ*

Як відомо, основна маса енергії в міокарді утворюється за рахунок аеробного окислення або дихання.

Проте за деяких умов дихання може порушуватися і обмін речовин переключається на інший, хоч і мало ефективний шлях — гліколіз.

Гліколіз, який безсумнівно здійснюється також у нормальному серцевому м'язі [30, 33, 34, 35, 36], як і дихання, супроводжується синтезом багатих на енергію фосфорних сполук.

Процеси гліколізу і дихання тісно пов'язані і взаємозумовлені. При достатній кількості кисню гліколіз поступається місцем аеробному розщепленню глюкози, і, навпаки, навіть незначна нестача кисню приводить до інтенсифікації анаеробного розпаду вуглеводів. Активація ферментів гліколізу здійснюється також при незначному дефіциті АТФ. При цьому продукти анаеробного розпаду — піровиноградна і молочна кислоти — стають добре утилізованими субстратами дихання.

Деякі праці свідчать про зміни гліколізу і дихання у серцевому м'язі при ряді патологічних станів.

Так, при експериментальному міокардиті виявлено пригнічення дихання, гальмування гліколізу з порушенням гліколітичної оксидоредукції, зменшення вмісту глікогену і нагромадження лактату в серцевому м'язі [5, 13, 14, а].

Активация гліколітичних ферментів міокарда описана при стенозі аорти [3, 9], при застійній недостатності серця [32].

При інфаркті міокарда — одній з найпоширеніших і тяжких форм патології серця — окислювальні процеси в міокарді також порушуються. На жаль, відповідні літературні дані, які підтверджують цей факт [19, 21, 23, 24, 27], далеко недостатні для всебічної оцінки зрушень, що настають. Ці дані одержані в основному при дослідженні початкових строків розвитку процесу на кашичках або гомогенатах серцевого м'яза і не дають уявлення про динаміку наступних зрушень окислення, а також про їх локалізацію.

Між тим детальне вивчення окислювальних процесів інфарктного серця в їх динаміці та взаємозв'язку необхідне для розуміння патогенезу цих змін, а також обґрунтування спрямованого впливу на них шляхом застосування впливів, які нормалізують енергетичні процеси.

Завданням нашого дослідження було вивчення змін дихання у мітохондріях інфарктного серця та інтенсивності анаеробного розпаду вуглеводів у динаміці на коротких і більш тривалих строках розвитку захворювання.



### Методика досліджень

Досліди провадилися на 98 собаках обох статей, вагою 13—18 кг. Інфаркт викликали перев'язкою передньої низхідної гілки лівої коронарної артерії. При цьому зона некрозу була розташована на передній поверхні стінки лівого шлуночка у середній і нижній його третині, захоплюючи міжшлуночкову перетинку і нерідко верхівку серця.

У частини тварин інфаркт викликали закупоркою металевим шаблоном однієї з гілок лівої коронарної артерії, без розтину грудної порожнини, за методом Хомазюка та ін. [26].

Контролем служили 20 здорових собак, у частини з яких розтинали грудну клітку без накладання лігатури на судини серця. Серце вилучали для аналізу під внутрішнім амітал-натрієвим наркозом через 12 і 24 год, 2, 3, 5, 10, 30—40 діб після операції.

Мітохондрії виділяли за загальноприйнятою методикою [15]. Для цього досліджувані ділянки тканини промивали охолодженням розчином КСІ 0,15 М концентрації протягом 30 сек, потім подрібнювали ножицями до кашки і гомогенізували у скляному гомогенізаторі з тефлоновим товчком у 0,25 М розчині сахарози з 0,001 М етилендіамінтетрацетатом, рН 7,4. Фракцію мітохондрій виділяли методом диференціального центрифугування. Всі маніпуляції здійснювали, ретельно дотримуючи режим охолодження, при температурі 0—2° С.

Одержану фракцію мітохондрій суспензували у розчині сахарози 0,25 М, рН 7,4 і застосовували для визначення дихання.

Поглинання кисню інфарктною і неуразеною зонами серця вимірювали манометричним методом в апараті Варбурга в атмосфері кисню повітря із додаванням субстратів дихання — сукцината і альфакетоглутарата разом з малонатом.

Дихання вивчали за період інкубації протягом 10 хв при температурі 26° С. Кожна проба містила кількість мітохондрій з 0,5 г тканини. Поглинання кисню виражали в мікроатомах на пробу тканини.

Гліколіз вивчали на подрібненому міокарді інфарктної та інтактної зон серця. Про інтенсивність гліколізу судили за приростом молочної кислоти, вираженим в мг на 1 г сирої тканини за одну годину інкубації. Кожна проба містила 400 мг кашки, 2 мл 2,5%-ного крохмалю на фосфатному буфері рН 7,4. Інкубацію здійснювали при температурі 37° С у пробірках Тунберга в анаеробних умовах [20]. Молочну кислоту визначали за методом Баркера і Саммерсона [31] з параоксидифенілом в модифікації Северина і Мешкової [14].

### Результати досліджень та їх обговорення

Через 12 год в зоні ішемії звичайно спостерігали ціаноз, іноді крапкові крововиливи. Через добу уражена зона чітко відрізнялась від навколишньої тканини міокарда. Поверхня її була ціанотична з крововиливами, стазами. Іноді зона інфаркту мала жовтувате забарвлення.

Наприкінці другої доби інфарктна ділянка визначається у вигляді осередку брудно-жовтого кольору. На третю—п'яту доби зона васкуляризації перев'язаної артерії характеризувалась мозаїчністю, тобто між ділянками некрозу були розташовані менш уражені ділянки міокарда.

На десяту добу ділянка інфаркту була щільної консистенції, жовтуватого кольору з острівцями повнокрової соковитої сполучної тканини. Ступінь розростання її не завжди був однаковим. Іноді зона ураження була рубцевозміненою, білявого кольору.

На 30—40-й день спостереження ділянка інфаркту була невеликих розмірів з чітко розвинутою рубцевозміненою тканиною.

Наші дані по вивченню дихання в мітохондріях і гліколізу представлені в таблиці та на рис. 1, 2.

Як видно з наведених даних, енергетичні можливості інфарктного серця протягом усього періоду спостереження виявились тією чи іншою мірою порушеними.

Через 12 год після відтворення інфаркту міокарда поглинання кисню в зоні ішемії різко зменшилось. Аналогічна направленість аеробного окислення спостерігалась і в неуразеній зоні серця.



В умовах утвореної гіпоксії, коли дихання помітно порушено, природно було б чекати активації гліколізу. Проте, як видно з наших даних, анаеробне розщеплення вуглеводів у цей період також загальмоване. Таке пригнічення окислювальних процесів свідчить про критич-

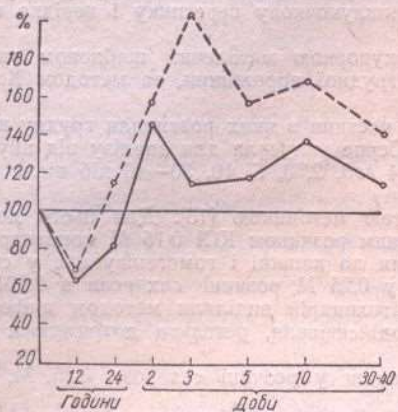


Рис. 1. Активність ферментів гліколітичного розпаду вуглеводів у інфарктній та інтактній ділянках міокарда.

По горизонталі — час у годинах і добах після початку експерименту. По вертикалі — процентне відношення до норми. Суцільна лінія — інфарктна зона, штрихова лінія — інтактна зона.

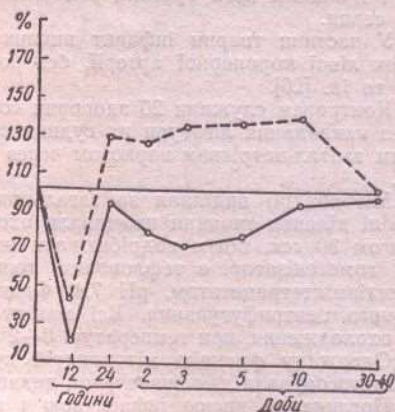


Рис. 2. Поглинання кисню в мітохондріях інфарктної та інтактної зон серцевого м'язу.

Умовні позначення див. рис. 1.

ний момент в енергетичному обміні. Це підтверджується й тим, що більшість піддослідних тварин, серця яких ми досліджували, гинули саме в ці строки.

#### Дихання в мітохондріях і гліколіз міокарда в динаміці розвитку експериментального інфаркту міокарда у собак (середні величини в динаміці)

| O <sub>2</sub> в мікроатомах на пробу |         |               | Молочна кислота в мг на 1 г сирової тканини |               |
|---------------------------------------|---------|---------------|---------------------------------------------|---------------|
| Норма                                 | 8,7     |               | 2,68                                        |               |
| Тривалість інфаркту                   | інфаркт | інтактна зона | інфаркт                                     | інтактна зона |
| 12 год                                | 1,83    | 3,66          | 1,70                                        | 1,81          |
| 24 год                                | 8,2     | 11,3          | 2,15                                        | 3,14          |
| 2 доби                                | 6,92    | 10,9          | 3,95                                        | 4,24          |
| 3 доби                                | 6,51    | 11,58         | 3,07                                        | 5,58          |
| 5 діб                                 | 6,65    | 11,7          | 3,19                                        | 4,21          |
| 10 діб                                | 8,0     | 12,02         | 3,68                                        | 4,53          |
| 30—40 діб                             | 8,42    | 8,74          | 2,97                                        | 3,18          |

Характерно, що у перші хвилини і години гострої ішемії ми, як і інші дослідники [11, 12, 18, 22, 27] виявляли поряд з пригніченням дихання деяку активацію ферментів гліколізу ураженої ділянки міокарда.

Пригнічення анаеробного і аеробного окислення у початковій фазі гострої ішемії безсумнівно пов'язане з утвореними тут порушеннями



структурних елементів міокарда. Сюди можна віднести: порушення проникності клітинних мембран, зміну і розпад мітохондрій, нагромадження ліпідів у зоні інфаркту, порушення електролітного складу у внутрі- і позаклітинному просторі [1, 2, 4, 28].

Через добу окислювальні процеси в інфарктному серці дещо активуються порівняно з попередніми строками. Поглинання кисню в басейні виключеної артерії збільшується, проте не досягає контрольних величин. Активність ферментів гліколітичного розпаду в некротичній ділянці становить 80% норми.

В неуразеній зоні серця в описуваний період настає активація дихання і гліколізу.

Ця тенденція до нормалізації окислювальних процесів інфарктного серця на фоні некротичних змін, що настають, добре узгоджується з думкою Португалова [10]. Як вважав автор, загибель частини мітохондрій та інактивація ферментів приводить до компенсаторного підвищення активності ферментних систем залишених мітохондрій.

Характерно, що описане посилення гліколізу збігається за часом з активацією деяких інших ферментів ішемізованого міокарда, амілази [22], водорозчинної аденозинтрифосфатази [17, 19].

В наступні дні досліджу на другу, третю, до п'ятої доби включно, дихання в інфарктній ділянці залишається зниженим на 25—30% норми. Швидкість поглинання кисню в інтактній зоні перевищує норму на 30—40%.

Особливу увагу викликає активація гліколізу в описуваний період. Як видно з представлених даних, інтенсивність гліколізу у цей час досягає максимальних значень. Причому, згадані зміни спостерігаються не лише в зоні інфаркту, а й у неуразеній ділянці. Така активація гліколізу, видимо, має компенсаторний характер і може свідчити про наявність гіпоксії міокарда. Проте на фоні гіпоксичних явищ в міокарді при цьому здатність мітохондрій до дихання при наявності достатньої кількості кисню і субстратів дихання порушена незначно.

Дані про активацію гліколізу в описуваний період узгоджуються з результатами досліджень Хмелько [25], яка на восьму добу в інфарктованому серцевому м'язі кролика виявила посилення гліколізу вдвоє.

Особливої уваги заслуговують тривалі строки розвитку інфаркту, порядку десяти діб. За літературними даними, цей період характеризується активним розростанням грануляційної тканини, клітини якої відрізняються особливим типом обміну [2, 4, 6, 16, 29].

За нашими експериментальними даними, у вказаний період окислювальні процеси в міокарді різних тварин були неоднакового характеру. Коли зона інфаркту була повністю заміщена молодою грануляційною тканиною, спостерігалась посилена здатність мітохондрій до поглинання кисню. У тих випадках, коли зона інфаркту лише частково заміщалась новоутвореною сполучною тканиною, дихання в мітохондріях звичайно знижувалось порівняно з першими днями досліджу.

В неуразеній зоні у цей час швидкість поглинання кисню в мітохондріях залишалась такою ж, як і на п'яту добу. Через десять діб гліколіз як в інфарктній, так і в інтактній зонах серця все ще залишався дещо підвищеним.

На 30—40-у доби після початку експерименту енергетичні процеси в інфарктному серці уже значною мірою відновлювались. Дихання як в інфарктній, так і в перинфарктній зонах нормалізувалось. Активність ферментів гліколізу знижувалась порівняно з попереднім строком в обох ділянках досліджуваного серця, проте і на 30—40-у доби перевищувала норму. Наявність підвищеної гліколітичної активності у



спостережуваний період може вказувати на збереження гіпоксії міокарда.

Ларіна [7] спостерігала симптом кисневої недостатності у хворих на інфаркт міокарда навіть через два-три місяці після початку захворювання. Артеріо-венозна різниця за киснем і коефіцієнт використання кисню у половини хворих були вище норми, що вказувало на збільшення поглинання кисню організмом і наявність кисневого голодування тканин.

Проведені дослідження дихання в мітохондріях інфарктного серця і гліколізу міокарда в динаміці розвитку експериментального інфаркту дозволили виявити деякі особливості біологічного окислення на різних стадіях перебігу хвороби.

Встановлено, що окислювальні процеси в мітохондріях при інфаркті стійко, але помірно знижені.

Гальмування окислення при застосуванні як субстрату янтарної кислоти, беручи до уваги, що сама кислота є активатором дихання і що фермент, який бере участь в її окисленні — сукциндегідрогеназа є одним з найбільш стійких [8], дозволяє припустити, що активність дихальних ферментів початкової ланки дихального ланцюга, в умовах даного експерименту, значно знижена.

Великий інтерес становлять досліді, проведені при наявності субстрату дихання альфа-кетоглутарової і малонової кислот. Інтерес цей полягає в тому, що окислення альфа-кетоглутарату вимагає не лише специфічної дегідрازی, а й обов'язково наявності нікотинаденіндинуклеотида (ДПН), кількість якого строго лімітує окислення вказаного субстрату. За нашими даними, дихання при додаванні альфа-кетоглутарової кислоти порушувалось значно більше, ніж з янтарною кислотою.

Найбільше гальмування окислення альфа-кетоглутарата було відзначено через 12, 24 год і дві доби після відтворення інфаркту міокарда.

Можна припустити, що тут поряд з інактивацією ферментів здійснюється і зменшення кількості нікотинаденіндинуклеотида.

### Висновки

1. Енергетичні процеси у серцевому м'язі собак значно порушуються протягом місяця після відтворення інфаркту міокарда. Найбільш глибокі зміни дихання і гліколізу спостерігаються протягом перших діб, але частково вони зберігаються і в більш пізні строки.
2. Значна активація ферментів анаеробного розпаду вуглеводів після деякого гальмування у першу добу зберігається протягом усього періоду спостереження з деякою тенденцією до нормалізації лише на 30-й день після початку експерименту.
3. Різниця у величині поглинання кисню між мітохондріями інфарктної та неураженої зон серця спостерігалась протягом місяця після перев'язки судин серця. Проте при достатній кількості кисню і субстратів дихання, внесених іззовні, здатність мітохондрій інфарктного серця поглинати кисень була знижена порівняно з нормою не більше ніж на 25—30%.
4. Активація аеробного окислення і анаеробного розпаду вуглеводів у неураженій зоні міокарда при інфаркті, видимо, пов'язана з наявністю гіпоксії та нестачею АТФ і спрямована на компенсацію втраченої функції ураженої ділянки міокарда.



## Литература

1. Андреев С. В.—Материалы IV Всесоюз. конфер. патофизиол., Тбилиси, 1964, 1, 9.
2. Архангельский А. В., Исупов И. В.—Архив патологии, 1965, 3, 25.
3. Вялых М. Ф., Меерсон Ф. З.—Вопросы мед. химии, 1960, 6, 19.
4. Горнак К. А., Лушников Е. Ф.—Архив патологии, 1963, 25, 1, 14.
5. Зубовская А. М.—Бюлл. exper. биологии и мед., 1961, 3, 55.
6. Калитневская В. Ф.—Архив патологии, 1957, 5, 29.
7. Ларина В. С.—Кардиология, 1962, 2, 74.
8. Е. Ф. Лушников—Морфология окислительно-восстановительных процессов в сердце при экспериментальном инфаркте миокарда. Канд. дисс., М., 1962.
9. Меерсон Ф. З., Егорова М., Гуз С.—Вопр. мед. химии, 1955, 1, 5.
10. Португалов В. В.—В кн.: Пластические и восстановительные процессы. М., 1959, 202.
11. Райскина М. Е.—Вопр. мед. химии, 1959, 2, 83.
12. Райскина М. Е.—В кн.: Биохимия нервной регуляции сердца. М., 1962.
13. Саратиков А. С.—В кн.: Новые лекарственные растения Сибири. 1953.
14. Северин С. Е., Мешкова Н. П.—Практикум по биохимии животных. М., 1950.
- 14а. Северин С. Е., Цейтлин Л. А.—Вопросы мед. химии, 1961, 7, 2, 292.
15. Скулачев В. И.—В кн.: Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи. Изд-во АН СССР. М., 1962.
16. Смольяников А. В., Наддачина Т. А.—Архив патологии, 1965, 6, 14.
17. Фетисова Т. В.—В сб.: Гипертоническая болезнь, атеросклероз, коронарная недостаточность. К., 1965.
18. Фетисова Т. В., Лихтенштейн И. Е., Разумная Н. М., Фролькис Р. А., Циомик В. А.—Тр. I Всесоюзного биохим. съезда, 1964, вып. 2.
19. Фетисова Т. В., Хомицька Л. В., Циомик В. А.—Укр. біохім. журн., 1963, 36, 80.
20. Фердман Д. Л., Сопин Е. Ф.—Практикум по биохимии животных. К., 1952.
21. Фролькис В. В., Кульчицкий К. И., Милько В. И., Кузьминская У. А.—В кн.: Коронарное кровообращение и коронарная недостаточность. К., 1962.
22. Фролькис Р. А., Лихтенштейн И. Е., Разумная Н. М.—В сб.: Гипертоническая болезнь, атеросклероз, коронарная недостаточность. К., 1965.
23. Хачатрян Л. Л.—Особенности энергетического обмена сердечной мышцы при экспериментальном инфаркте миокарда. Канд. дисс., М., 1964.
24. Хмелько А. Г.—Врач. дело, 1959, 12, 1261.
25. Хмелько А. Г.—Врач. дело, 1965, 9, 47.
26. Хомазюк А. И., Нещерет А. П.—Кардиология, 1965, 4, 19.
27. Чотоев Ж. А.—Влияние серотонина на окислительный и углеводофосфорный обмен мышцы сердца. Канд. дисс., М., 1964.
28. Шабаш А. Л.—Цитология, 1959, 1, 1, 15.
29. Шишкин С. С.—В кн.: Повторные инфаркты миокарда. М., 1963.
30. Barron S., Sights W., Widler V.—Arch. Exp. Path. a. Pharmacol., 1953, 219, 338.
31. Barker R., Summerson W.—J. Biol. Chem., 1941, 138, 535.
32. Bing R.—Fortschr. d. Kardiol., 1956, 1, 52.
33. Buzard L. a. oth.—Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1956, 93, 1, 156.
34. Haarman W.—Biochem. Z., 1932, 255, 103, 142.
35. Haarman W., Brink N.—J. Pharmacol. a. Exp. Therap., 1935, 122, 169.
36. Wu J. a. Chang—Quart. J. Exploration Physiol., 1958, 34, 2, 91.

## Дыхание митохондрий и анаэробный гликолиз в динамике развития экспериментального инфаркта миокарда

Н. М. Разумная

Отдел биохимии Института клинической медицины им. акад. Н. Д. Стражеско

### Резюме

Изучалось дыхание в митохондриях и гликолиз сердечной мышцы инфарктной и интактной зон у 98 собак в различные сроки (12, 24 часа, 2, 3, 5, 10, 30—40 суток) после воспроизведения инфаркта миокарда методом перевязки передней нисходящей ветви левой коронарной артерии.