

УДК 616.132—008.64.46—092.4/9—089—02:576.311.347:577.3:612.015.36

А. А. ЦЫГАНИЙ, Г. Ю. НЕМ, **В. Т. СВИРЯКИН**
Э. Т. ОВРУЦКАЯ, Н. А. МЕДВИНСКАЯ, М. Ю. АТАМАНЮК

ВЛИЯНИЕ ТИПОКСИИ НА ПРОЦЕССЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ И КОЛИЧЕСТВО ЦИТОХРОМОВ В МИТОХОНДРИЯХ МИОКАРДА И ИХ РОЛЬ В ГЕНЕЗЕ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У СОБАК

Успехи современной кардиохирургии выдвинули перед реаниматологией ряд новых задач, которые сводятся к определению границ безопасного прекращения коронарного кровообращения во время оперативного лечения пороков сердца. В литературе по этому вопросу отсутствует единство мнений как среди клиницистов, так и среди специалистов смежных областей.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния длительного прекращения коронарного кровообращения на некоторые показатели окислительного фосфорилирования и количество цитохромов в митохондриях миокарда, а также на его морфо-гистохимическую картину и функциональное состояние сердца.

Материалы и методы. Проведено 80 экспериментов на 4 группах здоровых беспородных собак. В I контрольной группе (10 экспериментов) собак забивали электрошоком и сразу после забоя брали кусочки миокарда для проведения биохимических и структурных исследований.

Во II (10 экспериментов) и в III группе (10 экспериментов) собак также забивали электрошоком, однако кусочки тканей брали для исследований соответственно через 15—20 и 40—60 мин. после гибели животных и остановки у них венозного кровообращения. Указанная модель гипоксии избрана для исключения влияния на метаболические процессы миокарда наркоза и хирургической травмы.

В IV группе экспериментов остановку венозного кровотока вызывали пережатием аорты при подключенном аппарате искусственного кровообращения (АИК) в нормометрических условиях для возможного изучения функционального состояния сердца. Пережатие аорты вызывали на 15—20-й мин. (14 экспериментов), 40—60-й мин. (36 экспериментов), после чего производилась попытка восстановления нагнетательной функции сердца. Последняя оценивалась по показателям давления в аорте, минутного объема сердца (МОС), центрального венозного давления, ЭКГ, кислотно-щелочного равновесия (КЩР) и газового состава крови (метод Аструпа).

Митохондрии выделялись сразу после изъятия кусочков миокарда методом дифференциального центрифугирования. Среда инкубации митохондрий содержала 0,3 М сахаразы, 0,005 М KH_2PO_4 (рН 7,5) и 0,005 М KCl . Окислительное фосфорилирование исследовалось полярографическим методом (полярограф ЛП-60). По Чансу [1] определяли следующие параметры: V_2 —субстратное дыхание (при окислении 10 мМ сукцината или альфа-кетоглутарата), V_3 —активное дыхание (при добавлении к взвеси митохондрий 200 мкМ АДФ), V_4 —контролируемое дыхание (после истощения АДФ), дыхательный контроль (ДК)—отношение V_3/V_4 , коэффициент АДФ/О, харак-

теризующий термодинамическую эффективность окислительного фосфорилирования, и V_{ϕ} — скорость фосфорилирования.

Количество цитохромов в митохондриях миокарда определяли дифференциально-спектрофотометрическим методом Вильямса [2].

Количество белка определяли биуретовым методом. Белок митохондрий растворяли в 1 мл 2N раствора КОН с щепоткой дезоксихолевой кислоты, после чего добавляли 4,0 мл биуретового реактива.

Полученные данные обработаны методом вариационной статистики. Сопоставление полученных результатов производилось с I (контрольной) группой животных.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований показали, что уже через 20—30 мин. после остановки коронарного кровообращения, по сравнению с контролем, в митохондриях миокарда нарушаются процессы окислительного фосфорилирования. Об этом свидетельствует значительное уменьшение скорости активного дыхания при окислении альфа-кетоглутарата и сукцината (на 48,7 и 36% соответственно), уменьшение дыхательного контроля (на 21,7 и 19,6%) и скорости фосфорилирования (на 32,8 и 24,1%) (табл. 1 и 2).

Таблица 1
Изменение показателей окислительного фосфорилирования в митохондриях миокарда в различные сроки гипоксии (субстрат 10 мМ альфа-кетоглутарата)

Показатели	Статистические показатели	Продолжительность гипоксии		
		I группа	II группа	III группа
V_2	М	62	40	35
	т	2,2	4,0	7,0
	Р		<0,001	<0,001
V_3	М	166	85	56
	т	31,0	10,0	17
	Р		<0,05	<0,01
V_4	М	83	46	33
	т	4,0	6,0	7,0
	Р		<0,05	<0,01
ДК	М	2,241	1,756	1,326
	т	0,312	0,118	0,131
	Р		>0,05	<0,01
АДФ/—0	М	3,753	3,388	1,861
	т	0,538	0,374	0,527
	Р		>0,05	<0,01
V_{ϕ}	М	486	327	127
	т	87	55	22
	Р		>0,05	<0,001

Примечание: V_2 , V_3 и V_4 выражены в $\frac{\text{мкА } O_2}{\text{мин. мг белка}}$, V_{ϕ} — в $\frac{\text{мкМ АДФ}}{\text{мин. мг белка}}$

При удлинении сроков гипоксии (до 40—60 мин.) наблюдалось еще большее снижение скорости активного дыхания при окислении альфа-кетоглутарата (на 66,4%) и сукцината (на 23,4%), дыхательного контроля (соответственно на 40,8 и 41,6%), термодинамического коэффициента (50,7 и 12,2%) и скорости фосфорилирования (74 и 62%). (табл. 1, 2).

Из табл. 3 видно, что при гипоксии продолжительностью 40—60 мин. у собак со здоровым миокардом наблюдается тенденция к снижению количества цитохромов $a+a_3$ и b , а также достоверное снижение цитохромов $c+c_1$ (на 38%) в левом желудочке.

Таблица 2
Изменение показателей окислительного фосфорилирования в митохондриях миокарда в различные сроки гипоксии (субстрат 10 мМ сукцината)

Показатели	Статистические показатели	Продолжительность гипоксии		
		I группа	II группа	III группа
V_2	M	96	97	103
	m	20	17	23
V_3	P		>0,05	0,05
	M	205	131	157
V_4	m	31	15	40
	P		<0,05	0,05
ДК	M	121	90	93
	m	26	20	31
АДФ/0	P		>0,05	0,05
	M	1,86	1,49	1,085
V_ϕ	m	0,21	0,09	0,051
	P		>0,05	<0,001
АДФ/0	M	1,97	2,01	1,726
	m	0,22	0,21	0,20
V_ϕ	M		281	142
	m	371	51	17
	P	6,0	>0,05	<0,001

Таблица 3
Количество цитохромов в митохондриях миокарда при гипоксии

Цитохром в нМ/мг белка	Статистические показатели	I группа	III группа
$a+a_3$	$M \pm m$ P	$1,12 \pm 0,15$	$0,937 \pm 0,12$ 0,05
b	$M \pm m$ P	$1,10 \pm 0,12$	$0,930 \pm 0,05$ 0,05
$c+c_1$	$M \pm m$ P	$1,14 \pm 0,15$	$0,706 \pm 0,05$ 0,05

По морфологическим данным через 15—20 мин. после прекращения кровоснабжения сердца наблюдались крупноочаговая фуксинофильная дистрофия миокарда (по Селье) и единичная базофилия (по Гейденгайну) мышечных волокон. Уменьшалось количество гликогена, особенно в базофильных мышечных волокнах, в которых обнаруживалась суданофильная пыль. В фуксинофильных мышечных волокнах усиливалась анизотропия дисков А и некоторых миофибрилл, в то время как в базофильных волокнах она исчезала. Однако глыбки формазана, указы-

вающие на наличие окислительно-восстановительных ферментов, были еще равномерно распределены в митохондриях миокарда. По мере удлинения срока гипоксии (особенно через 40—60 мин.) изменения в нем нарастали, что выражалось в усилении анизотропии структур фуксинофильных мышечных волокон, появлении анизотропных зерен и глыбок в саркоплазме, увеличении количества базофильных мышечных волокон, значительном снижении содержания гликогена и увеличении количества суданофильной пыли. Изменялись и окислительно-восстановительные ферменты: зерна фермазана становились неодинаковыми по величине, определяясь не только в митохондриях, но и вне их, т. е. происходило постепенное разрушение ферментативных систем, участвующих в образовании энергии.

При различных сроках гипоксии миокарда, вызванной пережатием аорты (IV группа), у всех собак развивалась фибрилляция желудочков. Однако после 15—20 мин. гипоксии и последующего возобновления коронарного кровотока на фоне искусственного кровообращения удалось уже через 10—20 мин. восстановить с помощью электрической дефибрилляции нормальный ритм сердца. Через 15—25 мин. параллельной перфузии отключался АИК. На этом фоне регистрировались исходные величины артериального и венозного давления, а также МОС.

При пережатии аорты на 40—60-й мин. фибрилляция желудочков переходила в мелковолнистую или в асистолию. После возобновления венозного кровообращения во всех случаях удалось восстановить спонтанную деятельность сердца с помощью вспомогательного искусственного кровообращения, коррекции нарушений электролитного и кислотно-щелочного равновесия, введения симпатомиметиков. Однако через 30—60 мин. после остановки АИК у 8 собак развивалась тяжелая сердечная недостаточность, проявлявшаяся в артериальной гипотензии, нарушениях ритма (в 2 случаях фибрилляция переходила в необратимую асистолию). В случаях, где венозный кровоток отсутствовал 60 мин., восстановить сердечную деятельность и отключить АИК удалось из 19 подопытных животных только у 12. При этом полноценная нагнетательная функция сердца на протяжении периода наблюдения (3—5 час.) отмечена лишь у 4 собак. У остальных животных развивалась сердечная недостаточность со снижением артериального давления и МОС, тахикардией и т. д.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что прекращение коронарного кровотока в интактном сердце приводит к значительным изменениям процессов окислительного фосфорилирования с нарушением функции различных участков полиферментной системы [3] дыхательной цепи митохондрий: на уровне НАД (окисление альфа-кетоглутарата), убихинона (окисление сукцината) и цитохромов. Изменение процессов образования энергии сопровождалось нарушением структуры митохондрий, а также структуры сократительных элементов миокарда при одновременном поражении сократительной функции сердца. Это, очевидно, необходимо учитывать при проведении кардиохирургических

вмешательств у больных с поражением миокарда, где прекращение венозного кровотока может привести к более значительным нарушениям и сравнительно раньше, чем в интактном миокарде.

Киевский НИИ туберкулеза и грудной хирургии

Поступило 29/IV 1976 г.

Ա. Ա. ՑԻԳԱՆԻ, Գ. ՅՈՒ. ՆԵՄ, Վ. Տ. ՍՎԻՐՅԱԿԻՆ, Վ. Ի. ՄԱԼՅՈՒԿ,
Զ. Գ. ՕՎՐՈՒՏԿԱՅԱ, Ն. Ա. ՄԵԴՎԻՆՍԿԱՅԱ, Մ. ՅՈՒ. ԱՏԱՄԱՆՅՈՒԿ

ՀԻՊՕՔՍԻԱՅԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԹԹՎԵՑՄԱՆ ՖՈՍՖՈՐԻԶԱՑՄԱՆ
ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԻ ՎՐԱ ԵՎ ՄԻՈԿԱՐԴԻ ՄԻՏՈԽՈՆԴՐԻԱՆԵՐՈՒՄ ՑԻՏՈԽՐՈՄՆԵՐԻ
ՔԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒ ՆՐԱՆՑ ԴԵՐԸ ՍՐՏԱՅԻՆ ԱՆԲԱՎԱՐԱՐՈՒԹՅԱՆ
ԱՌԱՋԱՑՄԱՆ ՄԵՋ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հեղինակները պարզել են, որ պսակաձև անոթների մեջ արյան շրջանառության երկարատև դադարումից հետո, ունանիմացիայի ժամանակ սրտային թուլության հիմնական պատճառներից են հանդիսանում միոկարդի միտոխոնդրիաներում էներգիայի առաջացման պրոցեսների կուպիտ խախտումները:

A. A. TSIGANY, G. Yu. NEM, V. T. SVIRYAKIN, V. I. MALJUK,
Z. G. OVRUTSKAYA, N. A. MEDVINSKAYA, M. Yu. ATAMANJUK

THE INFLUENCE OF HYPOXIA ON OXIDATIVE
PHOSPHORYLATION PROCESSES AND CYTOCHROME NUMBER
IN MYOCARDIAL MITOCHONDRIAS AND THEIR ROLE
IN HEART FAILURE GENESIS

S u m m a r y

It is established that the process energy formation's rough disturbances in myocardial mitochondrias are the one of the leading causes of heart weakness during reanimation after continued coronary circulation arrest.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Chance B. J. Biol. Chem., 1956, 207, 383.
2. Williams G. H. Arch. Biochem Biophys., 1964, 107, 3, 537.
3. Ленинджер А. Митохондрия. М., „Мир“, 1966.