

УДК 612.135.0.17.1

В. Т. Антоненко, Л. Ю. Бачинская, С. Ф. Городецкая, Н. П. Зюбина

ВЛИЯНИЕ АНТИКАРДИАЛЬНОЙ АНТИЦИТОХРОМОКСИДАЗНОЙ СЫВОРОТКИ НА МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ В СЕРДЦЕ СОБАКИ

Учитывая высокую чувствительность миокарда к нарушению окислительных процессов при некоронарогенной ишемии сердца, мы использовали полученную нами антикардиальную антицитохромоксидазную сыворотку (АЦХОС) для моделирования ишемических состояний миокарда у собаки на фоне нейрогенно-аутоаллергических повреждений миокарда [1, 2]. При данной патологии обосновано изучение состояния микроциркуляторного русла сердца, находящегося в тесном контакте с клетками миокарда и подвергающегося прямому воздействию метаболитов, низкомолекулярных биологически активных веществ, накапливающихся в условиях ишемии органа. По данным ряда исследователей, острая коронарная недостаточность может возникать вследствие нарушения микроциркуляции при неизменных коронарных артериях. В связи с этим целенаправленное воздействие на патологию микроциркуляции является одной из наиболее актуальных проблем современной кардиологии [3].

В механизме адаптации кровоснабжения миокарда в условиях патологии большую роль играет реакция сопротивления коронарных сосудов. Так, резерв коронарного кровообращения характеризуется отношением коронарного сопротивления в условиях максимальной вазодилатации к коронарному сопротивлению покоя. К основным сосудам сопротивления, или резистивным, относят артериолы, артерио-венозные анастомозы (АВА) и прекапиллярные сфинктеры [4—7]. Малоизученным является вопрос, касающийся функционального состояния АВА при ишемии сердца. Основные функции АВА — регуляция давления крови, снижение капиллярной перфузии в коронарной системе. Нарушение функционирования АВА влечет за собой изменения в местном периферическом кровообращении (стазы, тромбозендоваскулиты) и, как следствие, патологические изменения структуры тканей, например очаговые дистрофии миокарда. Первоначальные проявления нарушений микроциркуляции при инфаркте миокарда выражаются в изменении тонуса коронарных сосудов в виде вазоконстрикции прекапилляров, влекущей за собой внекапиллярный сброс крови по АВА и ограничение капиллярной перфузии. Для клиники инфаркта миокарда (особенно в первые дни болезни) характерной особенностью является большая частота обнаружения функционирующих АВА в конъюнктиве склер больных [8]. Данные патологоанатомических исследований сердец лиц, умерших от инфаркта миокарда, наблюдения в условиях экспериментального инфаркта миокарда свидетельствуют об усилении активности АВА в миокарде [9, 13].

Вопрос о влиянии ингибиторов цитохромоксидазы, в частности АЦХОС, на функциональное состояние резистивных сосудов сердца не освещен в литературе.

Мы изучали характер микроциркуляторного ответа (АВА, прекапиллярных артериол) сердца собаки *in vitro* на введение АЦХОС. Комплексные исследования, проведенные в нашей лаборатории, позволили отметить явления ишемии, инфаркта миокарда, снижение активности цитохромоксидазы, напряжения кислорода в миокарде собак под влиянием вводимой им внутривенно АЦХОС.

Методика исследований

Для получения антикардиальной АЦХОС кроликов иммунизировали 1,5 мг/кг цитохромоксидазы, выделенной из сердечной мышцы собак по методу Окунуки, подкожно с 0,5 мл полного адьюванта Фрейнда. Повторные инъекции фермента в тех же количествах делали через 28—30 дней. Затем кроликов иммунизировали два дня по 1 и 1,5 мг цитохромоксидазы внутривенно. Применяли АЦХОС с титрами антител по Оухтерлони 1:2—1:16 и Уанье 1:640—1:2560.

Перфузию изолированного сердца собаки осуществляли с помощью специально приспособленного аппарата искусственного кровообращения ИСЛ-4. Учитывая выраженное влияние силы и частоты сердечных сокращений на функциональную активность АВА, а также других отделов коронарной системы, мы проводили опыты на фибриллирующем сердце, перфузируемом раствором Рингера — Локка при температуре 37°С и заданном объеме перфузии 80 мл на 100 г веса сердца. Методика определения активности АВА заимствована нами у авторов [11], определявших активность АВА кошек с помощью куриных эритроцитов (ЭР). На основании данных о количестве введенных и вышедших в венозное русло ЭР определяется коэффициент активности АВА ($K_{\text{АВА}}$). По величине $K_{\text{АВА}}$ авторы рассчитывали сопротивление основных сосудов сопротивления по формуле $r_{\text{СС}} = \frac{R}{1 - K_{\text{АВА}}}$, где R — общее сопротивление сосудов, равное отноше-

нию перфузионного давления к объему перфузата за минуту [13]. В наших исследованиях 10% взвесь ЭР вводили в обе коронарные артерии, четыре-пять проб перфузата брали непосредственно после начала введения эритроцитарной взвеси через каждые 30 с, собирая свободно стекавший перфузат с верхушки сердца в течение 2—3 мин. Нормальную кроличью сыворотку (НКС) и кроличью АЦХОС вводили в объеме 2 мл. ЭР, НКС и АЦХОС вводили в коронарные артерии как раздельно, так и в сочетании НКС и ЭР, АЦХОС и ЭР. Каждая серия включала пять опытов.

Для изучения влияния АЦХОС на активность цитохромоксидазы в перфузируемом сердце сыворотку вводили внутримышечно в левый желудочек в объеме 1 мл (пять опытов). Активность фермента определяли по методу Штрауса [14] и выражали в индофенольных единицах на 1 кг веса. Белок определяли по методу Лоури [15].

Результаты исследований и их обсуждение

Как видно из табл. 1, $K_{\text{АВА}}$ при введении в коронарные артерии сердца собаки ЭР; НКС и ЭР; АЦХОС и ЭР составлял соответственно $0,73 \pm 0,94$; $0,71 \pm 0,05$; $0,89 \pm 0,07$. Таким образом, по сравнению с результатами введения одних ЭР, при сочетанном введении ЭР и АЦХОС отмечалось повышение активности АВА ($p < 0,05$) и отсутствовала разница в выходе ЭР при введении НКС и ЭР ($p > 0,05$).

Сдвиг в величине общего сопротивления сосудов (R) в контрольных опытах (табл. 2) при введении НКС практически не отмечалось ($0,01 \pm 0,009 \frac{\text{мм рт. ст.}}{\text{мл/мин}}$). На введение АЦХОС, НКС и ЭР (особенно АЦХОЗ и ЭР) отмечалось повышение соответственно на $0,056 \pm 0,019$; $0,052 \pm 0,018$; $0,068 \pm 0,018 \left(\frac{\text{мм рт. ст.}}{\text{мл/мин}} \right)$. Статистически достоверных различий при сравнении со степенью изменения величины R , отмечавшейся при введении ЭР ($0,04 \pm 0,01 \frac{\text{мм рт. ст.}}{\text{мл/мин}}$) в сроки до 2 мин после введения выявить не удалось. Однако в некоторых случаях наблюдалась суммация изменений величины R при сочетанном введении ЭР и АЦХОС. Следует отметить, что реакция на введение АЦХОС зависела от титра сы-

Таблица 1
Изменение $K_{\text{ава}}$ и $r_{\text{сс}}$ при раздельном и сочетанном введении ЭР, НКС и АЦХОС

Исследуемые показатели	Статистические показатели	ЭР	НКС и ЭР	АЦХОС и ЭР
$K_{\text{ава}}$	$M \pm m$	$0,73 \pm 0,04$	$0,71 \pm 0,05$	$0,89 \pm 0,07$
	p_1	—	$>0,05$	$<0,05$
	p_2	—	—	$<0,05$
	n	5	5	5
$r_{\text{сс}}$	$M \pm m$	$3,2 \pm 0,68$	$3,52 \pm 1,2$	$6,7 \pm 0,86$
	p_1	—	$>0,05$	$<0,05$
	p_2	—	—	$<0,05$
	n	5	5	5

p_1 —относительно данных, полученных на введение ЭР; p_2 —относительно данных, полученных на введение НКС и ЭР.

Таблица 2
Изменение R сосудов сердца при раздельном и сочетанном введении ЭР, НКС и АЦХОС

Статистические показатели	ЭР	НКС	НКС и ЭР	АЦХОС и ЭР	АЦХОС
$M \pm m$	$0,04 \pm 0,01$	$0,01 \pm 0,009$	$0,052 \pm 0,018$	$0,068 \pm 0,018$	$0,056 \pm 0,019$
p_1	—	—	$>0,05$	$>0,05$	$>0,05$
p_2	—	—	—	$>0,05$	$>0,05$
p_3	—	—	—	—	$>0,05$
n	5	5	5	5	5

p_1 и p_2 —см. табл. 1; p_3 —соответственно данным, полученным на введение АЦХОС и ЭР.

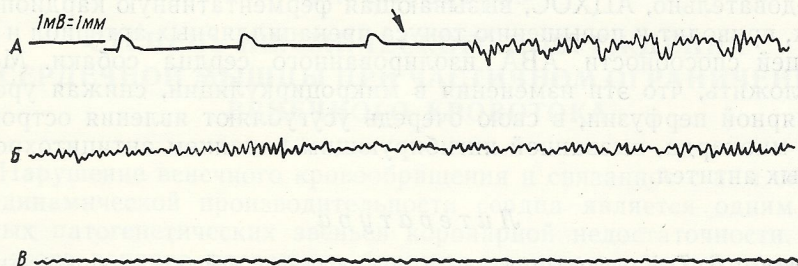
вороток, индивидуальных резервных возможностей различных сердец. Наиболее сильная сыворотка № 16 по титру и реакциям в опытах на собаках в одном случае дала эффект, значительно превышавший средний, в другом — не превышала его. В двух опытах из пяти повысившееся R проявляло тенденцию к дальнейшему росту на протяжении получасового наблюдения. В остальных случаях после повышения оно снижалось, не достигая исходного уровня.

Вычисляемое по полученным данным R и $K_{\text{ава}}$ сопротивление резистивных сосудов ($r_{\text{сс}}$, в $\frac{\text{мм рт. ст.}}{\text{мл/мин}}$) составляло при введении ЭР $3,2 \pm 0,68$; НКС и ЭР $3,52 \pm 1,2$; ЭР и АЦХОС $6,7 \pm 0,86$ (табл. 1). Таким образом, наибольшее повышение тонуса сосудов сопротивления проявлялось в ответ на введение ЭР и АЦХОС ($p < 0,05$) по сравнению с данными, полученными на введение одних ЭР.

Можно предположить, что наблюдаемые при введении АЦХОС и ЭР повышение активности АВА и повышение сопротивления в терминальном отделе сосудистого русла сердца (по сравнению с реакцией на введение одних ЭР, ЭР и НКС) взаимосвязаны и позволяли сохранить постоянство величины R , не имевшего статистически достоверного различия в этих сериях опытов.

В литературе нет данных по определению степени проходимости АВА сердца с помощью куриных ЭР. Сопоставление же с искусственно приготовленными микросферами затруднительно, так как степень шунти-

рования их зависит от удельного веса [16]. Известна тенденция к увеличению проходимости АВА при денервации изучаемой сосудистой области в условиях ее гипоксии [17]. На основании этих данных можно предположить, что уровень $K_{\text{ава}}$, отмечаемый в сердце *in vitro* более высокий, чем в нормальных физиологических условиях. Предполагается, что куриные ЭР, в силу своего большого размера, сами могут способствовать повышенной проходимости АВА [18]. При этом авторы отмечали также ответную реакцию на их введение, заключающуюся в повышении общего



Изменение электрограммы при введении АЦХОС в мышцу сердца.

А — момент введения АЦХОС (стрелка), Б — через 1 мин после введения, В — спустя 5 мин.

сосудистого сопротивления. Как подчеркивают исследователи, $K_{\text{ава}}$ может практически меняться от 0 до 1 [11]. В наших исследованиях при введении в коронары ЭР также отмечалось увеличение их R (в сравнении с реакцией на введение НКС), что можно связать с механическим воздействием на терминальный отдел коронарного русла ЭР, не прошедших по АВА.

Отмеченные нами сдвиги в функциональном состоянии АВА, прекапиллярных артериол изолированного сердца собаки можно связать со специфическим иммунологическим воздействием АЦХОС на цитохромоксидазу миокарда. Такой вывод позволяют сделать биохимические исследования участков перфузируемого сердца после внутримышечного введения в него АЦХОС. Активность цитохромоксидазы в мышце изолированного сердца к 20 мин перфузии уменьшалась на 25% по сравнению с данными до перфузии, затем наблюдалось повышение ее до исходного уровня к 40—50 мин перфузии. На фоне такой динамики активности цитохромоксидазы в пяти опытах на перфузируемом сердце с внутримышечным введением АЦХОС мы наблюдали ингибирующее влияние сыворотки на цитохромоксидазу. В ткани левого желудочка через 40—50 мин после начала перфузии сердца и введения сыворотки обнаружено угнетение активности цитохромоксидазы ($0,51 \pm 0,084 \frac{\text{индофен. ед.}}{\text{мг}}$, $p < 0,05$) на 33% по сравнению с активностью фермента в ткани левого желудочка ($0,76 \pm 0,066 \frac{\text{индофен. ед.}}{\text{мг}}$) до перфузии. В правом желудочке в эти же сроки исследования изменений активности фермента не выявлено ($0,67 \pm 0,072 \frac{\text{индофен. ед.}}{\text{мг}}$) до перфузии и введения АЦХОС в левый желудочек ($0,72 \pm 0,148 \frac{\text{индофен. ед.}}{\text{мг}}$) спустя 50 мин. Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод о том, что непосредственный контакт сыворотки с клетками ткани левого желудочка оказывает ингибирующее влияние на цитохромоксидазу, тогда как в от-

даленных от места введения участках миокарда (в правом желудочке) влияние антител не обнаружено в эти же сроки наблюдений.

О влиянии сыворотки на сердце в условиях *in vitro* свидетельствуют также опыты с записью электрограммы сердца (Е. Б. Грибок). При введении АЦХОС в миокард ритмично сокращающегося сердца (пять опытов) в нем наблюдалось появление фибрилляции (см. рисунок). При введении НКС существенных изменений на электрограммах не выявлено (четыре опыта).

Следовательно, АЦХОС, вызывающая ферментативную кардиопатию у собак, приводит к повышению тонуса прекапиллярных артериол и шунтирующей способности АВА изолированного сердца собаки. Можно предположить, что эти изменения в микроциркуляции, снижая уровень капиллярной перфузии, в свою очередь усугубляют явления острой гипоксии миокарда, вызванной ингибирующим влиянием антицитохромоксидазных антител.

Литература

1. Антоненко В. Т. Кардиоцитотоксины и моделирование нейрогенноаутоаллергического инфаркта миокарда.— В кн.: Цитотоксины в современной медицине.— Киев, 1966, № 3, с. 162—168.
2. Антоненко В. Т. Роль нейротрофического и аутоаллергического факторов в патогенезе инфаркта миокарда : Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— Киев, 1968.— 27 с.
3. Шхвацабая И. К. Терапия хронической ишемической болезни сердца в свете данных о патофизиологии коронарного кровообращения.— Кардиология, 1975, № 7, с. 5—15.
4. Рывкин А. Л. Артерио-венозные анастомозы.— БМЭ, 1957. Т. 2, с. 759—770.
5. Ильинский С. П. Артерио-венозные анастомозы в аспекте проблемы клинической патологии.— Л.— 135 с.
6. Куприянов В. В. и др. Микроциркуляторное русло.— М., 1975.— 216 с.
7. Чернух А. М. и др. Микроциркуляция.— М., 1975.— 456 с.
8. Малая Л. Т. и др. Микроциркуляция в кардиологии.— Харьков, 1977.— 231 с.
9. Ульянецкая П. О. Замыкающие артерии и артерио-венозные анастомозы при инфарктах миокарда.— Архив патологии, 1956, № 2, с. 44—52.
10. Оксман Т. М. и др. К механизму нарушений периферического кровообращения в органах при острой ишемии.— Вестн. Акад. мед. наук СССР, 1975, № 7, с. 20—27.
11. Селезнев С. А., Храброва О. П. Количественная оценка функциональной активности артерио-венозных анастомозов при травматическом шоке.— Бюл. эксперим. биол. и мед., 1967, № 9, с. 116—118.
12. Ткаченко Б. И. Методы исследования кровообращения.— Л., 1976.— 186 с.
13. Emmeneger H. Uber arterio-venose Kurschlusse in normalen und infarctieren Herren von Ratten und Kaninchen.— Helv. physiol. et pharmacol. acta, 1959, N 17, p. 13—22.
14. Straus W. Colorimetric microdetermination of cytochrome-c-oxidase.— J. Biol. Chem., 1954, 207, p. 733—743.
15. Lowry O. Protein measurement with the Folin phenol reagent.— J. Biol. Chem., 1951, 193, p. 265—275.
16. Bostroemb B., Schoedel W. Uber die Durchblutung der hinteren Experimentat des Hundes.— Pflugers Arch., 1953, 256, N 5, S. 371—380.
17. Piyp J., Shoedel W. Untersuchungen under die Duschblutung der arterio-venosen Anastomosen in des hinteren Experimentat des Hundes mit Hilfe von Hugelü verchiedenes Grobe.— Pflugers Arch., 1954, 258, S. 489—500.

Центральная научно-исследовательская лаборатория
Киевского института усовершенствования врачей

Поступила в редакцию
28.XII 1977 г.

V. T. Antonenko, L. Ju. Bachinskaja, S. F. Gorodetskaja, N. P. Zjubina

EFFECT OF ANTICARDIAL ANTICYTOCHROME OXIDASE SERUM ON MICROCIRCULATION IN DOG HEART

Summary

An increase is observed in the functional activity of the arteriovenous anastomoses as well as in the resistance of precapillary arterioles under combined administration of the erythrocytes and anticytochrome oxidase serum as compared to administration either of the erythrocytes only or normal rabbit serum with erythrocytes.