

Особенности нарушений биоэнергетических процессов миокарда при нейрогенных поражениях сердца и их коррекция

С. О. Тапбергенов

Многочисленными исследованиями показана патогенетическая роль изменений активности симпатико-адреналовой системы, нарушений метаболизма ее гормонов-медиаторов в развитии постстрессовых нейрогенных миокардиодистрофий и ишемической болезни сердца, сопровождающихся развитием динамически энергетической недостаточности сердца [3, 4, 6, 8, 12]. Установлено, что неспецифические стрессовые нагрузки выводят энергетический метаболизм на границу физиологического [7], переводя его в низкоэнергетизированное состояние. При этом нарушается скорость окисления субстратов в дыхательной цепи митохондрий, особенно сукцината, снижается уровень АТФ, затем наступают структурные изменения. Так, при нейрогенных поражениях миокарда, вызванных 3-часовой электростимуляцией дуги аорты, на фоне истощения запасов катехоламинов наблюдается снижение уровня креатинфосфата, разобщение окислительного фосфорилирования [2], накопление лактата и активация пентозного цикла [8]. Эти изменения сходны с теми, которые вызваны гипоксией или введением животным токсических (некротических) доз норадреналина [8], а также с теми, которые развиваются при денервировании ткани [14]. Все это свидетельствует о том, что при стрессовых, адренергических по своей природе повреждениях прежде всего нарушаются нейрогуморальные механизмы регуляции энергетического обмена, что позволяет укрепить биохимические посылки [10] восстановления патологических нарушений посредством нормализации биоэнергетических процессов.

В связи с этим, учитывая особенности катехоламинового контроля энергетического обмена [17, 18], индукторные свойства физиологических доз тиреоидных гормонов по отношению к ферментам митохондрий [16, 18], адаптационно-трофическую теорию Л. А. Орбели о функции симпатического отдела нервной системы, в настоящем исследовании была поставлена задача изучить особенности биоэнергетических сдвигов и адренотиреоидной регуляции энергетического обмена при нейрогенных поражениях миокарда.

Методика

Опыты выполнены на белых крысах-самцах. Нейрогенные повреждения миокарда вызвали моделью нейрогенного стресса З. И. Веденеевой [5] нанесением раздражения на рефлексогенную зону дуги аорты импульсным током в течение 3 ч. Такая электростимуляция дуги аорты (ЭСДА) вызывает диффузные поражения миокарда, сопровождающиеся дисбалансом, в частности истощением, содержания катехоламинов в тканях [9]. На ЭКГ при этом отмечается изменение вольтажа зубцов P , R , S , T , укорочение интервала $R-R$ (с $0,155 \pm 0,005$ до $0,138 \pm 0,003$; $P < 0,05$), уменьшение интервалов $P-Q$ и комплекса $Q-R-S$, увеличение интервала $Q-T$ (с $0,065 \pm 0,003$ до $0,074 \pm 0,003$; $P < 0,05$). Отмечалось снижение вольтажа зубца T и смещение интервала $S-T$ к изоэлектрической линии. Все это указывало на гипоксические и дистрофические изменения в миокарде, вызванные ЭСДА.

Связывание трийодтиронина, меченного ^{128}I , ядерной и митохондриальной фракциями тканей, изучали через 60 мин после его внутрибрюшинного введения (130 нг/100 г) [15]. Интенсивность связывания меченого трийодтиронина (ПНР), удельная радиоактивность которого составляла 78 мКи/мг, выражали импульсами в минуту на миллиграмм белка. При изучении захвата ^3H -норадреналина срезы ткани сердца инкубировали при 37°C в течение 30 мин в среде Тирод с добавками трилона Б [1, 11]. Затем среду инкубации заменяли свежей, в которую добавляли ^3H -норадреналин (0,05 мКи/мл; Англия). Удельная радиоактивность 1 мл раствора норад-

реналина составляла 8,8 Ки/ммоль. В свежей среде срезы ткани сердца также инкубировали в течение 30 мин при 37 °С в условиях постоянной аэрации. Затем срезы 5 раз промывали в среде Тироде, добавляли 1 мл этанола и оставляли на 16—18 ч. Удельную радиоактивность срезов определяли, помещая срезы в 10 мл диоксановой сцинтилляционной жидкости. Интенсивность захвата выражали в импульсах в минуту на миллиграмм ткани.

Аденилатциклазную активность (КФ 4.6.1.1) определяли по концентрации образовавшегося из АТФ циклического АМФ (цАМФ) в среде инкубации, содержащей в 1 л 2 мкмоль АТФ; 50 мкмоль трис-НСl (рН 7,5); 4 мкмоль MgCl₂; 5 мкмоль теофиллина, 15 мкмоль креатинфосфата; 0,1 мг/мл креатинфосфокиназы, 100—200 мкг белка мембранной фракции клеток. Концентрацию цАМФ определяли методом конкурентного белкового связывания набором фирмы «Amersham» (Англия). Конечный объем среды инкубации составил 100 мкл. Об аденилатциклазной активности судили по образованию цАМФ за 15 мин инкубации и выражали в пикомоль на грамм белка.

Активность сукцинатдегидрогеназы (КФ 1.3.99.1) определяли в среде: фосфатный буфер (0,05 моль/л; рН 7,4); сукцинат (50 мкмоль/л), MgCl₂ (10 мкмоль/л), KCl (2,5 мкмоль/л), 0,5 мл 1 %-ного раствора 2,3,5-трифенилтетразолийхлорида, 0,2 мл взвеси митохондрий, которые получали общепринятым методом дифференциального центрифугирования. Конечный объем, как и в последующих методах, составлял 2,0 мл. Активность фермента за 30 мин при 37 °С пересчитывали на 1 мг белка.

Активность цитохром с-оксидазы (КФ 1.9.3.1) определяли с помощью Варбурга в среде, содержащей 1,4 мл 0,05 моль/л боратного буфера, разведенного двукратным объемом воды; 0,4 мл 0,04 %-ного раствора цитохрома с; 0,2 мл 0,2 %-ного раствора диметилпарафенилендиамина. Активность выражали в микромоляр кислорода на миллиграмм белка.

Активность митохондриальной АТФ-азы (КФ 3.6.1.3) определяли по нарастанию неорганического фосфата в 1 мл инкубационной среды, содержащей в 1 л 30 мкмоль трис-НСl буфера (рН 7,5), 2 мкмоль MgCl₂, 50 мкмоль α-динитрофенол, 0,1 мл 0,2 %-ного раствора АТФ и 0,1 мл взвеси митохондрий. Активность фермента выражали в микромоляр фосфата на миллиграмм белка.

Активность АМФ-аминогидролазы (КФ 3.5.4.6) определяли в инкубационной среде, содержащей в 2 мл 240 мкмоль 0,05 моль/л фосфатного буфера (рН 7,4), 5 мкмоль MgCl₂, 3 мкмоль KCl, 200 мкмоль АМФ. Об активности фермента судили по количеству аммиака, образовавшегося при дезаминировании АМФ за 30 мин инкубации при 37 °С, пересчитанного на 1 мг белка. Количество аммиака определяли фенолнитропруссидгипохлоридной реакцией Бертра [13]. Количество белка во всех исследованиях определяли методом Лоури.

Результаты

Нейрогенные поражения миокарда, вызванные 3-часовой электростимуляцией дуги аорты, приводят к резкому снижению захвата ³Н-норадреналина срезами предсердий [табл. 1]. Это снижение связано с нарушением механизмов захвата медиатора адренергическим нейроном, что подтверждается более сильным снижением захвата ³Н-норадреналина после обработки срезов β-адреноблокатором обзиданом, поскольку по-

Таблица 1. Захват ³Н-норадреналина срезами (1 мг) предсердий и миокарда (M±m, n=12) при нейрогенном поражении миокарда (ЭСДА) и при введении норадреналина (0,5 мг/100 г), имп·мин⁻¹·мг⁻¹

Вариант опыта	Срез, ткани	
	предсердия	миокарда
Контроль	69,61±2,65	26,90±1,12
ЭСДА	57,20±3,08	25,38±0,51
ЭСДА и введение обзидана (2·10 ⁻⁶ моль/л)	11,56±0,69	10,24±0,43
	P<0,01	P<0,01
Введение норадреналина	32,53±3,56	15,39±0,73
	P<0,01	P<0,05
Введение норадреналина и обзидана (2×10 ⁻⁶ моль/л)	11,93±1,08	9,78±0,45
	P<0,01	P<0,05

казано, что при неповрежденном механизме нейтрального захвата β -адреноблокада усиливает захват медиатора [11]. Введение животным норадреналина (0,5 мг на 100 г) также вызывает снижение захвата ^3H -норадреналина (см. табл. 1) и обзидан также не ослабляет эффект токсических доз катехоламинов.

Эти результаты свидетельствуют о том, что нейрогенные поражения миокарда и поражения при введении токсических доз катехоламинов патогенетически идентичны, а в их основе лежит нарушение нейронального захвата и, следовательно, нарушение симпатической импульсации.

Таблица 2. Влияние нейрогенного стресса на связывание меченого ^{125}I трийодтиронина митохондриями и ядрами сердца ($M \pm m$, $n=6$), $\times 10^3$ имп·мин $^{-1}$ ·мг $^{-1}$

Вариант опыта	Митохондрии	Ядра
Контроль	$74,49 \pm 3,02$	$8,19 \pm 0,67$
ЭСДА	$118,44 \pm 4,92$ $P < 0,01$	$9,60 \pm 0,29$ $P < 0,05$

Нейрогенные повреждения сердца, вызванные 3-часовой электростимуляцией дуги аорты, приводят к изменению связывания меченого ^{125}I -трийодтиронина митохондриями и ядрами сердечных клеток (табл. 2), вызывая, особенно в митохондриях, резкую активацию связывания тиреоидного гормона. По-видимому, такое распределение гормона щитовидной железы при нейрогенном стрессе носит адаптационный характер, направленный на усиление биоэнергетических ме-

ханизмов и стимуляцию синтетических процессов в миокарде в ответ на интенсивную, затем истощающуюся симпатическую импульсацию. Такое распределение трийодтиронина, его усиленное поступление в сердце кроме того может привести к стимуляции захвата норадреналина. Как показали исследования, введение физиологических доз тироксина животным (0,52 мкг/г), которым проводили ЭСДА, усиливает захват норадреналина адренергическими нейронами предсердий и миокарда ($P < 0,01$), что вызывает восстановление симпатической импульсации, нарушенной нейрогенным стрессом.

О нарушении симпатической импульсации при нейрогенном стрессе свидетельствуют результаты, полученные при изучении уровня цАМФ и активности аденилатциклазы в миокарде. Так, после ЭСДА в сердце (в пересчете на белок ткани) снижается уровень цАМФ с $293,0$ пмоль/г $\pm 49,8$ пмоль/г до $3,17 \pm 1,54$; ($P < 0,01$). Одновременно снижается и активность аденилатциклазы с $1200,9$ пмоль/л $\pm 56,1$ пмоль/г до $1037,0 \pm 24,0$ ($P < 0,05$). Катехоламины и продукты их хиноидного окисления восстанавливают уровень цАМФ. Введение тироксина без и в сочетании с норадреналином или адреноксилом (стабилизированный продукт хиноидного окисления адреналина) достоверно нормализует и даже повышает активность аденилатциклазы по сравнению с контролем ($P < 0,01$):

Контроль	—	$1037,0 \pm 24,0$
Тироксин	—	$1853,8 \pm 41,6$
Тироксин и норадреналин	—	$2714,8 \pm 105,3$
Тироксин и адреносил	—	$17303,1 \pm 61,8$

Как показали исследования, этот эффект физиологических доз тироксина на аденилатциклазу не предотвращается β -адреноблокадой [19].

Эти результаты показывают значимость адренотиреоидных взаимоотношений в регуляции симпатической импульсации и обеспечения метаболизма в поврежденной стрессом клетке.

В последующих экспериментах обнаружено, что после ЭСДА в митохондриях сердца почти вдвое возрастает активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ), повышается активность терминального фермента дыхательной цепи цитохром c -оксидазы (ЦСО) и фермента, контролирующего синтез и распад АТФ,— митохондриальной АТФазы (табл. 3). Все эти изменения активности ферментов митохондрий, наряду со снижением захвата норадреналина и усилением связывания трийодтиронина митохондриями и ядрами, направлены на стимуляцию биоэнер-

гетики в сердце. Однако возникает ряд моментов, препятствующих этой адаптивной активации биоэнергетических процессов. Во-первых, истощение адренергической импульсации и снижение трансденилатного механизма субстратного обеспечения клеток миокарда. Во-вторых, резкое возрастание активности моноаминоксидазы при нейрогенном поражении миокарда (табл. 3), приводящее не только к истощению запасов катехоламинов, но и к накоплению метаболитов катехоламинов, которые могут вызвать ингибирование ЦСО [17]. В-третьих, интенсивное дезаминирование АМФ активацией АМФ-аминогидролазы (см. табл. 3) приводит не только к снижению уровня АМФ, но и к снижению уровня аденозина — внутритканевого вазодилатора. Все это вызывает в миокарде его энергетическую и кислородную задолженность, что обуславливает переключение метаболизма на обходные пути расщеплений глюкозы, в частности на гликолитический и пентозофосфатный.

Таблица 3. Активность ферментов митохондрий сердца при нейрогенном стрессе и введении животным тироксина в сочетании с адренохромом и инозином ($M \pm m$, $n=12$)

Фермент	Контроль	ЭСДА*	ЭСДА, тироксин, адренохром, инозин**
Сукцинатдегидрогеназа	29,04 $\pm$ 1,84	54,61 $\pm$ 5,90	28,71 $\pm$ 2,24
Цитохром с-оксидаза, мкмоль O_2 /мг белка	17,78 $\pm$ 2,20	31,72 $\pm$ 1,85	27,24 $\pm$ 1,87
АТФаза, мкмоль Р/мг белка	46,29 $\pm$ 4,07	59,70 $\pm$ 4,51	28,57 $\pm$ 1,62
АМФ-аминогидролаза, мкмоль NH_3 /мг белка	73,20 $\pm$ 5,52	148,73 $\pm$ 15,25	72,99 $\pm$ 5,10
Моноаминоксидазы, мкмоль/мг белка			
при введении бензиламина	43,02 $\pm$ 7,91	62,18 $\pm$ 5,91	60,88 $\pm$ 6,46
при введении тирамина	109,28 $\pm$ 13,33	222,46 $\pm$ 11,12	175,16 $\pm$ 19,31

* $P < 0,01$ по сравнению с результатом контроля. ** $P < 0,01$ по сравнению с результатом ЭСДА.

Считается, что активная стимуляция окисления энергетически выгодной для сердца янтарной кислоты (сукцината) может стать одним из возможных способов терапии повреждений миокарда. Но, как показывают исследования, одного этого недостаточно. Необходимо сбалансировать активность других дыхательных ферментов и системы сопряжения дыхания и фосфорилирования с активностью сукцинатдегидрогеназы. При этом необходимо снизить активность моноаминоксидазы, АМФ-аминогидролазы, восстановить уровень цАМФ и активность аденилатциклазы, нормализовать адренергическую импульсацию. Все это можно достигнуть стимуляцией адаптационной функции адренотиреоидной системы, улучшением адренотиреоидных взаимоотношений в регуляции энергетического обмена и функции митохондрий. С этой целью использовали комплекс: тироксин (0,52 мкг/г), адренохром (0,2 мг/100 г), инозин — (5 мг/100 г). Тироксин вводили животным за 120 мин, адренохром и инозин — за 60 мин до исследования. Этот комплекс препаратов (см. табл. 3) нормализует активность СДГ и АМФ-аминогидролазы, снижает активность АТФазы и моноаминоксидазы, выравнивает активность ЦСО. Одновременно, как показано в предыдущих исследованиях, тироксин улучшает захват норадреналина [21], как индуктор — повышает уровень СДГ и ЦСО в митохондриях сердца [16, 20], улучшает сопряжение дыхания и фосфорилирования [18]. В сочетании с адренохромом тироксин повышает уровень цАМФ и умеренно стимулирует активность аденилатциклазы (см. вывод на с. 36). Под воздействием адренохрома и инозина снижается активность фермента, разрушающего АТФ [17, 18]. Все это позволяет ткани сердца в соответствии с количеством доставляемого кислорода продуцировать достаточное количество макроэргов, сохранять их резервы, не переключаясь на анаэробные энергоспроизводящие механизмы.

Введение комплекса тироксин — адренохром — инозин восстанавливает измененную нейрогенным стрессом активность ферментов и в других органах. Так в митохондриях печени нормализуется активность ЦСО, снижается активность СДГ, в мозгу нормализуется активность ЦСО и АМФ-деаминазы, снижается активность СДГ. В митохондриях почек снижается активность АТФазы и СДГ. Снижение активности СДГ в печени, мозгу и почках носит в какой-то мере адаптационный характер, направленный на сохранение уровня свободной янтарной кислоты, очень необходимой в данный момент времени сердцу.

Приведенные результаты наблюдений указывают на благоприятное действие введения комплекса гормонов и метаболитов в острый период развития повреждений, вызванных нейрогенным стрессом и подтверждают представления о существенном значении в адаптационных механизмах функции адренотиреоидной системы.

Таким образом, при нейрогенном стрессе происходят значительные сдвиги адренотиреоидных взаимоотношений, приводящие к нарушениям биоэнергетических процессов. Одним из определяющих моментов в патогенезе нейрогенных поражений миокарда является изменение взаимоотношений гормонов-медиаторов адренотиреоидной системы на уровнях распределения и локализации гормонов в клетке, механизма адренергической импульсации и аденилатциклазного механизма и определяющих уровень макроэргов и направленность реакций энергетического обмена ферментов катаболизма гормонов и митохондриальных ферментов. Только с учетом адренотиреоидной системы регуляции биоэнергетических процессов можно согласиться с мнением Кондрашовой и соавт. [10] о возможности вписать митохондрии в классическую систему Г. Селье.

PECULIARITIES OF DISTURBANCES IN BIOENERGETIC PROCESSES DURING NEUROGENETIC MYOCARDIUM LESIONS AND THEIR CORRECTION

S. O. Tapbergenov

Experiments conducted on animals (male rats) have revealed that neurogenetic myocardium lesions are followed by disturbance of the adrenergic impulsation induced by damage of the ^3H -norepinephrine capture mechanism, decrease of the cAMP level and adenylate cyclase activity. Parallel with this binding of labelled ^{125}I -triiodotyronine by mitochondria and cardiac cells' nuclei gets more intensive. The neurogenetic lesion makes myocardium involved into the state of energy and oxygen debt with intensification of the ATP and AMP metabolism and growth of the succinate dehydrogenase and cytochrome *c*-oxidase activity. The activity of the monoamine oxidase way of catecholamine transformation increases. Succinate usage in the liver, brain and kidney mitochondria decreases, that can be regarded as an adaptation mechanism aimed to provide the damaged myocardium with succinate. Administration of physiological thyroxine doses without or in combination with products of quinoid catecholamine oxidation (adrenochrome or adrenoxyl) and inosine increases the cAMP level, rehabilitates the adenylate cyclase activity, intensifies the ^3H -norepinephrine capture by the adrenergic neuron, corrects activity of mitochondrial enzymes, restores functions of mitochondria. The results are obtained which confirm ideas on the significance of the adreno-thyroid system in adaptation mechanisms.

Medical Institute, Ministry of Public Health of the Kazakh SSR, Semipalatinsk

1. Авакян О. М. Симпатико-адреналовая система: Методы исследования высвобождения, рецепции и захвата катехоламинов. — Л.: Наука, 1977. — 183 с.
2. Аничков С. В., Новикова Н. А., Исаченко В. Б. и др. Нарушение метаболизма при развитии нейрогенных поражений сердца и влияние на них некоторых фармакологических средств // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1974. — № 2. — С. 50—54.
3. Барц М. П., Гладкова А. И., Новикова Н. В. Состояние симпатико-адреналовой системы и SH-групп сердца при экспериментальном инфаркте миокарда // Cor et Vasa. — 1979. — 21, № 4. — С. 285—294.

4. Безбородько Б. И., Селивоненко В. Г. Энергетически-динамическая дистрофия миокарда.— Киев: Здоров'я, 1980.—62 с.
5. Веденеева З. И. Поражения миокарда при раздражении дуги аорты // Кардиология.— 1964.—4, № 6.— С. 58—61.
6. Виткус А. С., Григалиونه И. К. Морфологические изменения адренергических нервов сердца в раннем периоде экспериментальной ишемии миокарда // Арх. патол. гист.— 1974.— № 9.— С. 67—70.
7. Дынник В. В., Селькова Е. Е. Поведение гликолитической системы и обмена пуриновых нуклеотидов в условиях стрессовой АТФазной нагрузки // Регуляция энергетического обмена и физиологическое состояние организма.— М., 1978.— С. 51—56.
8. Заводская И. С., Морева Е. В. Фармакологический анализ механизма стресса и его последствий.— Л.: Медицина, 1981.—212 с.
9. Заводская И. С., Морева Е. В., Новикова Н. А. Влияние нейротропных средств на нейрогенные поражения сердца.— М.: Медицина, 1977.—191 с.
10. Кондрашева М. Н., Маевский Е. И. Взаимодействие гормональных и митохондриальных регуляций // Регуляция энергетического обмена и физиологическое состояние организма.— М., 1978.— С. 217—229.
11. Манухин Б. И., Волина Е. В. Влияние адреноблокаторов на скорость синтеза и захвата катехоламинов-Н³ в семявыносящем протоке крысы // Физиол. журн.— 1975.—61, № 4.— С. 569—576.
12. Меерсон Ф. З., Пшеничкова М. Г., Уголев А. А. Роль стресса в патогенезе ишемической болезни // Кардиология.— 1982.—22, № 5.— С. 54—61.
13. Методы исследования активности и специфического торможения моноаминоксидаз митохондрий / Под ред. В. З. Горкина и др. // Современные методы в биохимии.— М., 1968.— С. 155—177.
14. Новикова Н. А., Шаныгина К. И. Активность некоторых ферментов энергетического обмена в миокарде и печени после введения больших доз норадреналина // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1975.—80, № 12.— С. 23—25.
15. Рачев Р. Р., Димитров М. И., Филипова Е. Х. и др. Связывание трийодтиронина ядрами и митохондриями печени // Пробл. эндокринологии.— 1979.— № 6.— С. 60—64.
16. Тапбергенов С. И. Влияние тироксина на активность цитохром с-оксидазы и Mg-активируемой АТФазы митохондрий печени и сердца крыс // Вопр. мед. химии.— 1981.— № 4.— С. 450—453.
17. Тапбергенов С. О. Метаболизм катехоламинов и активность ферментов митохондрий // Там же.— 1982.— № 2.— С. 52—58.
18. Тапбергенов С. О. Взаимоотношения и особенности адренергической и тиреоидной регуляции энергетического обмена.— Пробл. эндокринологии.— 1982.— № 4.— С. 67—73.
19. Тапбергенов С. О., Коптелов В. И. Независимое от адренорецепции воздействие тироксина и адrenoксила на активность аденилатциклазы и уровень цАМФ в миокарде // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1981.— № 4.— С. 427—429.
20. Тапбергенов С. О. Тиреоидные гормоны и активность митохондриальной цитохром с-оксидоредуктазы // Пробл. эндокринологии.— 1982.— № 2.— С. 49—53.
21. Утевский А. М., Тапбергенов С. О. Связывание трийодтиронина и захват норадреналина клеточными и субклеточными структурами сердца и печени // Укр. биохим. журн.— 1982.— № 3.— С. 307—310.

Семипалат. мед. ин-т

М-ва здравоохранения КазССР

Поступила 10.03.86

УДК 612.18+612.178

Исследование эфферентной активности сердечных симпатических нервов при очаговых повреждениях сердца

И. Е. Буряков, В. Б. Павлюченко

В патогенезе и компенсации гемодинамических нарушений при повреждениях сердца существенная роль принадлежит нервно-рефлекторным влияниям вообще и, в частности, влияниям, реализующимся с помощью симпатической нервной системы [13]. Острый инфаркт миокарда, возникающий в целостном организме наряду с местными расстройствами метаболизма, сопровождается стресс-синдромом [3], что приводит к увеличению возбуждения симпатoadренальной системы и появлению в крови избытка катехоламинов [2, 12].