

1. Бородин Ю. И., Седова Л. А., Селятицкая В. Г. и др. Динамика некоторых показателей эндокринной и лимфатической систем у крыс при холодовой адаптации // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 98, № 9.— С. 292—294.
2. Герлинская Л. А., Мошкин М. П., Ромашов Н. А., Шаталова Н. Д. Развитие холодовой адаптации у крыс разных линий // Современные аспекты физиологии, адаптации и патологии.— Новосибирск, 1979.— С. 14—18.
3. Кочетков Г. А. Практическое руководство по энзимологии.— М.: Высш. школа, 1980.—271 с.
4. Кулинский В. И., Труфанова Л. В. Активирование катехоламинами и ц-3'-5'-АМФ лимитирующего фермента цикла Кребса — НАД-зависимой изоцитратдегидрогеназы // Докл. АН СССР.— 1975.—224, № 6.— С. 1439—1441.
5. Нечаев Ю. С. Метод одновременного определения активности глюкозо-6-фосфатазы, фруктозо-1,6-дифосфатазы и фосфоенолпируваткарбоксикиназы в фиксированном материале // Проблемы общей патологии хронических процессов в клинике и эксперименте.— Новосибирск, 1977.— С. 115—120.
6. Панин Л. Е. Биохимические механизмы стресса.— Новосибирск: Наука, 1983.— 233 с.
7. Соболев В. И. Роль тиреоидных гормонов в развитии норадреналинзависимого термогенеза // Физиол. журн. СССР.— 1979.—65, № 9.— С. 1335—1339.
8. Стабровский Е. М., Корovin К. Ф. Катехоламины в тканях крыс и их обмен при охлаждении // Там же.— 1972.—58, № 3.— С. 414—420.
9. Стабровский Е. М., Северовостокова В. И. Реакция гипофизарно-адреналовой системы крыс на холод // Там же.— № 8.— С. 1269—1274.
10. Хаскин В. В. Энергетика теплообразования и адаптация к холоду.— Новосибирск: Наука, 1975.—200 с.
11. Шорин Ю. П. Реакция эндокринной системы при адаптации организма к различным факторам среды // Адаптация человека к климатогеографическим условиям и первичная профилактика: Тез. докл. IV Всесоюз. конф. (Новосибирск 2—3 июля 1986).— Новосибирск, 1986.— С. 121—122.
12. Шорин Ю. П., Селятицкая В. Г., Непомнящих Г. И. и др. Чувствительность животных к диабетогенному действию аллоксана при холодовой адаптации // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1984.—97, № 8.— С. 240—242.
13. Baker D. G., Sellers E. A. Carboglyrate metabolism in the rat exposed to a low environmental temperature // Amer. J. Physiol.— 1953.— 174.— P. 459—461.
14. Goebell H., Klungenberg M. DNP-spezifische isocitrate-dehydrogenase der mitochondrien // Biochem. Zeitschrift.— 1964.—340, N 4.— S. 441—464.
15. Itaya K., Ui M. Colorimetric determination of free fatty acids in biological fluids // J. Lipid Res.— 1965.— 6.— P. 16—20.
16. Neri B. P., Frings Ch. S. Improved method for determination of triglycerides in serum // Clin. Chem.— 1973.— 19, N 10.— P. 1201—1202.
17. Scammell J. G., Barney Ch. C., Fregly M. J. Proposed mechanism for increased thyroxine deiodination in cold-acclimated rats // J. Appl. Physiol.— 1981.— 51, N 5.— P. 1157—1161.
18. Singer T. P. Determination of the activity of succinate, NADH, Choline and α -glycerophosphate dehydrogenases // Methods of Biochem. Analysis.— 1974.— 22.— P. 123—175.
19. Wright I., Agius L. Fatty acid synthesis and ketone body utilization by brown adipose tissue of the rat. Response to cold or nutritional state? // BBA.— 1983.— 753, N 2.— P. 244—248.

Ин-т клин. и эксперим. медицины
АМН СССР, Новосибирск

Поступила 29.01.88

УДК 612.67+612.17

Возрастные особенности холинергической регуляции биомеханической функции сердца крыс в условиях гипоксии

Л. М. Лобанов, А. Е. Кирпичков

Интенсивное изучение патогенеза гипоксии обусловлено ее существенной ролью в этиологии и течении значительного числа сердечно-сосудистых заболеваний, частота возникновения которых с возрастом увеличивается. Кислородная недостаточность также является характерной особенностью старения [2], в ходе которого наступают значительные изменения нейрогуморальной и, в частности, холинергической регуля-

ции функции сердца, затрагивающие синтез ацетилхолина, его гидролиз, состояние и число холинорецепторов, механизмы гормон-рецепторного взаимодействия [4, 6]. Исследованиями, проведенными на изолированном сердце, показано, что снижение напряжения кислорода в перфузионном растворе вызывает замедление частоты сокращений, снижение развиваемого левым желудочком давления, скоростей его нарастания и падения, увеличение времени расслабления и контрактуру миокарда [1, 3]. В условиях гипоксии ответная реакция сердца на холинергические влияния имеет некоторые особенности. Выполненные к настоящему времени исследования [5, 7—9] не позволяют сделать обобщающего заключения по этому вопросу.

Целью данной работы явилось исследование возрастных особенностей действия гипоксии на периферические механизмы холинергической регуляции функции сердца.

Методика

Исследования выполнены на изолированном сердце крыс зрелого (8—10 мес) и старого (24—26 мес) возрастов. Выделенное сердце канюлировали и помещали в термостатируемую камеру (37°C). Перфузию осуществляли раствором Кребса—Хензелейта (рН 7,4) при постоянном давлении в аорте, составляющем 60 мм рт. ст., перистальтическим насосом 304 Zalimp (ПНР). Перфузионный раствор насыщали кислородом (pO_2 600 мм рт. ст.) и углекислотой (pCO_2 30 мм рт. ст.), содержание которых определяли с помощью аппарата для измерения газов и рН крови Corning, OP-M-161 (ВНР). Давление в аорте измеряли электроманометром БМТ 501 (ГДР) и поддерживали постоянным системой с обратной связью. Для исключения хроноинотропных влияний отдельные серии опытов проводили при навязанном ритме, задаваемом с помощью электро-стимулятора ЕСУ-2, частотой 5,0 Гц. Стимуляцию М-холинорецепторов осуществляли карбохолином в концентрациях 10^{-9} — 10^{-5} моль/л на фоне перфузии растворами, напряжение кислорода в которых составляло 600 и 100 мм рт. ст. Гипоксический раствор получали вытеснением кислорода азотом. Карбохолин вводили после стабилизации показателей сократимости сердца, наступающей через 5 мин гипоксического воздействия. Регистрировали давление в левом желудочке, первую производную внутрижелудочкового давления и электрическую активность. Запись исследуемых процессов проводили на самописце Н3021-3. Рассчитывали и анализировали частоту сердечных сокращений (ЧСС), систолическое давление ($p_{\max}$), диастолическое давление ($p_{\min}$), максимальные скорости нарастания ($+dp/dt_{\max}$) и падения ($-dp/dt_{\max}$) внутрижелудочкового давления, время достижения максимума сокращения (ВДМ) и время полурасслабления ($1/2BR$), индекс сократимости (ИС) и индекс расслабления (ИР).

Результаты и их обсуждение

В условиях гипоксической перфузии, как и в случае нормальной оксигенации, карбохолин вызывал уменьшение ЧСС, однако сердце останавливалось в ответ на действие меньшей, чем при нормоксии, концентрации агониста, несмотря на то, что максимальный отрицательный хронотропный эффект (ОХЭ) был уменьшен. Так, при pO_2 в растворе 100 мм рт. ст. карбохолин в концентрации $5 \cdot 10^{-7}$ моль/л вызывал снижение ЧСС зрелых особей в среднем на 30,7 %, старых — на 27,1 %, а при перфузии нормоксическим раствором на 40,7 и 34,6 % соответственно (для обеих возрастных групп $P < 0,05$). ЧСС на фоне гипоксии и данной концентрации агониста составляла ($91,8 \pm 11,8$) и ($85,9 \pm 13,3$) мин⁻¹ в группах зрелых и старых крыс, в то время как при pO_2 600 мм рт. ст. — ($121,2 \pm 12,3$) и ($144,6 \pm 9,9$) мин⁻¹ соответственно. Увеличение содержания агониста до 10^{-6} моль/л приводило к остановке сердца, тогда как в условиях нормоксии оно продолжало сокращаться. Возрастных различий хронотропного действия карбохолина не наблюдали (рис. 1, а).

В отличие от нормоксии, когда стимуляция М-холинорецепторов при спонтанном сокращении сердца не изменяла показателей сократи-

тельной функции у животных обеих возрастных групп, на фоне гипоксической перфузии карбохолин у зрелых особей увеличивал гипоксическую контрактуру на 28,2 % ($P < 0,05$) и вызывал снижение сократительной активности сердечной мышцы. Об этом свидетельствовало снижение $+dp/dt_{\max}$ на 24,6 %, $-dp/dt_{\max}$ — на 43,4 % (рис. 1, б), ИС — на 14,5 % и ИР — на 21,2 % ($P < 0,001$). Стимуляция М-холинорецепторов миокарда старых крыс в условиях кислородной недостаточности не изменяла диастолического давления и увеличивала показатели

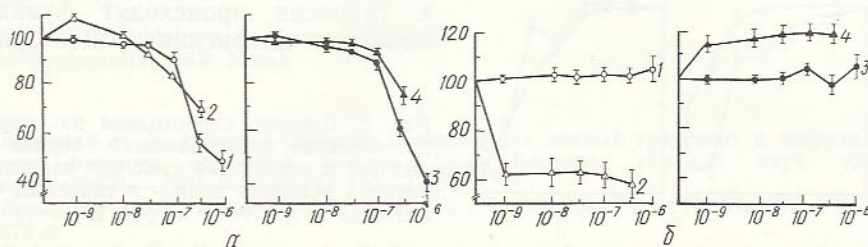


Рис. 1. Динамика частоты сокращений (а) и скорости расслабления (б) изолированного сердца зрелых (1, 2) и старых (3, 4) крыс при стимуляции М-холинорецепторов в условиях нормо- (1, 3) и гипоксии (2, 4). По оси абсцисс — концентрация карбохолина, моль/л; по оси ординат — эффект, %.

сократительной функции: $p_{\max}$ — на 20,4 %, $+dp/dt_{\max}$ — на 16,2 % ($P < 0,02$), $-dp/dt_{\max}$ — на 19,1 % ($P < 0,05$).

Для исключения хроноинотропных отношений исследования проводили при искусственной стимуляции частотой 5,0 Гц. В условиях навязанного ритма динамики биомеханических показателей миокарда была иной. В этом режиме сердце продолжало сокращаться при большей концентрации карбохолина (10^{-5} моль/л), чем в условиях собственного ритма. Именно в этой концентрации карбохолин вызывал снижение сократительной активности миокарда в условиях как нормо-, так и гипоксии. Причем, если в аналогичных исследованиях, проводимых на сердце зрелых особей, перфузируемом раствором, pO_2 которого 600 мм рт. ст., отрицательный инотропный эффект (ОИЭ) наблюдали в ответ на действие агониста в концентрации $5 \cdot 10^{-8}$ моль/л, то в случае гипоксической перфузии — лишь в концентрации $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Реакция миокарда особей зрелого возраста на стимуляцию М-холинорецепторов при гипоксии была снижена (рис. 2). Так, снижение внутрижелудочкового давления, скоростей его нарастания и спада под действием карбохолина (10^{-5} моль/л) в сердце зрелых крыс в случае нормоксии составляло 56,3, 50,8 и 66,5 % соответственно, а в условиях гипоксии — 7,0, 24,2 и 41,8 % ($P < 0,001$). Изменения этих показателей функции миокарда старых животных в ответ на стимуляцию мускариновых рецепторов в условиях нормо- и гипоксической перфузии достоверно не отличались и при pO_2 100 мм рт. ст. составляли 35,2, 51,7 и 72,3 % соответственно. Следует подчеркнуть, что стимуляция М-холинорецепторов миокарда старых крыс в условиях навязанного ритма вызывала снижение возросшего в результате действия гипоксии диастолического давления на 44,3 %. В сердце зрелых животных этого не наблюдали. ВДМ, как и при нормоксии, уменьшалось и различий в его динамике между животными зрелого и старого возрастов не было. $1/2BR$ не изменялось в обеих возрастных группах.

Таким образом, стимуляция М-холинергических рецепторов сердца в условиях гипоксии, как и в случае адекватной оксигенации, вызывает уменьшение ЧСС. Отрицательный хронотропный эффект карбохолина при гипоксии на 8—10 % меньше, чем в условиях нормоксии. Следует, однако, иметь в виду, что снижение содержания кислорода в растворе само по себе ведет к замедлению ритма сердца и, вероятно, поэтому остановка сердца происходит при меньшей концентрации холиноагониста. Данное обстоятельство, по-видимому, имеет определенное зна-

чение в формировании представления об общем усилении холинергических влияний при гипоксическом воздействии [5] и важной роли холинергических механизмов в адаптации к острой кислородной недостаточности [10]. Однако сочетание ОХЭ стимуляции М-холинорецепторов с брадикардией, вызванной недостатком кислорода, и более раннее прекращение спонтанной активности сердца для организма в целом не являются благоприятными факторами. На основании полу-

ченных нами результатов можно предположить, что при адаптации к гипоксии происходят функциональные изменения рецепторного

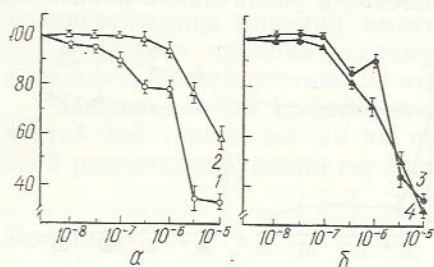


Рис. 2. Влияние карбохолина на скорость расслабления изолированного сердца зрелых (а) и старых (б) крыс при навязанном ритме в условиях нормо- и гипоксии. Обозначения те же, что и на рис. 1.

аппарата, приводящие к ограничению холинергических влияний на водитель ритма.

Стимуляция М-холинорецепторов в условиях адекватной оксигенации и функционирования собственного водителя ритма не приводит к снижению сократительной функции сердца крыс обеих возрастных групп. Это обусловлено значительным замедлением ЧСС и усилением сократительной активности сердечной мышцы по механизмам отрицательной хронотропии, характерной для миокарда крыс. В условиях, исключающих хронотропные отношения (навязанный ритм), карбохалин вызывает ОИЭ.

Стимуляция мускариновых рецепторов на фоне гипоксии и функционирования собственного водителя ритма приводит к снижению сократимости сердечной мышцы зрелых особей, тогда как у старых — вызывает положительный инотропный эффект. Данные возрастные особенности могут быть связаны с различиями динамики диастолического давления. У зрелых животных при гипоксии карбохалин увеличивал гипоксическую контрактуру, что закономерно снижало сократительную функцию миокарда. У старых особей стимуляция холинорецепторов не изменяла диастолического давления, но значительно замедляла ЧСС: в условиях гипоксии — до 86 мин^{-1} , а при нормоксии — до 145 мин^{-1} . Более выраженная при стимуляции М-холинорецепторов в условиях гипоксии брадикардия (без увеличения диастолического давления) по механизмам отрицательной хронотропной связи и могла обусловить некоторое усиление сократительной активности миокарда старых животных.

В условиях навязанного ритма действие агониста М-холинорецепторов сопровождается снижением сократительной активности миокарда животных зрелого и старого возрастов, но у первых ОИЭ наблюдается лишь при концентрации карбохолина почти на два порядка большей ($5 \cdot 10^{-6} \text{ моль/л}$), чем в условиях нормоксии. Помимо понижения чувствительности сердца зрелых крыс к агонисту М-холинорецепторов на фоне гипоксии уменьшается и максимальное значение отрицательной инотропной реакции миокарда, в то время как у старых крыс этого не происходит. Таким образом, при кислородной недостаточности ОИЭ карбохолина сильнее выражен у старых животных. Можно предположить, что при кислородной недостаточности происходит менее выраженная модификация холинергической регуляции сократительной функции миокарда старых животных по сравнению со зрелыми, что может быть одним из механизмов большей устойчивости сердца [3] к гипоксическим воздействиям на поздних этапах онтогенеза.