

ВПЛИВ ТІОСУЛЬФАТУ НАТРІЮ НА ДЕЯКІ ПРОЯВИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АДРЕНАЛІНОВОГО МІОКАРДИТУ У ЩУРІВ

В. Я. Кононенко, В. М. Гордієнко, Т. К. Кононенко

Київський інститут ендокринології та обміну речовин

Серед різноманітних речовин біологічного походження, які привертають останнім часом увагу при вивченні патогенезу, а також лікування ряду захворювань серцево-судинної системи, одне з чільних місць займають сірковмісні сполуки. Це відноситься і до сполук тіосульфату, які мають у своєму складі біологічно активний двовалентний атом сірки. Так, як за умов експерименту, так і клініки було показано, що тіосульфат натрію може бути використаний при лікуванні гіпертонічної хвороби та атеросклерозу [6, 11, 12, 18, 25, 30].

Ми раніше [7, 8 та ін.] з метою з'ясування механізму впливу цієї сполуки на серцево-судинну систему вивчали обмін катехоламінів. Зокрема було показано, що тіосульфат натрію може зменшувати вміст катехоламінів у серці і судинній стінці, а також гальмувати поглинання тканинами серця і аорти введених катехоламінів [8, 9], що можна було розглядати як вияв своєїрідної «хімічної десимпатизації» серця і судин.

Враховуючи ці дані, а також беручи до уваги існуючі уявлення про важливу роль катехоламінів у патогенезі деяких захворювань серця [2, 4, 16, 19, 26], нами були проведені експериментальні дослідження на білих щурах, метою яких було з'ясувати, як впливає тіосульфат натрію на морфологічні і деякі гістохімічні прояви експериментального міокардиту, викликаного введенням адреналіну.

Методика досліджень

Проведено три серії дослідів на 70 статевозрілих білих щурах, середньою вагою близько 200 г.

В першій серії дослідів в динаміці вивчали гістологічні зміни в міокарді, що наставляли через 2—24 год після внутрім'язового введення тваринам (10 щурів) адреналіну (0,5 мл 0,1%-ного розчину на 100 г ваги). Тваринам другої групи (10 щурів) адреналін вводили через 15 хв після попереднього введення під шкіру тіосульфату натрію в дозі 0,1 г на 100 г ваги. П'ять щурів одержували лише один тіосульфат натрію, а п'ять тварин були інтактними і використовувались у цій серії дослідів як контроль. Вилучене серце тварин фіксували в 10%-ному нейтральному розчині формальдегіду, шматочки передсердь і шлуночків потім збезводнювали і заклали в парафін. З парафінових блоків виготовляли серійні зрізи товщиною 5—8 мк, одну частину яких фарбували гематоксилін-еозином, іншу — за методикою Ван-Гізона.

У другій серії дослідів (16 щурів) вивчали електронномікроскопічні зміни в серцевому м'язі, обумовлені адреналіном, і вплив на них тіосульфату натрію. В цій серії дослідів тварин поділили на чотири групи (по чотири тварини в кожній), з яких одна була контрольною; тваринам другої групи вводили внутрім'язово адреналін з розрахунку 0,25 мг на 100 г ваги; тваринам третьої групи вводили тіосульфат натрію в дозі 0,1 г на 100 г ваги; тваринам четвертої групи спочатку вводили тіосульфат натрію, а через 15 хв адреналін у тих же дозах. Через 24 год після введення згаданих сполук, а також контрольних тварин декапітували. Серце швидко вилучали і з лівого шлуночка вирізали шматочки міокарда, які фіксували за Коулфілдом [21] і глютаральдегідом. Після нас-

тупного збезводнювання шматочки міокарда заливали в суміш метил- і бутилметакрилатів або аралдит. Ультратонкі зрізи одержували на ультрамікромомі LKB-4800 (Швеція), контрастували їх уранілацетатом і цитратом свинцю і вивчали на електронному мікроскопі JEM-7 (Японія).

В третій серії дослідів гістохімічно вивчали в міокарді активність моноаміноксидази — ферменту, який має велике значення в метаболізмі катехоламінів і в явищах медіації адренергічних нейронів. Експерименти проведено на чотирьох групах тварин, по шість тварин у кожній групі. Методика проведення експерименту за схемою була такою ж, як і в другій серії дослідів. З вилученого серця на заморожувальному мікромомі виготовляли серійні зрізи, які вмішували в інкубаційне середовище за прописом Гленнера [22]. Субстратом моноаміноксидази в інкубаційному середовищі служив солянокислий триптамін. Про активність ферменту в структурах міокарда судили за інтенсивністю забарвлення і характером розподілу формазану [10].

Результати досліджень та їх обговорення

Вивчення гістологічних змін у міокарді дозволило одержати дані, які в певній мірі узгоджуються з результатами наших біохімічних досліджень [7, 8, 9] і дали можливість виявити деякі істотні відмінності в морфологічних змінах серцевого м'яза, що виникають після введення одного адреналіну і після введення його на фоні тіосульфату натрію.

У тварин, яким вводили адреналін, були виявлені сильні пошкодження м'язових волокон і інтрамуральних судин з вираженою продуктивною реакцією в інтерстиції, що характеризує паренхіматозний міокардит.

Ці зміни можна поділити на: 1) синхронні зміни, що виникають безпосередньо під впливом введення адреналіну; 2) вторинні зміни, що виникають у відповідь на гостре пошкодження міокарда.

До синхронних змін, перш за все, можна віднести зміни в судинах і м'язових волокнах, які спостерігаються в міокарді в перші строки після введення адреналіну.

Так, через 2—4 год після введення адреналіну відзначалось багато розривів м'язових волокон, разом з якими розривались дрібні судини і капіляри. В цей час відзначались явища, які характеризують спазматичний стан судин, зокрема, порушення цілності елементів адвентиції, зміни їх ядер у вигляді гіперхроматозу або хроматолізу з наступною базofilією протоплазми клітинних елементів в судинній стінці. Розриви м'язових волокон і капілярів супроводжувались значними крововиливами в зонах ушкодження.

На препаратах міокарда тварин, декапітованих через 24 год після введення адреналіну, спостерігались зміни, що відповідають класичним рисам запалення у відповідь на ушкодження. Вони характеризувались лейкоцитарною реакцією, набряком, особливо в периваскулярній і інтерстиціальній тканині міокарда. Крім того, в багатьох місцях спостерігалась продуктивна реакція, що супроводжувалась збільшенням кількості гістіоцитарних та міобластичних клітин.

У щурів, яким вводили тільки тіосульфат натрію, істотних змін у міокарді щодо норми не виявлено. У цих тварин лише спостерігалась значна повнокровність міокарда, що мала вогнищевий характер, супроводжувалась різким розширенням судин і поширювалась на судини всіх калібрів, особливо термінальних відділів артерій, вен і капілярів.

На фоні тіосульфату дія адреналіну на міокард була значно меншою, ніж без нього. Структура серцевого м'яза зберігалась майже повністю, саркоплазма м'язових волокон мала поздовжнє і поперечне окреслення. Лише місцями відзначались незначні зміни саркоплазми м'язових клітин, що розташовувались безпосередньо біля сильно розшире-

них капілярів з явищами діapedезу і найдрібнішими крововиливами. Характерно, що продуктивна реакція з боку інтерстиції міокарда була відсутня у цих тварин.

Таким чином, одержані результати гістологічних досліджень свідчать про те, що тіосульфат натрію, якщо і не запобігає, то значною мірою ослаблює морфологічні зміни міокарда, що виникають у ньому у відповідь на введення токсичних доз адреналіну.

Вивчення впливу тіосульфату натрію на ультраструктурні зміни, що виникають в міокарді під впливом катехоламінів, має велике значення при дослідженні реакції клітини на різні фізіологічні і патологічні подразнення [1]. Вони важливі також і тому, що в них фактично поєднуються морфологічні і біохімічні дослідження і створюються передумови для вивчення патологічних процесів на новому рівні [15]. До того ж електронномікроскопічні зміни міокарда під впливом катехоламінів в тій чи іншій мірі описані в працях останнього часу [13, 17]. Подібні дослідження, як нам здавалось, не лише дозволили б з'ясувати питання про характер впливу тіосульфату натрію на експериментальний адреналіновий міокардит, а й частково підійти до вивчення можливих механізмів цього впливу.

У контрольних щурів (рис. 1) спостерігалась типова ультраструктура міокарда, яка описана раніше [28].

Введення тіосульфату натрію не супроводжувалось чіткими змінами в ультраструктурі міокарда, і лише в окремих його ділянках можна було помітити незначне набрякання мітохондрій і просвітлення їх матриксу. В цілому, ультраструктура міокарда у щурів через 24 год після введення тіосульфату натрію відповідала контролю (рис. 2).

Найістотніші ультраструктурні зміни були виявлені у щурів, яким вводили адреналін (рис. 3). Особливо це стосується мітохондрій. Більшість їх перебуває у стані різкого набряку, а за своїми розмірами вони в два-три рази перевищують мітохондрії міокарда контрольних щурів. Зовнішня мембрана таких мітохондрій різко потончена, нечітко видно її двоконтурність.

Значно змінюються кристи мітохондрій. Вони скорочуються, фрагментуються, нерідко майже повністю руйнуються. Пучки міофібрил у таких місцях значно потоншуються, поперечне окреслення їх стає нечітким, а в ендоплазматичному ретикулумі з'являються цистерни. На мембранах ретикулуму знаходиться дещо більше за кількістю, порівняно з нормою, рибосом.

Електронномікроскопічні зміни міокарда у щурів, яким адреналін вводили на фоні тіосульфату натрію, були значно меншими, ніж при введенні одного адреналіну (рис. 4). Частина мітохондрій міокарда у таких тварин перебувала в стані невеликого набряку, але їх структура, зокрема кристи, менше відрізнялися від норми, ніж при введенні одного адреналіну. Не змінювались також і міофібрили, рибосоми за своїми розмірами більше наближались до норми.

Таким чином, результати електронномікроскопічних досліджень показали, що одноразове введення адреналіну в дозі 250 мкг на 100 г ваги викликає глибокі дистрофічні зміни в клітинах міокарда у щурів, особливо в його енергетичних локусах — мітохондріях. Ці зміни, напевно, є головним морфологічним проявом гістотоксичної гіпоксії, що виникає внаслідок надлишку адреналіну в міокарді [20]. Збільшення в кількісному відношенні і укрупнення рибосом відображає підвищений синтез білка, що раніше за умов адреналінового міокардиту спостерігала Веденеева [4]. В свою чергу підвищення синтезу білка є проявом компенсаторних процесів, спрямованих на відновлення ушкоджених струк-

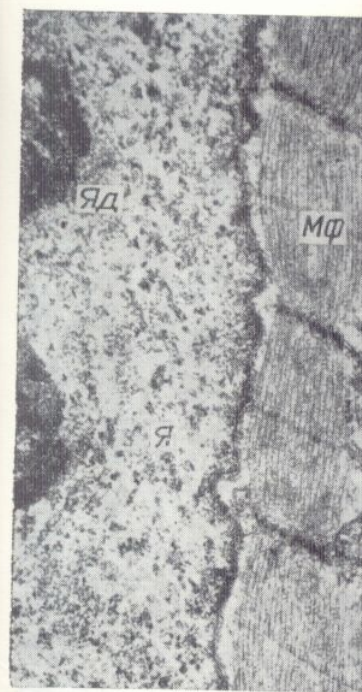


Рис. 1. Електронограма міокарда контрольних щурів.
М — мітохондрії, М_д — міофібрили.



Рис. 2. Електронограма міокардальних щурів, яким вводили тіосульфат натрію.
М — мітохондрії, М_д — міофібрили.

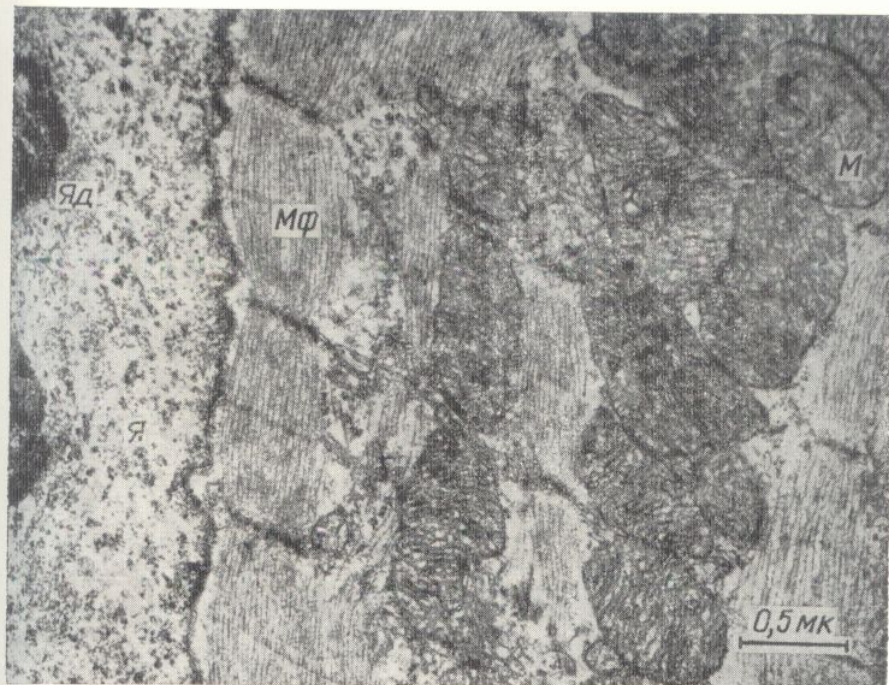


Рис. 1. Електронограма міокардіальної клітини інтактного щура ($\times 26\,000$).
М — мітохондрії, МФ — міофібрили, Я — ядро, Яд — ядереце.

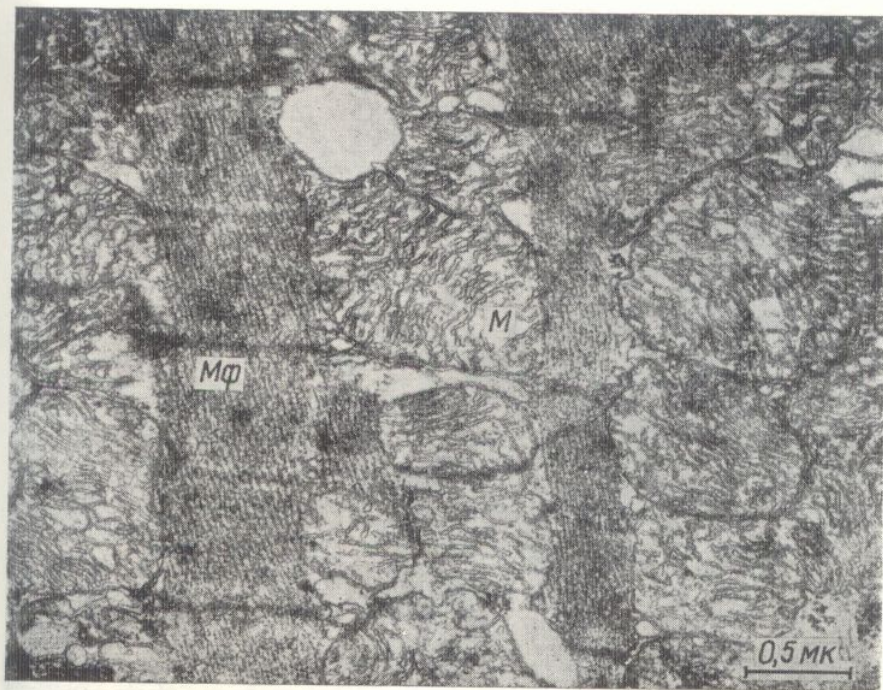


Рис. 2. Електронограма міокардіальної клітини щура через 24 год після введення тіо-
сульфату натрію ($\times 26\,000$).
Позначення див. рис. 1.

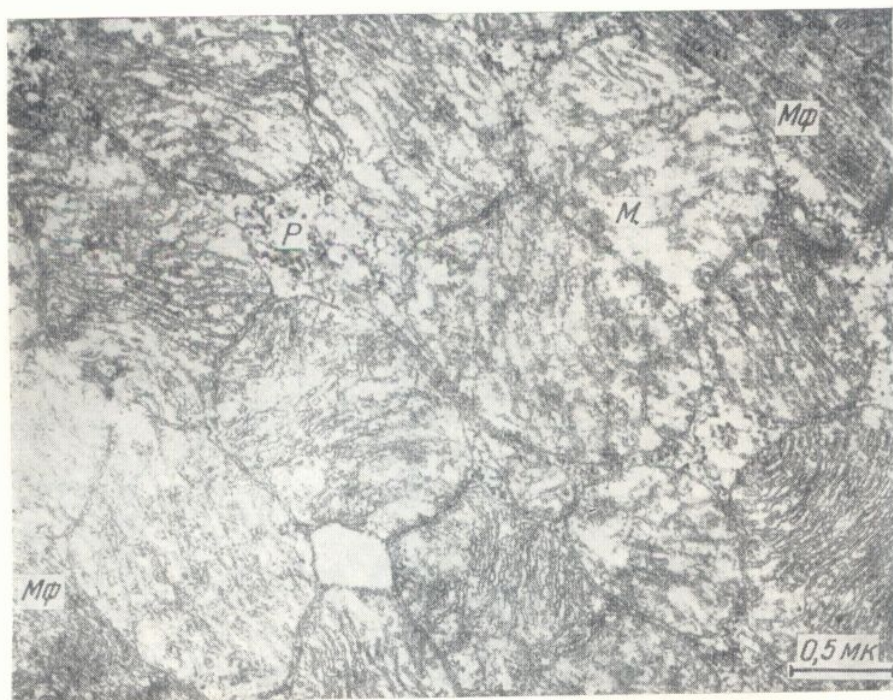


Рис. 3. Електронограма міокардіальної клітини щура через 24 год після введення адреналіну ($\times 26\,000$).

М — мітохондрії з різким набряком і зруйнованими кристами, Р — збільшені рибосоми, Мф — потоншені пучки міофібрил з печітким поперечним окресленням.

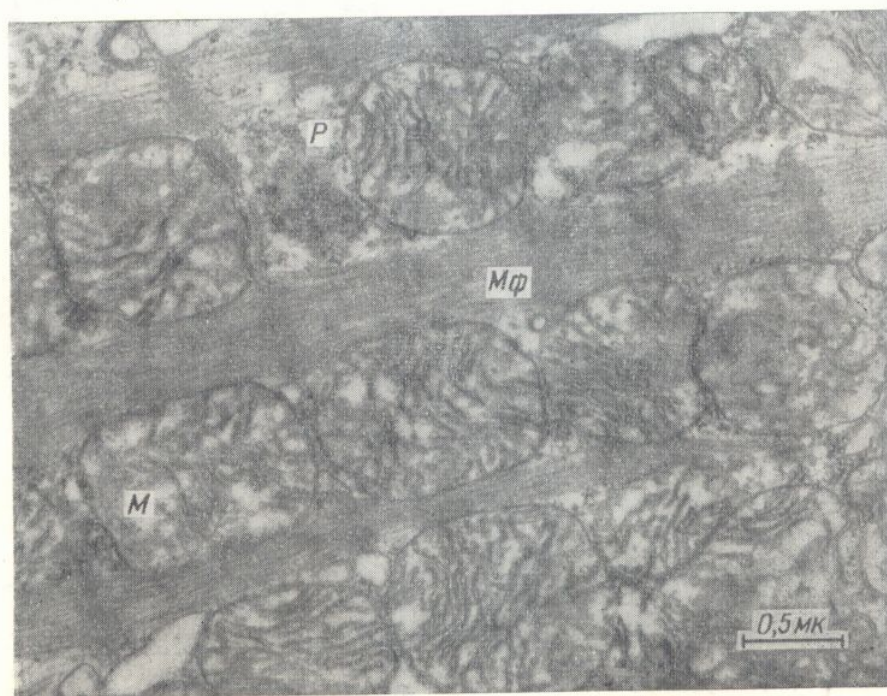


Рис. 4. Електронограма міокардіальної клітини щура після послідовного введення тіосульфату натрію і адреналіну ($\times 26\,000$).

Позначення див. рис. 3.

тур міокарда і синтез ферментів в ділянках міокарда. Введення тіосульфату натрію, як показує, не призводить до ослаблення пошкодження міокарда.

Ці результати збігаються з деякими зовнішніми рисами: щури були сонливими, адинамічними, шерсть у них була суха, дихання часте і поверхневе. Введення адреналіну після тіосульфату натрію або значно слабкішими, або нічим не відрізнялися.

Такий вплив тіосульфату натрію, як свідчать наші попередні дослідження зменшенням пошкодження адреналіну, можливі [14]. Але це не виключає впливу на швидкість перетворення міокарді.

З метою часткового з'ясування за допомогою гістохімічних дослідів аміноксидази в серцевому м'язі перед серією дослідів.

Введення тваринам тіосульфату натрію з метою зменшення активності ферменту занадто в міокарді.

Більш значним було зменшення активності моноаміноксидази, особливо в міокарді щурів, при введенні адреналіну.

Але найбільше підвищення активності моноаміноксидази спостерігалось у тварин, які отримували тіосульфат натрію і адреналін.

Таким чином, ці дані свідчать про те, що в явленому нами феномені впливу адреналіну на міокардальні ферменти окисного дезамінування. При цьому тіосульфат натрію не впливає на активність моноаміноксидази, але, можливо, на субстратну активацію ферменту. Наші експерименти з впливом адреналіну, коли гістохімічне дослідження показало високою. Такі припущення про вплив на клітину як каталізатора [23, 24] є мітохондрії, в яких відбувається окисна даза [5]. Молекулярні механізми впливу моноаміноксидазою можуть ґрунтуватися на сульфгідрильних групах, яких у певній мірі залежить активність ферменту.

В зв'язку з тим, що тіосульфат натрію містить сірководневі речовини, які в тканинах тварин [27, 29] викликають інтерес у плані пошуку нових препаратів для лікування міокарда, як було показано раніше [14] вплив і сульфгідрильних сполук на активність ферменту.

тур міокарда і синтез ферментів, які беруть участь у катаболітичних реакціях в ділянках міокарда, що перебувають у стані альтерації. Тіосульфат натрію, як показали і електронномікроскопічні дослідження, ослаблює пошкодження міокарда, обумовлене адреналіном.

Ці результати збігаються з даними спостереження за поведінкою і деякими зовнішніми рисами тварин. При введенні одного адреналіну щури були сонливими, адинамічними, мало реагували на різні подразнення, шерсть у них була скуйовджена, видимі слизові оболонки ціанотичні, дихання часте і поверхневе. Наведені симптоми у тварин, яким вводили адреналін після введення тіосульфату натрію, були відсутні, або значно слабкішими, а тварини, яким вводили один тіосульфат натрію, нічим не відрізнялися від контрольних.

Такий вплив тіосульфату натрію на перебіг адреналінового міокардиту, як свідчать наші попередні дані [8, 9], частково може бути обумовлений зменшенням поглинання міокардом із кров'яного русла введеного адреналіну, можливо, внаслідок зменшення проникності судин [14]. Але це не виключає можливості впливу цієї сірковмісної сполуки на швидкість перетворення адреналіну безпосередньо в самому міокарді.

З метою часткового з'ясування останнього питання в третій серії дослідів за допомогою гістохімічного методу вивчали активність моноаміноксидази в серцевому м'язі за умов експерименту, що відповідали попередній серії дослідів.

Введення тваринам тіосульфату натрію викликало помітне підвищення активності ферменту, про що свідчили збільшення гранул формазану в міокарді.

Більш значним було збільшення гістохімічних проявів активності моноаміноксидази, особливо в стінках судин і в сосочкових м'язах серця щурів, при введенні адреналіну.

Але найбільше підвищення гістохімічної реакції на моноаміноксидазу спостерігалось у тварин, яким послідовно вводилися тіосульфат натрію і адреналін.

Таким чином, ці дані дають підстави гадати, що значну роль у виявленому нами феномені ослаблення тіосульфатом натрію ушкоджуючої дії адреналіну на міокард, може відігравати вплив його на інтенсивність окисного дезамінування амінів безпосередньо в серцевому м'язі. При цьому тіосульфат натрію не лише сам по собі підвищує активність моноаміноксидази, але, можливо, потенціює індуковану адреналіном субстратну активацію ферменту, що впливає, зокрема, з результатів наших експериментів з послідовним введенням тіосульфату натрію і адреналіну, коли гістохімічна реакція на моноаміноксидазу була самою високою. Такі припущення цілком можливі, оскільки однією з мішеней впливу на клітину як катехоламінів [13, 17], так і тіосульфату натрію [23, 24] є мітохондрії, в яких переважно і зосереджена моноаміноксидаза [5]. Молекулярні механізми взаємодії тіосульфату з моноаміноксидазою можуть ґрунтуватися на дії двовалентного атома сірки тіосульфату на сульфгідрильні групи апоферменту моноаміноксидази, від яких у певній мірі залежить активність цього ферменту [5].

В зв'язку з тим, що тіосульфат є одним з проміжних продуктів обміну сірковмісних речовин і вступає в різноманітні біохімічні реакції в тканинах тварин [27, 29, 31], одержані нами в експерименті дані становлять інтерес у плані пошуку природних сполук, які можуть бути використані для лікування серцевих захворювань, що супроводжуються, як було показано раніше [2, 3], певними розладами обміну катехоламінів і сульфгідрильних сполук.

Література

1. Авцын А. П.— Вестник АМН СССР, 1968, 1, 8.
2. Андреев С. В.— Руководство по патол. физиол., М., «Медицина», 1966, 3, 361.
3. Андреев С. В.— В кн.: Саногенез (Матер. конфер.), М., 1968, 85.
4. Веденева З. И.— Фармакол. и токсикол., 1962, 25, 3, 286.
5. Горкин В. З.— В кн.: Молекул. основы патол., М., «Медицина», 1966, 179.
6. Кононенко В. Я.— Пробл. эндокринол. и гормонотер., 1962, 8, 2, 20.
7. Кононенко В. Я.— В кн.: Тези доп. VII з'їзду Укр. фізіол. т-ва, К., 1964, 199.
8. Кононенко В. Я.— В кн.: X съезд Всес. физиол. об-ва им. И. П. Павлова, М.—Л., «Наука», 1964, II, 1.
9. Кононенко В. Я.— В кн.: Фармакол. и химия. Матер. XI Всес. фармакол. конфер., посв. 100-летию акад. Н. П. Кравкова, М., 1965, 157.
10. Кононенко В. Я., Зряков О. Н., Кононенко Т. К.— Физиол. журн. АН УРСР, 1970, 16, 5, 600.
11. Кононенко В. Я., Кумонок И. М.— В кн.: Труды IV Всес. съезда патолого-анатомов. Пробл. атеросклероза и серд.-сосуд. патол. М., «Медицина», 1967, 73.
12. Кононенко В. Я., Семенко И. Ф.— Врачебное дело, 1962, 8, 28.
13. Митин К. С., Бескровнова Н. Н., Абиднер А. А.— Бюлл. exper. биол. и мед., 1971, 71, 6, 103.
14. Полосухин А. П.— В кн.: Труды Всес. об-ва физиол., биохим., фармакол., 1952, 1, 55.
15. Струков А. И., Пауков В. С.— Кардиология, 1967, 7, 9, 3.
16. Утевский А. М.— В кн.: Гипертонич. болезнь, атеросклероз и коронар. недостат., К., «Здоров'я», 1967, 5.
17. Чечулин Ю. С., Глаголева В. В.— В кн.: Труды I Моск. ин-та, 1970, 68, 130.
18. Штейнберг С. Я., Баршак П. Д.— Врачебное дело, 1941, 4, 251.
19. Шхвацабая И. К., Меньшиков В. В.— Кардиология, 1962, 2, 6, 27.
20. Шхвацабая И. К., Райкина М. Е.— Вестник АМН СССР, 1967, 4, 19.
21. Caulfield J.— J. Biophys. Biochem. Cytol., 1957, 3, 5, 827.
22. Glenner G., Burthner H., Brown G.— J. Histochem. Cytol., 1957, 5, 6, 591.
23. Koj A.— Post. Biochem., 1969, 15, 4, 357.
24. Koj A., Frendo J., Janik Z.— Biochem. J., 1967, 103, 3, 2, 791.
25. Loeper M.— Le soufre, Paris, 1943.
26. (Raab W.) Рааб В.— В кн.: Достижения кардиологии, М., «Медгиз», 1959, 67.
27. Schneider J., Westley J.— J. Biol. Chem., 1963, 238, 10, 3516.
28. (Smith D.) Смит Д.— В кн.: Электронномикроскопическая анатомия, «Мир», 1967, 141.
29. Szczepkowski T., Skarzynski B., Weber M.— Nature (Engl), 1961, 189, 4769, 1007.
30. Vignalou J.— Paris Médical, 1948, 45, 513.
31. Volini M., Westley J.— J. Biol. Chem., 1966, 241, 22, 5168.

Надійшла до редакції
20.XII 1972 р.

EFFECT OF SODIUM THIOSULPHATE ON SOME MANIFESTATIONS OF EXPERIMENTAL ADRENALINE MYOCARDITIS IN RATS

V. Ya. Kononenko, V. M. Gordiyenko, T. K. Kononenko

*Institute of Endocrinology and Metabolism, Ministry of Public Health,
Ukrainian SSR, Kiev*

Summary

Histologic and electron-microscopic changes as well as a histochemical reaction of monoaminoxidase by Genner were studied in the myocardium of albino rats which adrenaline in doses of 0.25—0.50 mg per 100 g of weight was administered intramuscularly to.

It is established that sodium thiosulphate in a dose of 0.1 g per 100 g of weight introduced 15 min before adrenaline injection weakens distinctly adrenaline affections of the myocardium appearing for the first 24 hours after administration of adrenaline to rats especially in mitochondria. Simultaneously intensification of the histochemical reaction to monoaminoxidase was registered in the myocardium. The found property of sodium thiosulphate might be due to its effect on the vascular penetrability and absorption of circulating adrenaline by the myocardium and perhaps activation of oxidative desamination of amines in the myocardium.

РОЛЬ РІЗНИХ В РЕГУЛЯЦІЇ ГІПО

Лабораторія патофізіології Київ

Найбільш поширене в літ чиння гальмівний вплив на уявлення базується на дани гіпокампа в регуляції гіпофі [13, 14, 16, 17]. Але таке уявл повідомлень, зокрема опублі гуляторні впливи гіпокампа б

Ендорці та ін. [4] вия імпульсами електричного стр 36 імн/сек) викликає зниже попереднім больовим подраз 120—240 імн/сек веде до поси

Каваками та ін. [7] у гос подразнення гіпокампа зниж кових залоз у заздалегідь стр саваних кроликів. Ці автори впливи викликаються з різних

Отже, питання про значе лової системи залишається не Ми вивчали вплив дорса кортикостероїдів у крові, а ного функціонального стану г

Мет

Досліди проведені на кролик подразнення гіпокампа вживляли кс Стереотаксичні координати за атла кампа відповідали AP +3; DS 2—3 DS 7; V —6. Гіпокамп подразнюва: параметрами: частота 50 імн/сек, т амплітудне значення струму 0,5—0 тривало від 3 до 5 хв.

Про діяльність гіпофіз-адрена роїдів у плазмі периферичної крові, брали з вушної вени перед подразн подразнення.

Після закінчення дослідів тва ліні, готували зрізи товщиною 60—

Резу

Вміст 11-оксикортикостер наковий у різних індивідів, а ні періоди експериментів. Як