

УДК 612.17:616—089.9

Э. Ф. Баринов

## ГОРМОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ КОНСЕРВАЦИИ СЕРДЦА

Одним из перспективных методов защиты донорского сердца перед трансплантацией является биологическая консервация в условиях функционирующего сердечно-легочного препарата (СЛП). Известно, что *in vivo* миокардиоциты находятся под двойным регуляторным контролем — нервным и гуморальным. При изоляции СЛП устраняется центральное нервное влияние на сердце, что приводит к существенной перестройке гемодинамики, требующей применения кардиостимулятора [12].

Цель настоящей работы — подойти к установлению роли гормональной регуляции в метаболических сдвигах сердечного трансплантата. Целесообразность проведения подобного исследования диктовалась еще и тем, что особенности влияния гормонов на метаболизм консервируемого сердца не привлекли должного внимания исследователей, тогда как роль их в регуляции сердечно-сосудистой системы доказана [10, 14, 16].

### Методика исследований

Исследования выполнены на 17 собаках массой 9—20 кг. Эксперименты были разделены на четыре группы. В I (3 сердечных трансплантата) сразу после изоляции СЛП определяли исходные биохимические показатели в циркулирующей крови и миокарде; проанализировано содержание гормонов надпочечника (гидрокортизона, кортикостерона, кортизона, альдостерона, адреналина, норадреналина), аденозинфосфатов, гликогена и лактата. Во II (6 трансплантатов) функционирующий СЛП, используемый для консервации, выделяли по [24] и помещали в специальный контейнер, в котором поддерживали на постоянном уровне температуру, влажность и давление. В целях изучения истинных возможностей данной модели фармакологическая коррекция не выполнялась и кровь в СЛП не обновлялась (т. е. препарат был поставлен в условия «переживания»). Максимальная продолжительность консервации составляла 7—8 ч. Изучение состояния внутрисердечной гемодинамики в этой группе наблюдений позволило выделить неадекватную, адекватную консервацию и переход адекватной перфузии в неадекватную, о чем ранее сообщалось [3]. В III группе (3 трансплантата) поддерживали гормональный гомеостаз в функционирующем СЛП с помощью организма другой собаки, для чего препарат подключали на 30 мин к сосудам бедра животного. В IV группе (5 трансплантатов) гормональную коррекцию в условиях СЛП обеспечивали изолированными эндокринными органами (надпочечниками, паращитовидной, поджелудочной и щитовидной железами, изъятых вместе с СЛП), которые подключали к артериальной магистрали препарата. При этом исходили из необходимости автономного поддержания гомеостаза в плане разработки приемлемой для трансплантологов модели СЛП. В III и IV группах условия консервации были идентичными. Кровь и миокард желудочков забирали для исследования в строго определенные сроки. Ткань миокарда замораживали в жидком азоте. Аденозинфосфаты разделяли микрохроматографическим методом на колонке из эктеола-целлюлозы в С1-форме с последующим определением на спектрофотометре СФ-4а при 260 нм [15]. Расчет энергозаряда проводили по [21], концентрацию гликогена определяли антроновым методом, молочной кислоты — калориметрически [17], катехоламины — по [13], креатинфосфата — по [1]. Содержание кортикостероидов в плазме и миокарде определяли методом тонкослойной хроматографии по [9]. Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики.

### Результаты исследований

Как видно из табл. 1 во II группе изменения концентрации кортикостероидов плазмы при длительной биологической консервации протекали неблагоприятно. Уже через 3—5 ч адекватной аутоперфузии достоверно снижалась концентрация гидрокортизона (на 41,1 %), кор-

Таблица 1  
Уровень стероидных гормонов в плазме и миокарде желудочков при биологической консервации сердца

Группа экспериментов	П л а з м а (мкг/100мл)			
	гидрокортизон	кортикостерон	гидрокортизон+кортикостерон	кортизон
I	6,906±0,900	4,667±0,830	11,436±1,362	8,150±1,234
II 3—5 ч	4,068±0,734	4,048±0,273	8,116±0,608	3,905±0,396
$p_I$	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05
7—8 ч	2,772±0,559	2,045±0,593	4,767±0,759	4,585±0,781
$p_I$	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
$p_{3-5}$	>0,05	<0,05	<0,02	>0,05
III	13,330±1,047	6,835±1,795	20,160±1,248	—
$p_{7-8}$	<0,001	<0,05	<0,001	—
IV	5,320±0,878	4,887±0,825	10,207±1,573	—
$p_{7-8}$	<0,05	<0,05	<0,01	—

  

Группа экспериментов	М и о к а р д (мкг/г)			
	гидрокортизон	альдостерон	кортикостерон	гидрокортизон+альдостерон+кортикостерон
I	0,633±0,198	0,155±0,025	0,603±0,199	1,530±0,580
II 3—5 ч	—	—	—	—
$p_I$	—	—	—	—
7—8 ч	0,037±0,011	0,025±0,004	0,025±0,006	0,087±0,018
$p_I$	<0,05	<0,01	<0,05	<0,05
$p_{3-5}$	—	—	—	—
III	0,400±0,030	0,145±0,045	0,455±0,005	0,995±0,015
$p_{7-8}$	<0,001	<0,05	<0,001	<0,001
IV	0,088±0,022	0,094±0,025	0,118±0,028	0,300±0,075
$p_{7-8}$	<0,01	<0,05	<0,02	<0,05

Примечание.  $p_I$ —достоверность различий по отношению к I группе;  $p_{3-5}$ —по отношению к сроку наблюдения 3—5 ч;  $p_{7-8}$ —7—8 ч.

тизона (на 52,1 %) и суммы кортикостероидов (на 29 %). Через 7—8 ч происходило некоторое увеличение концентрации кортизона, хотя его величина была по-прежнему значительно ниже исходной (на 43,7 %), содержание остальных гормонов надпочечника снижалось еще больше. Аналогично изменялась концентрация стероидных гормонов в миокарде — к концу эксперимента отмечалось значительное их снижение (в 6—30 раз по сравнению с исходными величинами). Следовательно, в процессе функционирования «переживающего» СЛП возникало истощение резерва глюко- и минералокортикоидов как в циркулирующей крови, так и в миокарде желудочков. Учитывая роль глюкокортикоидов в регуляции энергетического обмена, можно предположить, что в процессе консервации возникают серьезные нарушения макроэргической системы, которые и определяют снижение жизнеспособности сердечного трансплантата.

Через 4—5 ч адекватной перфузии в миокарде левого желудочка происходило уменьшение содержания КФ до 75,9 % ( $10,4 \pm 1,34$  мг %), АТФ — до 75,8, АДФ — до 72,1 и АМФ — до 87 % от исходной величины (табл. 2). Сопоставление результатов исследования гликогена и лактата свидетельствовало об интенсификации гликолиза (содержание гликогена — на 85,3, лактата — 364 % по сравнению с исходными

## Содержание аденил при биологической к

Условия эксперимента	АТФ
Исходные величины	5,676±0,228
4—5ч перфузии	4,304±0,145
$p_{II}$	<0,001
6—8ч перфузии	2,742±0,191
$p_{II}$	<0,001
30 мин ЭКП	5,741±0,206
$p_{II}$	±0,206
$p_{4-5}$	>0,1
$p_{4-5}$	<0,001

Примечание.  $p_{II}$ — $p_{4-5}$ —по отношению

величинами). Ч суммы аденозинцентрация КФ, что подтверждает фосфатов с пресфатом (неорганические изменения обуславливают АДФ — АМФ. В уменьшение содержания соответственно (мкмоль/г).

В III группе кортистерона в циркуляции уровень соответствующее содержание стероидных гормонов в миокарде изменений в фондокарда концентрации АДФ — на 30,9, перед коррекцией, а АМФ снижалась в пределах нормы. Живания аденозинцентрация гликогена в миокарде содержание гликогена лактата — 65,3 %

В тех случаях, когда происходит при неадекватной консервации энергетического обмена желудочка, содержание гликогена составляет всего 10,4 %, т. е. уменьшается в 6,5 раз. В то же время лактата увеличивается в 3,64 раза (на 55—60 %), т. е. в процессе обработки и изучения систем

Таблица 2  
Содержание адениловых нуклеотидов в левом желудочке сердечного трансплантата при биологической консервации сердца и экстракорпоральной перфузии (ЭКП), мкмоль/г ткани

Условия эксперимента	АТФ	АДФ	АМФ	Сумма нуклеотидов	АТФ/АДФ	Энергопотенциал
Исходные величины	5,676±0,228	1,253±0,073	0,740±0,055	7,669±0,156	4,530±0,125	0,822±0,018
4—5ч перфузии	4,304±0,145	0,903±0,066	0,644±0,061	5,851±0,148	4,763±0,119	0,812±0,014
$p_H$	<0,001	<0,01	>0,1	<0,001	>0,1	>0,1
6—8ч перфузии	2,742±0,191	0,862±0,069	0,899±0,056	4,503±0,150	3,121±0,121	0,705±0,028
$p_H$	<0,001	<0,01	>0,05	<0,001	<0,001	<0,01
30 мин ЭКП	5,741±0,206	1,182±0,072	0,858±0,053	7,781±0,154	4,857±0,123	0,814±0,011
$p_H$	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1
$p_{4-5}$	<0,001	>0,02	<0,05	<0,001	>0,1	>0,1

Примечание.  $p_H$ —достоверность различий по отношению к исходным величинам;  $p_{4-5}$ —по отношению к сроку перфузии 4—5 ч.

величинами). Через 6—8 ч регистрировали дальнейшее снижение суммы аденозинфосфатов (до 58,7%), значительно уменьшалась концентрация КФ, АТФ и АДФ — соответственно на 58; 42,3 и 68,8%, что подтверждало наличие глубоких нарушений в системе аденозинфосфатов с преобладанием процессов дефосфорилирования над ресинтезом (неорганический фосфор увеличивался на 11,7%). Возникающие изменения обуславливали снижение энергосаряда системы АТФ — АДФ — АМФ. В этот период наблюдения происходило дальнейшее уменьшение содержания гликогена и лактата, которое составляло соответственно 60 (17,803±1,975 мкмоль/г) и 110% (4,295±0,666 мкмоль/г).

В III группе через 7—8 ч концентрация гидрокортизона и кортикостерона в циркулирующей крови увеличивалась, превышая исходный уровень соответственно на 93 и 46,4%. Параллельно возрастало и содержание стероидов в миокарде. При этом наблюдалась обратимость изменений в фонде адениловых нуклеотидов. В миокарде левого желудочка концентрация КФ и АТФ увеличивалась на 35,5 и 33,4%, АДФ — на 30,9, АМФ — на 33,2% по сравнению с их содержанием перед коррекцией. Содержание АТФ возвращалось к исходным величинам, а АМФ даже превышало их. Сумма аденозинфосфатов сохранялась в пределах физиологических величин. Восстановление содержания аденозинфосфатов протекало параллельно с процессом накопления гликогена. Через 30 мин экстракорпоральной перфузии СЛП содержание гликогена составляло 115,3 (34,450±2,450 мкмоль/г), а лактата — 65,3% (2,555±0,325 мкмоль/г) от исходного.

В тех случаях, когда гормональную коррекцию начинали проводить при неадекватной перфузии (2—3 ч) или при переходе адекватной консервации в неадекватную (6—8 ч), также изменялся характер обмена желудочков: увеличивалось содержание гликогена (однако это составляет всего 75—80% исходной величины), и концентрация лактата уменьшалась в 2 раза по сравнению с его величиной перед коррекцией, тем не менее оставалась значительно выше исходной величины (на 55—60%), т. е. гликогенолиз происходил, однако его удельный вес в процессе образования макроэргов значительно уменьшался. При изучении системы АТФ — АДФ — АМФ в миокарде обращает на себя



связано с трудностями поддержания эффективной концентрации, особенно учитывая негативную роль легких в регуляции содержания стероидов при их поступлении в кровь [19] и быструю инактивацию гормонов. Так, например, внутривенное введение крысам экзогенного препарата АКТГ в дозе 1 ед/кг сопровождалось почти полным его исчезновением из крови через 30—45 мин. При использовании больших доз АКТГ через 2 ч в крови оставалось 2% гормонов [2]. Таким образом, развитие гормональной недостаточности при биологической консервации сердца, следствием чего является нарушение процесса ресинтеза АТФ, истощение КФ и гликогенового депо, требует разработки методов ее коррекции. Одним из таких вариантов является поддержание уровня гормонов в циркулирующей крови с помощью донорского организма. Подтверждением целесообразности эффективной гормональной коррекции явились результаты III группы экспериментов, в которой увеличивалось содержание в миокарде не только гидрокортизона, кортикостерона, альдостерона, но и гликогена, креатинфосфата и макроэргов. Молекулярные механизмы действия кортикостероидов в конечном счете сводятся к влиянию на активность ферментов, регулирующих энергетические процессы (гликолиз, цикл трикарбоновых кислот, дыхательных ферментов, коферментов) [18]. Этим можно объяснить увеличение ресинтеза АТФ, КФ и гликогена в присутствии глюкокортикоидов, благодаря чему сохраняется нормальная функция сердечной мышцы. Не менее важным является и выявленное повышение эффективности использования КФ и гликогена в присутствии стероидов, что, по-видимому, связано с более экономным использованием энергии АТФ при актомиозиновом взаимодействии [8]. Интересно, что восстановление гормонального контроля над метаболическими процессами в миокарде было наиболее эффективно, если мероприятия, направленные на это, проводились не позднее 5 ч от начала адекватной консервации.

Оправданным оказался и метод поддержания гормонального гомеостаза в IV группе с помощью изолированных эндокринных органов, подключенных к функционирующему СЛП. В этой группе наблюдений содержание стероидов и катехоламинов в плазме и миокарде желудочков было достоверно выше по сравнению со II группой, благодаря чему удавалось вдвое пролонгировать длительность выживания трансплантата. Мы склонны расценивать повышение содержания стероидов как следствие сохранения синтеза и секреции гормонов изолированными надпочечниками при подключении их в перфузионный контур СЛП. Это находит подтверждение в ряде экспериментальных работ. Так, было отмечено [5, 7, 11], что свободная подсадка эндокринных органов *in vivo* обеспечивала длительное сохранение их метаболической активности. Поддержание запасов катехоламинов в миокарде может быть обусловлено воздействием кортикостероидов, а также адсорбцией норадреналина из циркулирующей крови, тем более что в течение всей консервации содержание этого гормона поддерживалось в крови на исходном уровне ( $0,420 \pm 0,031$  мкг/л). Вопрос о влиянии кортикостероидов на обмен катехоламинов в целостном организме не новый. Отмечалось, что их экзогенное введение повышает содержание норадреналина в миокарде крыс, не изменяя концентрацию адреналина [6, 23]. В основе этого механизма лежит факт [4] об увеличении связывания белками сердечной мышцы норадреналина под действием кортикостероидов. Не исключается и возможность накопления медиатора в рецепторах [20]. В свете полученных данных представляется особенно важным поддержание уровня кортикостероидов в циркулирующей крови СЛП, поскольку это может обеспечить сохранение запасов катехоламинов в миокарде функционирующего изолированного сердца и включение его адаптационно-компенсаторных механизмов при изменении режимов работы СЛП.

Итак, при биологической консервации сердца возникает резкое снижение концентрации кортикостероидов и катехоламинов в плазме и миокарде, что, вероятно, является одним из существенных факторов нарушения процесса ресинтеза АТФ и механизма мобилизации функции изолированного сердца. Восстановление гуморального контроля в условиях СЛП с помощью изолированных эндокринных органов обеспечивает быструю нормализацию метаболических процессов миокарда.

E. F. Barinov

HORMONAL-METABOLIC DISTURBANCES UNDER BIOLOGICAL PRESERVATION OF THE HEART

Summary

Experiments with dogs' hearts show that a 5-8 h biological preservation of the cardiac-pulmonary preparation induces hormonal insufficiency which, in its turn, causes disturbances in ATP reosynthesis and in the mechanism of the heart function mobilization. Isolated endocrine organs help restoring hormonal control of metabolic processes in the myocardium, which provides an increase of the efficient preservation duration.

Department of Operative Surgery,  
Medical Institute, Donetsk

Список литературы

1. Алексеева А. М. К методу количественного определения креатинфосфата по креатинину.— Биохимия, 1956, 21, № 2, с. 243—246.
2. Баграмян Э. Р. Обмен экзогенного АКТГ в организме нормальных и облученных крыс.— Вопр. мед. химии, 1964, 10, № 3, с. 265—269.
3. Баранов Э. Ф. Значение определения нарушений гемодинамики для оценки функционального состояния сердечного трансплантата в предтрансплантационном периоде.— Груд. хирургия, 1978, № 4, с. 38—43.
4. Барц М. П. Роль в медиаторной функции норадреналина его взаимодействия с белковыми структурами и значение кортикостероидов в этом процессе: Автореф. дис. ... д-ра. биол. наук.— Харьков, 1970.— 36 с.
5. Брукс Д. Р. Пересадка эндокринных органов.— В кн.: Пересадка органов. М.: Медицина, 1966, с. 189—287.
6. Верещакова Э. П. Влияние кортизона и АКТГ на содержание и обмен катехоламинов в сердце и надпочечниках крыс.— Пробл. эндокринологии и гормонотерапии, 1964, № 3, с. 62—65.
7. Кирпатовский И. Д., Смирнова Э. Д. Основы оперативной техники пересадки органов.— М.: Медицина, 1972.— 260 с.
8. Коркач В. И. Роль АКТГ и глюкокортикоидов в регуляции энергетического обмена.— Киев: Здоров'я, 1979.— 149 с.
9. Колпаков М. Г. Кортикостероидная регуляция водно-солевого гомеостаза.— Новосибирск: Наука, 1967.— 259 с.
10. Крыжановская И. И., Аршава В. П., Попова Е. В. и др. Недостаточность кровообращения в свете нейроэндокринных нарушений.— Кардиология, 1977, № 9, с. 78—84.
11. Лопухин Ю. М., Островерхов Г. Е., Грязнова И. М. и др. Пересадка панкреатической и овариальной ткани в биологических полупроницаемых мембранах.— В кн.: Актуальные проблемы пересадки органов. М.: Медицина, 1974, с. 259—285.
12. Лубяко А. А., Зимин Н. К. Эффект ранней гиподинамии при заборе сердечно-легочного препарата и методы его устранения.— Кровообращение, 1978, № 5, с. 50—51.
13. Матлина Э. Ш., Рахманова Т. Б. Метод определения адреналина, норадреналина, дофамина и ДОФА в тканях.— В кн.: Методы исследования некоторых систем гуморальной регуляции (труды по новой аппаратуре и методикам I-го МОЛГМИ). М., 1967, вып. 5, с. 136.
14. Меньшиков В. В. Эндокринологические аспекты кардиологии: успехи и проблемы.— Кардиология, 1979, № 3, с. 5—10.
15. Пантелеева Н. С., Короткин Ю. С. Микрохроматографический метод разделения адениловых и гуаниловых нуклеотидов на колонках из эктеола-целлюлозы.— Докл. АН СССР, 1966, 167, № 6, с. 1389—1393.
16. Пивоваров В. Н., Россельс А. Н., Касаткина Л. В., Крамер А. А. Гормоны при ишемической болезни сердца с наличием коронарного атеросклероза.— Кардиология, 1978, № 12, с. 30—36.
17. Прохорова М. И., Тушикова З. Н. Большой практикум по углеводному и липидному обмену.— Л., 1965.— 220 с.

18. Сергеев П. В., стероидных го
19. Соловьев Г. М. 11-ОКС и сос
20. Шалыгина В. сердца животи
21. Atkinson D. E. Biochemistry, 1
22. Brown H., Wil liver disease.—
23. Raab W., Gige and norepineph
24. Robicsek F., S functioning ou

Кафедра оперативной  
Донецкого медицин

18. Сергеев П. В., Сейфулла Р. Д., Майский А. И. Молекулярные аспекты действия стероидных гормонов.— М.: Наука, 1971.— 220 с.
19. Соловьев Г. М., Гебель Г. Я., Длусская И. Г. Роль легких в регуляции обмена 11-ОКС и сосудистые реакции в легких при введении гидрокортизона.— Кардиология, 1973, № 10, с. 31—40.
20. Шалыпина В. Г. Влияние кортикостероидов на содержание катехоламинов в мышце сердца животных.— Патол. физиология и эксперим. терапия, 1965, № 6, с. 14—17.
21. Atkinson D. E. The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter.— Biochemistry, 1968, N 7, p. 4030—4034.
22. Brown H., Willardsow D., Samuels L., Tyler F. 17-hydroxycorticosteroid metabolism in liver disease.— J. Clin. Invest., 1954, 33, p. 1524—1527.
23. Raab W., Gigeer A. Specific acidity of heart muscle to absorb and store epinephrine and norepinephrine.— Circul. Res., 1953, N 3, p. 553—557.
24. Robicsek F., Sanger F., Taylor F. Simple method of keeping the heart «alive» and functioning outside of the body for prolonged periods.— Surgery, 1963, 53, N 4, p. 525—529.

Кафедра оперативной хирургии  
Донецкого медицинского института

Поступила в редакцию  
14.05.81