

Л. В. ПОЛЕЖАЕВ, И. Е. САДОКОВА, Н. И. ЛАТЫШЕВА

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В МЫШЦЕ СЕРДЦА
ПРИ ДИФТЕРИЙНОМ МИОКАРДИТЕ У КРОЛИКОВ
И ПРОВЕДЕНИИ ПОВТОРНОГО КУРСА
ВВЕДЕНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ

При введении кроликам с дифтерийным повреждением миокарда некоторых биопрепаратов (гидролизат миокарда, РНК, витамин В₁₂) удастся стимулировать восстановительные процессы в мышце сердца и несколько улучшить морфологическую структуру миокарда и некоторые биохимические показатели [5—11]. При этом биопрепараты не влияют на поврежденный нервный аппарат сердца и измененную реактивность адрено- и холинорецепторных систем сердца [1—4].

Интересно было выяснить, можно ли добиться лучшей стимуляции восстановительных процессов в мышце сердца при дифтерийном миокардите у кроликов, если, учитывая волновой характер процесса, провести два курса введения препаратов. Опыт был поставлен с применением методов гистологии и биохимии.

Материал и методика. Опыты проводились на 140 кроликах породы «шиншилла» весом 2,5—4,0 кг. В физиологическом опыте использованы 36 кроликов, в нашем—104, причем в опыте с токсином—23, в опыте с токсином + биопрепараты—25, интактных—5; погибли в ходе опыта и не были использованы—51 (в опыте с токсином—41, в опыте с токсином + биопрепараты—10). Дифтерийный токсин (Московского НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова МЗ СССР) однократно вводили в ушную вену в дозе 0,3 мг/кг веса. У всех животных возникал дифтерийный миокардит и почти 50% их погибали. Через 5 и 45 дней после введения токсина животным внутримышечно вводили 1 раз в день комплекс биопрепаратов: гидролизат миокарда коровы, приготовленный по ранее описанному методу [12], препарат, приготовленный из мышцы сердца барана, содержащий фолинпозитивное вещество и нуклеотиды; витамин В₁₂. Разовая доза препаратов на 1 кг веса животного, разводимая в 0,5 мл физиологического раствора, была соответственно 0,16 мг, 0,25 мл и 15 мкг. Первый и второй препарат вводили через день (соответственно всего 6 и 5 раз), третий—каждый день, всего 20 раз. Животных забивали в разные сроки опыта от 3 до 126 дней после введения токсина, причем на каждый срок брали для биохимического исследования по 3—5, а для морфологического—по 2—5 животных. В биохимической части ис-

следования в левом желудочке сердца изучали концентрацию и содержание коллагена; концентрацию саркоплазмических белков по Лзури и их содержание; концентрацию и содержание сульфгидрильных групп саркоплазмических белков по ранее описанным методам [9—11]. Определяли сухой вес левого желудочка с межжелудочковой перегородкой. Животных забивали в разные сроки и сердце фиксировали в 10% форм-



а



б



в



г



д



е

Рис. 1. Ядра в мышечных волокнах сердца кроликов. Ок. 10, об. 90X. а— нормальные; б— пикнотичные; в— распадающиеся; г— набухшие; д— деформированные; е— митоз мышечного ядра.

лине и по Шабашу. Для гистологического исследования готовили фронтальные парафиновые срезы передней стенки левого желудочка толщиной 5—7 мк и окрашивали их гематоксилин-эозином, по ван Гизону, железным гематоксилином по Гейденгайну и суданом III. Помимо гистологического исследования, на 1000 мышечных ядер сердца подсчитывали число нормальных, патологически измененных ядер и амитозы ядер в норме, т. е. у интактных животных, и в опытах с токсином и токсином + биопрепаратами через 10, 28, 70 и 126 дней после введения токсина. Учитывали мышечные ядра: нормальные, пикнотичные, распадающиеся, набухшие, деформированные, сморщенные, с признаками пикноза и амитотически делящиеся—в состоянии перешнуровки (рис. 1), причем каждое делящееся ядро принимали за одно. При статистической обработке количественных морфологических и биохимических данных применяли метод двухфакторного дисперсионного анализа с повторными данными (с использованием критерия Фишера) и *t*-критерий Стьюдента.

Результаты эксперимента. Гистологическое исследование показало, что в опыте с одним токсином возникают отек, стаз, очаги геморрагии, зернистое, вакуольное, жировое и гиалиновое перерождение и глыбчатый распад мышечных волокон сердца и миолиз (рис. 2а). Ядра мышечных волокон подвергаются деформации, пикнозу, набуханию, рексису, лизису, ядра клеток соединительной ткани пикнотизируются. В очагах повреждения миокарда возникают коллагеновые рубцы. Регенерации мышечных волокон сердца от культей никогда не происходит. В опыте с токсином и биопрепаратами значительно уменьшаются отек, стаз, явления дегенерации. Глыбчатый распад мышечных волокон приостанавливается. В очагах повреждения значительно раньше, чем в опыте с одним токсином, созревают рубцы. Восстановительные процессы внутри мышечных волокон выражаются в том, что их ядра приобретают вид нормальных или молодых, саркоплазма становится мелкозернистой, миофибриллы располагаются по периферии волокна. Последние как бы дедифференцируются и омолаживаются, многие из них продольно расщепляются на тонкие анастомозирующие волокна. Морфологическая структура миокарда явно нормализуется, особенно после проведения второго курса введения препаратов, через 70 и 126 дней опыта (рис. 2б). При проведении одного курса инъекции препаратов морфологическая структура миокарда к концу опыта имеет явно более патологический характер, чем при проведении повторного курса. О том же свидетельствуют данные количественного анализа (табл. 1, 2).

Данные табл. 1 показывают, что: а) под влиянием токсина статистически значимо или статистически достоверно (при $P < 0,05$ или $P < 0,01$) уменьшается число нормальных мышечных ядер сердца кроликов как в опыте с одним токсином, так и в опыте с токсином + биопрепаратами во все сроки наблюдения по сравнению с таковым у интактных животных; б) в поздние сроки опыта (126 дней после введения токсина) под влиянием 2 курсов инъекции биопрепаратов в миокарде происходит статис-

тически достоверное увеличение числа нормальных мышечных ядер по сравнению с таковым в опыте с одним токсином ($454 \pm 24,4$ против $249 \pm 46,9$ при $P < 0,05$); в) проведение 2 курсов инъекции препаратов приводит к статистически значимому увеличению численности нормальных мышечных ядер через 126 дней опыта по сравнению с таковым в опыте с проведением одного курса ($454 \pm 24,4$ против $329 \pm 49,0$ при $P < 0,10$). Из табл. I следует, что амилозы мышечных ядер одинаково появляются под влиянием дифтерийного токсина как в опыте с одним



а



б

Рис. 2. Мышечные волокна сердца кроликов через 126 дней после введения дифтерийного токсина. Ок. 10, об. 20X. а—опыт с токсином; б—опыт с токсином + биопрепараты.

токсином, так и в опыте с токсином + биопрепараты, причем статистической разницы в результатах этих опытов не обнаруживается.

Если же учесть только необратимо измененные мышечные ядра сердца (пикноз и рексис), то оказывается, что: а) разница между ко-

личеством необратимо измененных мышечных ядер в интактном миокарде и в опыте с токсином через 126 дней после введения токсина достоверна при $P < 0,01$; б) разница между количеством необратимо измененных мышечных ядер в интактном миокарде и в опыте с токсином + биопрепараты также через 126 дней достоверна при $P < 0,05$; в) разница между количеством необратимо измененных мышечных ядер через 126 дней в опыте с одним токсином и в опыте с токсином + биопрепараты достоверна при $P < 0,01$.

Таблица 1
Содержание нормальных мышечных ядер (н. я.) и их амитозов (а) на 1000 ядер в миокарде у кроликов в разных опытах

Норма			Дни после введения токсина										
			10		28		70		126		126		
н. я.	а		н. я.	а	н. я.	а	н. я.	а	н. я.	а	н. я.	а	
548	13	Опыт с токсином 1968 г.	166	10	193	9	245	4	194	4	Опыт с токсином 1967 г.	188	2
563	6		183	19	298	12	353	14	212	6		277	8
662	3		246	28	433	30	396	14	342	10		434	9
$M \pm m$	$591 \pm 35,7,3$		198 ± 24	19	$308 \pm 69,3$	17	$331 \pm 44,8$	10,6	$249 \pm 46,5$	6,6		$299 \pm 71,1$	6,3
		Значимость по отношению к норме	$P < 0,01$		$P < 0,05$		$P < 0,05$		$P < 0,01$			$P < 0,05$	
		Опыт с токсином + два курса препаратов 1968 г.	196	3	208	7	246	8	413	4	Опыт с токсином + один курс препаратов 1967 г.	378	6
			198	8	284	23	270	12	453	5		280	1
			332	15	393	26	293	12	498	11			
$M \pm m$			242 ± 45	8,6	$295 \pm 53,6$	18,6	$270 \pm 13,6$	10,6	$454 \pm 24,4$	6,6		$329 \pm 49,0$	3,5
		Значимость по отношению к норме	$P < 0,01$		$P < 0,05$		$P < 0,01$		$P < 0,05$			$P < 0,05$	

Результаты биохимического исследования приведены в табл. 2. При повреждении мышцы сердца дифтерийным токсином: 1) увеличен сухой вес левого желудочка на 15-й и 27-й день опыта (на 15-й день $P < 0,10$ и на 27-й день $P < 0,05$); 2) увеличена концентрация коллагена с 15-го по 70-й дни опыта ($P < 0,05$), 3) увеличено содержание коллагена с 15-го

Некоторые биохимические показатели в мышце левого желудочка сердца кроликов введения биопрепаратов

Таблица 2
дифтерийным повреждением сердца и проведением двух курсов введения биопрепаратов (8 г.)

Показатели	Интактные кролики	Опыт с токсином			Опыт с токсином + препараты					
		Дни после введения токсина			Дни после введения токсина					
		10	15	27	126	10	15	27	70	126
Концентрация коллагена в % от сухой ткани	3,3±0,2	3,7±0,3	4,1±0,02 ²	4,0±0,2 ²	4,5±0,6	4,5±0,6 ¹	4,2±0,4	3,7±0,2	4,4±0,1 ²	4,0±0,1 ²
Содержание коллагена в левом желудочке в мг	33,8±4,9	42,6±1,4	48,1±1,9 ²	48,7±3,7	52,5±6,4 ¹	50,5±6,2 ¹	41,4±4,5	39,9±2,5	46,3±2,6	47,1±1,9 ²
Концентрация саркоплазматических белков в % от сухого веса ткани	23,2±0,6	23,5±0,7	23,4±1,2	22,7±1,1	25,0±1,3	21,9±0,6	27,6±1 ¹ ,8	23,6 ± 0,5	22,1±1,8	23,2±0,7
Содержание саркоплазматических белков в мг в левом желудочке	232,7±16,4	277,0±27,7	277,8±21,6	272,6±8,9	291,4±19,9 ¹	243,0±5,1	276,1±31,1	245,1±10,1	228,6±13,4	273,5±18,4
Концентрация сульфидрильных групп в мкМ на 100 мг саркоплазматического белка	6,9±0,5	7,1±0,3	7,1±0,6	7,8±0,6	8,0±0,7	6,9±1,1	7,4±0,3	7,7±0,3	7,9±0,6	7,3±0,2
Содержание сульфидрильных групп саркоплазматических белков в левом желудочке в мкМ	16,9±1,5	20,5±1,6	20,5±0,4 ²	22,0±2,0	24,2±2,7 ²	17,5±2,9	20,8±2,1	19,8±0,9	19,2±1,4	21,3±1,6 ¹
Сухой вес левого желудочка в г	1,0±0,08	1,17±0,08	1,18±0,03 ¹	1,20±0,04	1,16±0,04	1,11±0,01	1,0±0,09	1,07±0,04	1,06±0,07	1,17±0,06
Содержание сульфидрильных групп сократительных белков в мкМ в левом желудочке	31,3±3,0	30,8±4,0	29,2±0,4	27,9±5,5	29,8±2,6	32,4±2,4	27,0±4,9	34,1±1,8	27,3±1,0	31,7±2,6

¹ P<0,10; ² P<0,05; ³ P<0,01; ⁴ P<0,02.

по 126-й день опыта ($P < 0,1 - 0,05$); 4) концентрация саркоплазменных белков практически не отличается от контроля, некоторое увеличение отмечается лишь на 70-й день опыта; 5) содержание саркоплазменных белков статистически значимо увеличено с 27 по 126-й день опыта ($P < 0,10$); 6) концентрация сульфгидрильных групп саркоплазменных белков в течение опыта статистически не отличается от контроля; 7) содержание сульфгидрильных групп саркоплазменных белков увеличено с 15 по 126 день опыта ($P < 0,05$). При повреждении мышцы сердца дифтерийным токсином и проведении двух курсов инъекции биопрепаратов: 1) сухой вес левого желудочка сердца статистически не отличается от контроля; 2) концентрация коллагена увеличена через 10, 70 и 126 дней опыта ($P < 0,10 - 0,01$); 3) содержание коллагена увеличено на 10 и 126 дни опыта ($P < 0,10 - 0,05$); 4) концентрация и содержание саркоплазменных белков практически не отличаются от контроля; 5) концентрация сульфгидрильных групп саркоплазменных белков не отличается от контроля; 6) содержание сульфгидрильных групп саркоплазменных белков статистически значимо повышено ($P < 0,10$) лишь на 126 день, а в остальные сроки не отличается от контроля.

Так как в опыте с одним токсином увеличивается сухой вес левого желудочка, следовательно, это значит, что в последнем развивается явление типа гипертрофии. Об этом также свидетельствует увеличение концентрации и массы коллагена, увеличение содержания саркоплазменных белков и их сульфгидрильных групп. Вероятнее всего, что значительную часть этих саркоплазменных белков составляют белки цитоплазмы клеток соединительной ткани миокарда. В опыте с токсином гистологически обнаруживается распад мышечных волокон и замещение их соединительнотканью рубцами. Биохимически не обнаруживается статистического изменения в концентрации саркоплазменных белков и их сульфгидрильных групп. Отсутствие указанных изменений морфологически может быть объяснено тем, что одновременно с распадом миофибриллярных белков происходит синтез саркоплазменных белков и их сульфгидрильных групп в цитоплазме клеток разрастающейся соединительной ткани. Введение биопрепаратов, в основном, предотвращает развитие явления типа гипертрофии мышцы сердца и препятствует существенному увеличению массы ее соединительной ткани.

Итак, проведение 2 курсов инъекции биопрепаратов (через 5 и через 45 дней после введения токсина) позволяет несколько лучше стимулировать восстановительные процессы в мышце сердца, поврежденной действием дифтерийного токсина.

Լ. Վ. ՊՈԼԵԺԱԵՎ, Ի. Ե. ՍԱԴՈԿՈՎԱ, Ն. Ի. ԼԱՏԻՇԵՎԱ

ՄՐՏԱՄԿԱՆԻ ՎԵՐԱԿԱՆԳՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ԿԱԶՄԱՐԱՆԱԿԱՆ ԵՎ
ԲԻՈՔԻՄԻԱԿԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԴԻՖՏԵՐԱՅԻՆ ՄԻՈԿԱՐԴԻՏԻ
ԵՎ ԲԻՈՊՐԵՊԱՐԱՏՆԵՐԻ ՆԵՐԱՐԿՄԱՆ ԿՐԿՆԱԿԻ ԿՈՒՐՍԻ
ԱՆՅԿԱՑՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ ճազարների մոտ բիոպրեպարատների ներարկման 2 կուրսը խթանում է վերականգնման պրոցեսները սրտամկանում դիֆտերային միոկարդիտի բորբոքման ժամանակ:

L. V. POLEZHAEV, I. E. SADOKOVA, N. I. LATYSHEVA

MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INVESTIGATION OF THE RECOVERY PROCESSES IN THE HEART MUSCLE IN DIPHTHERIAL MYOCARDITIS AND A REPEATED COURSE OF ADMINISTERING BIOPREPARATIONS

S u m m a r y

It is shown both histologically and biochemically that when rabbits are administered two courses of biopreparations, the structure of injured muscle fibres of the heart is improved, in addition to the heart coefficient and other factors.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Колчин С. П. В сб.: «Условия регенерации органов и тканей у животных». М., 1966, 118.
2. Колчин С. П., Докл. АН СССР, 176, 738, 1967.
3. Колчин С. П. Докл. АН СССР, 190, 4, 1970.
4. Маливанова С. Д. Докл. АН СССР, 1178, 213, 1968.
5. Полежаев Л. В., Колчин С. П. и Солнцева Г. Н. Докл. АН СССР, 164, 949, 1965.
6. Полежаев Л. В., Колчин С. П. и Садокова И. Е. В сб.: «Условия регенерации органов и тканей у животных». М., 1966, 192.
7. Полежаев Л. В., Колчин С. П., Садокова И. Е. и Латышева Н. И. Докл. АН СССР, 177, 1489, 1967.
8. Полежаев Л. В., Колчин С. П. и др. Докл. АН СССР, 185, 468, 1969.
9. Садокова И. Е. В сб.: «Условия регенерации органов и тканей у животных». М., 1966, 254.
10. Садокова И. Е. Докл. АН СССР, 177, 1967.
11. Садокова И. Е. В сб.: «Регенерация и клеточное деление». М., 1968, 373.
12. Fruton J. S., Bergmann M. J. Biol. Chem., 130, 1, 1939.