

Т. С. Лагодич, І. М. Карвацький, В. Г. Шевчук

Вплив L-аргініну на розвиток експериментальної гіперфункції та гіпертрофії міокарда

В исследованиях на лабораторных крысах с экспериментальной коарктацией аорты изучали развитие гиперфункции и гипертрофии миокарда до и после влияния предшественника оксида азота L-аргинина. Установлено, что на 14–20-е сутки после коарктации масса сердца, особенно, левого желудочка и сократительная активность папиллярной мышцы достоверно увеличивается. При длительном введении L-аргинина (100 мг/кг) крысам с коарктацией аорты масса сердца и сократительная функция миокарда увеличивались более значительно, чем без него. Предшественник NO обладает сохраняющим эффектом внутриклеточных структур миокарда.

Вступ

Життєві ситуації постійно пред'являють підвищені навантаження на серцево-судинну систему. І дійсно, якщо в стані спокою у людини серцевий викид 4,7 л/хв, то при фізичному навантаженні може підвищуватися до 42 л/хв. Збільшується навантаження на міокард і при пороках серця, гіпертонічній хворобі [2, 3, 12]. Експериментатор має можливість кількісно оцінити потенціальну здатність міокарда при застосуванні дозованих навантажень, що призводить до розвитку гіперфункції, викликаючи структурні, функціональні та регуляторні зміни напружено працюючого органа [5, 7, 8, 10, 13]. У той же час залишається відкритим питання, як керувати процесом розвитку гіперфункції та гіпертрофії міокарда. Особливий інтерес викликає застосування L-аргініну, по-перше, як амінокислоти, що включається в систему біосинтезу білка, по-друге, як попередника оксиду азоту — багатовекторного регулятора функцій організму. Мета нашої роботи — дослідження ролі системи L-аргінін — оксид азоту на процес розвитку гіпертрофії та гіперфункції міокарда у щурів з коарктацією аорти.

Методика

Дослідження проведено на дорослих (6–8 міс) щурах лінії Вістар масою 150–230 г. Тварини утримувалися в віварії на звичайному харчовому режимі. Гіпертрофію серця моделювали коарктацією аорти за методом Beznak у модифікації Когана [3] за допомогою накладання на піддіафрагмальну ділянку черевної аорти металевієї пружинки, яка забезпечувала зменшення діаметра аорти. Відповідно до діаметра судини підбиралися пружинки, які звужували аорту на 50 %. Діаметр аорти вимірювали штангенциркулем. Рану пошарово ушивали. Через 14–15 діб після проведення коарктації тварин декапітували і вирізували серце. Терміново готували ізольовані препарати папілярних м'язів для дослідження їх скоротливої активності. Для цього міокард поміщали в препарувальну ванночку, заповнену охолодженим роз-

© Т. С. Лагодич та ін.

чином Тіроде і під бінокулярним мікроскопом МБС-9 вирізали смужку папілярного м'яза довжиною 2–3 мм і товщиною 0,5–0,7 мм. Смужку міокарда поміщали в експериментальну камеру місткістю 0,3 мл і перфузували розчином Тіроде (ммоль/л): Na – 140,3, K – 5,4, Mg – 1,1, Ca – 2,5, Cl – 149,1, тріс – 10,0, глюкоза – 11,5, рН 7,4.

Температуру перфузуючого розчину підтримували на рівні 33 °С, оскільки при більш високій температурі зменшується кількість розчинених у перфузаті газів (в т. ч. і O₂). Температуру контролювали безпосередньо біля входу в камеру за допомогою термістора МТ-54.

Для активації скорочень смужки папілярного м'яза міокарда використовували надпорогову стимуляцію імпульсами прямокутної форми від генератора Г5-60. При такій стимуляції весь препарат рівномірно подразнювався за допомогою розташованих у камері електродів, які не торкалися препарату і були виготовлені з хлоридного срібла. Тривалість подразнюючих імпульсів 2,5 мс, амплітуда 10,9 В. Базова частота стимуляції становила 1 Гц. Реєстрацію ізометричної сили скорочення м'язової смужки здійснювали за допомогою механотрона 6МХ-1С.

Для зменшення впливу зовнішніх вібрацій на роботу механотрона, установку розташували на робочому столі позиціонера-маніпулятора ПМ-1М, кріпленого до капітальної стіни, і встановлювали через антивібраційні прокладки, які були закріплені в капітальній стіні. Досліджувані показники вимірювали з діаграмної стрічки самописця Н-3031. Для зв'язку біологічної та вимірювальної систем використовували скляний гачок, з'єднаний із штоком механотрона, котрий підводили під тест-ділянку смужки міокарда. Механотрон був закріплений у трьохкоординатному маніпуляторі ПМ-1М. Вертикальним переміщенням механотрона задавали початкове розтягнення м'язової смужки.

До початку експерименту м'яз адаптувався протягом 40–60 хв. Для підтвердження гіпертрофії визначали масу серця в контролі і після коарктації. Проводили окреме зважування частин серця за Мюллером. При цьому методі маса міжшлуночкової перетинки повністю належить до маси лівого шлуночка. Розраховували індекс функціонування структур, який являє собою відношення сили скорочень міокарда до його маси (у міліграмах на 1 г).

Проводили електронно-мікроскопічне дослідження міокарда. Смужки міокарда лівого шлуночка подрібнювали, фіксували в 2 %-му розчині чотириокису осмію за Колфільдом при температурі мінус 4°С. Потім зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації (70°, 80°, 90°, 96° та два рази 100°), суміші 100° спирту й ацетону і просочували сумішшю ацетону та епоксидної смоли (аралдит і епон). Далі просочували в епоксидній смолі протягом доби, заливали в чисту смолу в желатинові капсули, розподіляючи в них матеріал і полімеризували впродовж 3 діб при 60 °С у термостаті.

Ультратонкі зрізи отримували на ультратомах LKB і Reichert, контрастували їх 2 %-м розчином уранілацетату на 70 % етанолі та цитратом свинцю, а згодом вивчали на електронних мікроскопах ЕМВ-100 БР, ЕМ-125 К [11]. L-аргінін (100 мг/кг) вводили протягом 8–10 діб перорально.

Результати експериментів обробляли статистично за методом Стьюдента – Фішера.

Результати та їх обговорення

У першій серії дослідів вивчався вплив L-аргініну — попередника NO — на процес гіпертрофії серця. У зв'язку з тим, що зміни різних відділів серця мають подібний характер ми спробували виявити особливості розвитку гіпертрофії не лише цілісного серця, а й його відділів. Результати дослідів засвідчили, що тварини з коарктацією аорти відрізнялися від контрольних щурів того ж віку більшою масою серця в основному за рахунок збільшення маси лівого шлуночка. Так, на стадії відносно стійкої гіперфункції та гіпертрофії, що розвивається на 14–20-ту добу після операції, маса серця в цілому збільшилася на 30,2 % ($P < 0,05$), лівого шлуночка — на 37,7 % ($P < 0,05$), правого — на 8,5 % ($P < 0,05$).

Таким чином, слід зазначити, що гіперфункція серця, яка розвивається внаслідок створення збільшеного опору серцевому викиду, призводить до розвитку гіпертрофії міокарда, особливо лівого шлуночка. Незначна різниця в масі правого шлуночка між контрольною та дослідною групами свідчить про менш виражену гіпертрофію цього відділу серця (таблиця). Так, як щури ростуть протягом усього життя, ми порівняли на скільки збільшилася маса лівого шлуночка контрольних і дослідних тварин за 14–20 діб спостереження: у контрольних — вона збільшилась на 20 мг, а з коарктацією аорти — на 139 мг, тобто абсолютний приріст сягав 119 мг.

При тривалому (8–10 діб) пероральному введенні L-аргініну (100 мг/кг) щурам з коарктацією аорти приріст маси серця порівняно зі значеннями тварин з однією лише коарктацією збільшувався на 70 мг, лівого шлуночка — на 49 мг, правого — на 16 мг (див. таблицю).

Таким чином, під впливом L-аргініну маса гіпертрофованого серця і, особливо, лівого шлуночка, підвищується більше, ніж маса гіпертрофованого серця без L-аргініну. При введенні аналогічної концентрації L-аргініну щурам без коарктації аорти маса серця збільшилася на 27,4 мг, лівого шлуночка — на 12 мг, правого — на 10 мг, тобто приріст маси серця щурів без коарктації під впливом L-аргініну був менше вираженим.

Електронно-мікроскопічне дослідження міокарда щурів через 14 діб після коарктації аорти показало, що найбільш уразливими є кардіоміоцити. У них відмічається локальний лізис плазмолем, непрямим підтвердженням чого є наявність в інтерстиційному просторі мітохондрій. Разом з базальною

Вплив коарктації аорти на масу серця щурів ($M \pm m$, $n = 10$)

Показник	Контроль	Після коарктації	Вплив L-аргініну	
			після коарктації	без коарктації
Маса				
тіла, г	215±15	210±17	220±14	217±15
серця, мг	522,6±4,9	680,3±1,8*	750±9,3**	550±4,2
лівого шлуночка, мг	367,8±3,8	506,4±2,8*	555±4,2**	380±3,9
правого шлуночка, мг	123,4±1,4	133,9±1,2*	150±3,3**	134±1,3

* $P < 0,05$ — коарктація відносно контролю; ** $P < 0,05$ — коарктація та введення L-аргініну відносно коарктації.

мембраною сарколема утворює аркадні випинання, де скупчуються рибосоми, глікоген, а подекуди і мітохондрії. Як правило, такі випинання сарколеми є результатом гіперфункції м'язових волокон, що досить часто спостерігаються в кардіоміоцитах. Канальці гладенької саркоплазматичної сітки дещо розширені. Слід відзначити майже повну відсутність лізосом при тому, що спостерігаються внутрішньоклітинні ділянки накопичення цитосергесом, які не оточені мембраною. Трапляються поодинокі пошкодження нексусних з'єднань і зв'язок міофібрил у зоні їх прикріплення в ділянці вставних дисків. Ядра за своєю структурною організацією в основному суттєво не відрізняються від контролю, за виключенням наявності глибоких інвагінацій ядерної оболонки, що може бути наслідком гіперфункції кардіоміоцитів.

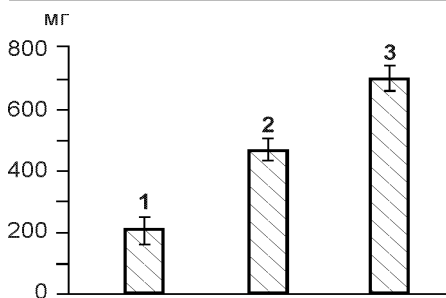
Ультраструктурна організація кровоносних мікросудин свідчить про розвиток у них реактивних процесів. Підвищена звивистість люмінальної поверхні ендотеліоцитів за рахунок утворення мікроростів. Спостерігається накопичення електроннощільного матеріалу в просвіті судин, що є проявом гіпоксичного стану організму.

У щурів, яким на фоні коарктації аорти вводили L-аргінін, у міокарді лівого шлуночка відмічається краща збереженість ультраструктури кардіоміоцитів. У більшості кардіоміоцитів відсутні аркадні вирости сарколеми і базальної мембрани. В зоні Z-мембран спостерігаються T-трубочки. Саркомери мають загалом типову для них будову. Мітохондрії гетерогенні за формою та розміром, але переважають збільшені за розмірами органели, частина з яких містить бруньки новоутворених мітохондрій. Матрикс помірної електронної щільності, міжкристийний простір не розширений. Канальці саркоплазматичної сітки звичайні за формою. Особливістю цієї групи тварин є велика кількість цитогранул, які представляють собою глікоген та рибосоми. Скупчення цих структур спостерігається перенуклеарно та підсарколемально.

Для гемомікроциркуляторного русла характерне стоншення ендотеліальної вистелки та збільшення кількості мікропіноцитозних пухирців.

Таким чином, у міокарді лівого шлуночка щурів з коарктацією аорти розвиваються локальні зміни скоротливого та енергетичного апарату кардіоміоцитів, цілісності їх сарколеми, що може свідчити про недостатню компенсаторну спроможність зазначених клітин за умов підвищеного навантаження. Застосування L-аргініну запобігає розвитку літичних процесів у кардіоміоцитах, призводить до значної активації білоксинтезуючого апарату цих клітин та відновлення трофіки внаслідок стабілізації гемомікроциркуляторного русла.

У другій серії дослідів вивчали вплив L-аргініну на скоротливу функцію міокарда гіпертрофованого серця. Одним з критеріїв скоротливої спроможності є сила скорочення, яка в наших дослідженнях вимірювалася в міліграмах. Отримані результати свідчать про те, що при коарктації аорти скоротлива активність підвищувалася з $203,0 \pm 43,0$ у контролі до $458,9 \text{ мг} \pm 34,4 \text{ мг}$ у стадії гіперфункції і гіпертрофії ($P < 0,05$) при частоті подразнень 1 Гц (рисунок), індекс функціонування структур збільшувався з $0,55 \pm 0,11$ до $0,89 \text{ мг/г} \pm 0,07 \text{ мг/г}$ ($P < 0,05$) відповідно.



Вплив коарктації аорти на скоротливу активність ізольованої смужки папілярного м'яза лівого шлуночка серця щурів при частоті подразнення 1 Гц: 1 – контроль, 2 – гіпертрофія, 3 – гіпертрофія з введенням L-аргініну.

Отже, коарктація аорти призводить до істотного збільшення маси серця, особливо лівого шлуночка, скоротливої функції міокарда. Отримані нами результати збігаються з даними інших дослідників [4, 5, 9, 13].

При 8–10-добовому введенні L-аргініну тваринам з коарктацією аорти сила скорочення папілярного м'яза збільшувалася до $687,5 \text{ mg} \pm 38,1 \text{ mg}$ (див. рисунок), індекс функціонування структур – до $1,2 \text{ mg/g} \pm 0,11 \text{ mg/g}$.

Порівнюючи підвищення скоротливої активності папілярного м'яза на 14–20-ту добу у групі щурів (10 тварин) з коарктацією аорти без введення L-аргініну зі значеннями у групі щурів (10 тварин) з коарктацією і застосуванням попередника NO, видно що L-аргінін призводить до більш суттєвого її приросту (229 мг або 50 %). Подібна закономірність спостерігалась і при розрахунку індекса функціонування структур – приріст його складав $0,31 \text{ mg/g}$ або 36 % відповідно. Це свідчить що гіперфункція міокарда пов'язана з його гіпертрофією.

Як свідчать наші результати, тривале введення L-аргініну щурам з коарктацією аорти призводить до більш значної гіперфункції серця, особливо його лівого шлуночка. Цей ефект може бути пов'язаний, по-перше, з входженням амінокислоти в процес біосинтеза білка *de novo*, що призводить до збільшення маси серця [1, 13, 14], по-друге, L-аргінін, як попередник оксиду азоту, викликає розширення коронарних судин, покращення кровопостачання міокарда, його функції [6, 10, 15], і, накінець, як свідчать наші результати і літературні дані [11] оксид азоту попереджає зміни структури та функції мітохондрій, апарату Гольджі, хроматину, саркоплазматичного ретикулума та інших клітинних компонентів кардіоміоцитів напружено працюючого органа. Більш виражена гіпертрофія спричинює до підвищення скоротливої активності кардіоміоцитів.

T. S. Lagodych, I. M. Karvatsky, V. G. Shevchuk

INFLUENCE OF L-ARGININE ON THE DEVELOPMENT OF MYOCARDIAL HYPERFUNCTION AND HYPERTROPHY

It was shown, in the investigation on laboratory rats with experimental aortic coarctation, the development of myocardial hyperfunction and hypertrophy before and under the influence of the NO – predecessor – L-arginine. It was found that on the 14–20 day after coarctation weight of the heart, especially of the left ventricle, and contractive activity of the papillary muscle realistically increase. Under durable infusion of L-arginine to the rats (100 mg/kg) with aortic coarctation, weight of heart and myocardial contractive activity increase more significantly than without it. NO – predecessor secures intracellular structures of the myocardium.

A. A. Bogomoletz National Medical University, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Губський Ю.І. Біологічна хімія. — К. — Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. — 507 с.
2. Дядьк А.И., Багрий А.М., Лебедь И.А. Патогенез гипертрофии левого желудочка сердца у больных артериальными гипертониями // Кардиология. — 1995. — №1. — С. 59-63.
3. Коган А.Х. Новая простая методика дозированного сужения почечных и других артерий у мелких лабораторных животных в хроническом эксперименте // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1961. — № 1. — С. 112-115.
4. Коган Б.М., Юлдашев К.Ю., Кузьмишин Л.Е., Соколова Д.А. Оценка функционального состояния миокарда в клинической и экспериментальной практике. — Ташкент: Медицина, 1982. — 161 с.
5. Меерсон Ф.З. Гиперфункция, гипертрофия, недостаточность сердца. — М.: Наука, 1968. — 384 с.
6. Мойбенко О.О., Сагач В.Ф., Шаповал Л.М. Роль ендотелію та біологічно активних речовин ендотеліального походження в регуляції кровообігу і діяльності серця // Фізіол. журн. — 1997 — **43**, № 1-2. — С. 3-18.
7. Никитин Ю.П., Малютин С.К., Долгих Л.М. и др. Гипертрофия левого желудочка: популяционное и молекулярно-генетическое исследование // Кардиология. — 1999. — № 6. — С. 27-32.
8. Рамдавон П., Казанская Т.А., Бахилов В.Л. Показатели гипертрофии миокарда и сократительной функции сердца при сужении грудной аорты и после декаркации в эксперименте // Там же. — 1994. — № 7. — С. 77.
9. Сауля А.И., Меерсон Ф.З. Постстрессорные нарушения функций миокарда. — Кисенёв: Штинца, 1990. — 160 с.
10. Сагач В.Ф., Ткаченко М.Н. Влияние L-аргинина на активные миогенные реакции сосудистых гладких мышц при гиперхолестеринемии // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1995. — **119**, № 2. — С. 118-120.
11. Стеченко Л.О., Сагач В.Ф., Ткаченко М.М. та ін. Вплив L-аргініну на ультраструктуру кардіоміоцитів предсердя за умов експериментальної гіперхолестеринемії // Фізіол. журн. — 1999. — **45**, № 1 — 2. — С.72-79.
12. Тейлор Д.Дж., Нетяженко В.З. Основы кардиологической практики. — К.: Лілея, 1999. — 252 с.
13. Gulati Jagdish et all. Shifts in contractile regulatory protein subunits troponin T and troponin I in cardiac hypertrophy // Biochem. and Biophys. Res. Commun. — 1994. — **202**, № 1. — P. 384-390.
14. Resta Thomas C., Walker Benjimen R. Orally administered L-arginine does not alter right ventricular hypertrophy in chronically hypoxic rats // Amer. J. Physiol. — 1994. — **266**, № 2, Pt 2. — P. 559-563.
15. Schulz R., Triggle C.R. Role of NO in vascular smooth muscle and cardiac muscle function // TIPS. — 1994. — **15**, № 7. — P. 255-259.

Нац. мед. ун-т
ім. О. О. Богомольця, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 26.12.2000