

Е. Б. ПЕТУХОВ, В. П. БЕРЕЗОВ, Н. П. ИСТОМИН,
А. Б. АБРАМОВИЧ, И. И. МУСИН

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЕРФУЗАТА ДЛЯ ОЦЕНКИ МЕТАБОЛИЗМА СЕРДЦА В ПРОЦЕССЕ КОНСЕРВАЦИИ

Анализ перфузионного раствора при консервации сердца позволяет оценить степень метаболических изменений органа или уровень повреждения его клеточных структур еще в процессе перфузии. Использование для этой цели биопсии миокарда недопустимо, так как нарушение целостности органа не дает возможности достоверно оценить функцию сердца после консервации.

Все существующие в настоящее время методы консервации основаны, главным образом, на уменьшении потребности ткани в кислороде. Однако общей закономерностью при консервации сердца является развитие ишемических повреждений [5, 14].

Для исследования особенностей метаболизма сердца в процессе консервации мы использовали изменения состава перфузата.

Материал и методы. В качестве метода консервации была применена умеренная гипотермия $+15^{\circ}\text{C}$ и нормобарическая перфузия. Эксперименты проведены на сердцах 6 беспородных собак, весом 9—12 кг. Под морфинно-тиопенталовым наркозом вскрывали грудную полость и извлекали сердечно-легочный препарат. Перфузию сердца проводили в специальном контейнере фирмы «Викерс» (Англия), при перфузионном давлении 18—20 мм рт. ст., объемной скорости перфузии 30—50 мл/мин/100 г. Состав перфузата: NaCl —130 мМ, KCl —4 мМ, CaCl_2 —5 мМ, NaHCO_3 —10 мМ, NaHPO_4 —0,435 мМ, MgCl_2 —1 мМ, глюкоза—5,56 мМ, инсулин—25 ед./л., гепарин—25 тыс. ед./л., гидролизат казеина—50 мл/л. Объем перфузата—2 л, время консервации—3 часа.

В процессе исследования определяли: рН; K^+ и Na^+ методом пламенной фотометрии; глюкозу толудиновым методом; белок по Лоури, ферменты—креатинфосфокиназу, лактатдегидрогеназу, β -гидрооксibuтиратдегидрогеназу по А. Покровскому; аминокислоты на аминокислотном анализаторе «KLA—3B»—Хитачи (Япония); спектральные изменения регистрировали на спектрофотометре MPS—50L (Япония).

Результаты. В процессе консервации происходит закисление перфузата—рН уменьшается с 7,26 до $6,78 \pm 0,04$ через 30 мин. Затем интенсивность закисления снижается и к концу 1-го часа рН составляет $6,71 \pm 0,05$, а через 3 часа— $6,56 \pm 0,07$.

Содержание глюкозы в перфузате снижается в первые 30 мин. с 174,8 до $170,8 \pm 12,0$ мг%, скорость утилизации составляет 12,1 мкг/мин/г. Через один час концентрация глюкозы достигает $166,3 \pm 11,6$ мг%, а скорость утилизации сохраняется прежней. Через три часа консервации уровень глюкозы в перфузате снижается до $164 \pm 12,9$ мг% ($P < 0,05$), а интенсивность утилизации уменьшается вдвое.

В процессе консервации мы наблюдали увеличение концентрации ионов K^+ в перфузате с 16 до $19,7 \pm 0,5$ мг% через 30 мин и $20,0 \pm 0,3$ ($P < 0,01$) через 1 час. В последующие сроки концентрация калия достоверно не возрастает. Изменения концентрации ионов натрия в перфузате статистически недостоверны.

При спектрофотометрии в ультрафиолетовой области зарегистрирован широкий пик поглощения с максимумом на волне 280 мкм, идентифицированный нами как белок. Анализ по Лоури показал, что его содержание к концу консервации составляло $1,6 \pm 0,11$ мг%. Установлено, что одним из элементов белковой фракции являлись ферменты: лактатдегидрогеназа, креатинфосфокиназа, гидроксибутиратдегидрогеназа (рис. 1).

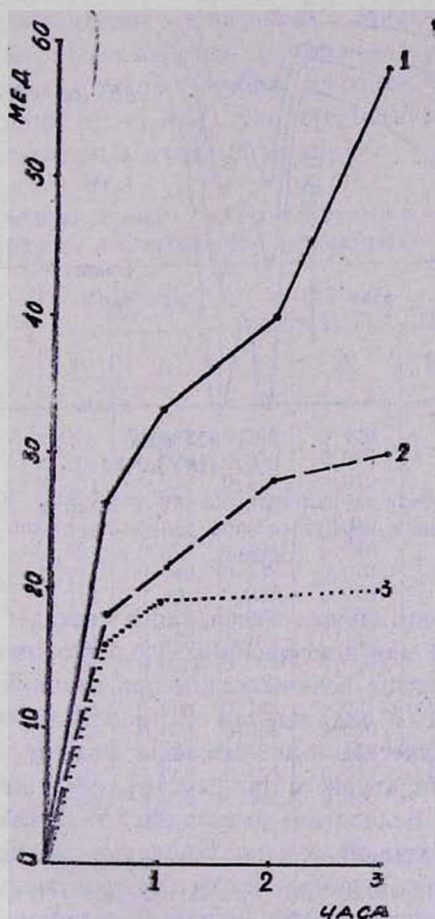


Рис. 1. Выход внутриклеточных ферментов: лактатдегидрогеназы (1), креатинфосфокиназы (2) и β -гидроксибутиратдегидрогеназы (3) в перфузат в зависимости от сроков консервации сердца.

При спектрофотометрии в видимой области поглощения зарегистрирован двойной пик с максимумом 485—505 мкм. Интенсивность поглощения увеличилась пропорционально времени консервации (рис. 2). Дан-

ный пик характерен как для оксигемоглобина, так и для оксимоглобина. Устойчивость спектра к денатурирующим воздействиям, согласно исследованиям [15], позволяет идентифицировать выявленный компонент как юксимоглобин.

При исследовании баланса аминокислот выявлено достоверное повышение в перфузате количества валина, метионина, лейцина, тирозина (табл. 1). Через 3 часа консервации статистически значимым стало и повышение концентрации треонина, однако нетрудно заметить, что основные количества аминокислот вымываются из миокарда в первые 30 мин. Следует отметить, что, исключая тирозин, в перфузате заметно повышается концентрация только незаменимых аминокислот, содержание заменимых аминокислот практически не меняется.

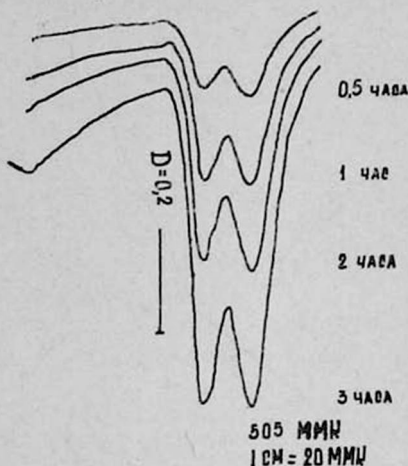


Рис. 2. Спектр перфузата в видимой области излучения. Увеличение содержания миоглобина в перфузате при удлинении сроков консервации сердца.

Обсуждение. Максимальные изменения в составе перфузата наблюдаются в первые 30 мин консервации. Очевидно, это связано с неизбежным периодом аноксии, возникающим при изоляции сердца, подготовке его к перфузии и охлаждении до необходимой температуры. Известно, что метаболические изменения при аноксии происходят крайне быстро. Так, по литературным данным [6], содержание АТФ падает вдвое всего за 30 сек. Вследствие активации гликолиза накапливаются недоокисленные продукты обмена и повышается проницаемость клеточной мембраны. Вероятно, в начале перфузии происходит массивный выход этих продуктов и, в частности, молочной кислоты, что и определяет быстрое закисление перфузата. В дальнейшем, интенсивность закисления снижается в связи с угнетением гликолиза в процессе консервации.

Появление в перфузате белков в начальный период консервации указывает на низкую толерантность клеточных структур сердца к ишемии. Выход β -оксибутиратдегидрогеназы свидетельствует о структурном повреждении митохондриальной мембраны. Эти результаты согла-

суются с литературными данными [3] о набухании митохондрий и отрыве крист при электронномикроскопическом исследовании миокарда через 30 мин. ишемии. Был отмечен также интенсивный выход креатинфосфокиназы—фермента, катализирующего образование креатинфосфата, и цитоплазматического фермента лактатдегидрогеназы. Возможность выхода этих ферментов во внеклеточное пространство при ишемии сердца хорошо известна [7, 8]. Хотя их появление в перфузате и не является признаком необратимых повреждений, однако представляет нежелательное явление в силу того, что при восстановлении функции сердца в клетке может возникнуть гипоферментемия, из-за чего нарушатся фосфорилирование креатина и метаболизм лактата.

Кроме ферментов, в перфузате было обнаружено и другое высокомолекулярное соединение—миоглобин. Миоглобинемия, наблюдаемая также при ряде патологических состояний—инфаркте миокарда, передозировке миорелаксантов, остром венозном тромбозе, эмболии магистральных артерий [9, 12, 13], свидетельствует о резкой ишемизации тканей и повреждении клеточных мембран.

Таблица 1

Изменение аминокислотного состава перфузата в зависимости от времени перфузии изолированного сердца собаки (мкмоль/мл)

Аминокислоты	Контроль		0,5 часа			3 часа		
	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S	P	$\bar{x}$	S	P
Лизин	0,485	0,085	0,788	0,179		0,711	0,158	
Гистидин	0,288	0,020	0,330	0,025		0,301	0,031	
Аргинин	0,104	0,027	0,137	0,042		0,170	0,039	
Аспарагин. к-та	0,541	0,238	0,575	0,254		0,564	0,241	
Треонин	0,338	0,019	0,454	0,049		0,462	0,042	<0,05
Серин	0,683	0,029	0,734	0,048		0,727	0,050	
Глутамин. к-та	0,273	0,040	0,238	0,073		0,245	0,073	
Пролин	0,315	0,023	0,337	0,028		0,350	0,027	
Глицин	1,055	0,067	1,078	0,068		1,076	0,066	
Аланин	1,432	0,085	1,705	0,146		1,687	0,129	
Цистин	0,005	0,0003	0,005	0,0003		0,005	0,0003	
Валин	0,441	0,042	0,737	0,114	<0,05	0,719	0,114	<0,05
Метионин	0,064	0,008	0,128	0,021	<0,02	0,121	0,015	<0,01
Изолейцин	0,048	0,005	0,068	0,010		0,068	0,011	
Лейцин	0,946	0,064	1,334	0,150	<0,05	1,319	0,154	<0,05
Тирозин	0,107	0,004	0,154	0,017	<0,05	0,148	0,014	<0,02
Фенилаланин	0,382	0,025	0,464	0,040		0,460	0,040	

Появление в перфузате больших количеств аминокислот, при отсутствии каких-либо дополнительных источников, возможно только из метаболического фонда клеток миокарда. Если учесть, что основная масса вымываемых аминокислот относится к числу незаменимых, следует думать о невозможности их утилизации клетками миокарда. Так как процесс касается большой группы аминокислот, то это явление, по-видимому, обусловлено нарушением какого-либо механизма обмена, общего для многих аминокислот. Таким механизмом является, вероятнее всего, процесс переаминирования аминокислот. Кроме того, увеличение

содержания метионина в перфузате свидетельствует о повреждении процесса метилирования. При восстановлении функции сердца это может служить причиной дезорганизации таких важнейших процессов, как синтез белка, креатина, норадреналина.

Таким образом, в изолированном сердце в процессе консервации происходят глубокие структурные и метаболические нарушения. Анализ перфузата позволил установить, что гипотермия $+15^{\circ}\text{C}$ в сочетании с перфузией и нормобарической оксигенацией не предохраняет миокард от ишемических повреждений.

II МОЛГМИ,

г. Москва

Поступило 15/XI 1974 г.

Ե. Բ. ՊԵՏՈՒՇՈՎ, Վ. Պ. ԲԵՐԵԶՈՎ, Ն. Պ. ԻՍՏՈՄԻՆ, Ա. Բ. ԱԲՐԱՄՈՎԻԶ, Ի. Ի. ՄՈՒՍԻՆ

ՊԵՐՖՈՐԱՏԻ ՕԳՏԱԳՈՐԾՈՒՄԸ ԿՈՆՍԵՐՎԱՑԻԱՅԻ ԺԱՄԱՆԱԿ ՍՐՏԻ
ՆՅՈՒԹԱՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ԳՆԱՀԱՏՄԱՆ ՀԱՄԱՐ

Ա մ փ ն փ ու մ

Շների սրտերի վրա մի շարք սերիայի փորձերում դիտարկված են պերֆուզատի կազմի փոփոխության օգտագործման հնարավորությունը կոնսերվացիայի ժամանակ նյութափոխանակության և կառուցվածքային փոփոխությունների գնահատման համար: Հիմնական փոփոխությունները տեղի են ունենում կոնսերվացիայի սկզբնական ժամանակահատվածում:

E. B. PETOUCHOV, V. P. BEREZOV, N. P. ISTOMIN, A. B. ABRAMIAN,
I. I. MOUSIN

THE USE OF PERFUSATE FOR ESTIMATION OF METABOLISM OF THE HEART IN THE PROCESS OF CONSERVATION

S u m m a r y

In set of experiences on dog's heart the possibility of use of changing of perfusate was taken in attention during the process of conservation for estimation of metabolic and structural changes. The main changes took place in the primary period of conservation.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Березов Т. Т., Левин Ф. Б. Сб. «Острая ишемия органов и меры борьбы с пост-ишемическими расстройствами». М., 1973, 137. 2. Браун А. Д. Сб. Вopr. цитологии М.—Л., 1960, 121—133. 3. Комахидзе М. Э. Экспер. хир. и анестез. 1970, 5, 30—33. 4. Лифшиц Р. И., Слободин В. Б. Бюлл. эксп. биол. 1972, 74, 12, 49—51. 5. Ступин И. В., Истомин Н. П., Кухарева Н. С. Грудная хирургия, 1973, 4, 30—37.