

УДК 616.127—055.3.092—073:616.15:578.085.23

Н. А. АВАНЯН, Р. А. ГЕВОРКЯН, Л. О. МЕЛИК-СААКЯН, Р. А. ЧАРЧОГЛЯН

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ СЫВОРОТКИ БОЛЬНЫХ ПАТОЛОГИЕЙ СЕРДЦА НА СОКРАТИМОСТЬ КЛЕТОК ЭМБРИОНАЛЬНОГО МИОКАРДА

Установлено, что добавление 10% цельной сыворотки человека в культуру ткани сердца куриного эмбриона ингибирует действие стероидных гормонов, вызывающих остановку сокращений эксплантата в чистой питательной среде [3]. Показано, также, что сыворотка крови здоровых доноров вызывает повышение амплитуды сокращений фрагментов патологически измененного миокарда при врожденных и приобретенных пороках сердца [1].

В настоящем исследовании мы задались целью определить инотропный и хронотропный эффекты цельной сыворотки и ее фракций на культуру эмбрионального куриного миокарда. Были исследованы здоровые люди и больные, страдающие дилатационной кардиомиопатией (ДКМП), ишемической болезнью сердца (ИБС), ревматическими пороками сердца (РП), миокардитами (МК), а также инфарктом миокарда (ИМ).

Материал и методы. Исследования проводили на изолированных фрагментах миокарда 5—8-дневных куриных эмбрионов. Отдельные кусочки сердечной ткани размером 1—2 мм помещали в камеры из оргстекла в форме шайбы, объемом 3,14 см³, на покровном стекле, в 1 мл питательной среды Игла или среды № 199. Камеры, с фиксированными в них эксплантатами, предварительно инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение часа. Регистрацию параметров сокращений миокардиальных фрагментов проводили на установке с фотоэлектрическим принципом регистрации по ранее описанной методике [2] до введения испытуемой сыворотки в количестве 0,1 мл и спустя 3, 5, 10, 15 и 20 мин после ее добавления в культуру эксплантата миокарда. Активность сыворотки сохранялась при температуре 2—4°C в течение 5 дней.

Фракции сыворотки получали путем гель-фильтрации на сефадексе G-75 в откалиброванной колонке размером 1,6×70 см. Сыворотку предварительно диализовали против буфера 50 мМ трис-HCl, pH 7—8, затем 1 мл сыворотки наносили на сефадекс. Собирали 60 фракций по 2,5 мл элюата в каждой.

Для анализа полученных фракций проводили диск-электрофорез в 10% полиакриламидном геле (ПААГ) с додецилсульфатом натрия (ДСН) и осуществляли по Weber K., Osborn M. (1969 г.). Сканирование гелей проводили на денситометре 1KB 2222-001-002. Исследованы сыворотки 40 больных ДКМП, 15 больных РП с различной стадией активности ревматизма, 15 больных МК, 15—острым ИМ, 15—ИБС, а также 20 практически здоровых лиц. У 50% обследованных больных исследования проведены в динамике (повторно), а у 10 больных ИМ троекратно.

Результаты и их обсуждение. После введения в культуру со стабильно сокращающимися эксплантатами цельной сыворотки здоровых доноров наблюдаются положительные инотропный и хронотропный эффекты. Амплитуда сокращений увеличивается к 20-й мин наблюдения на $91,0 \pm 4,7\%$, а частота—на $63,0 \pm 3,1\%$ ($P < 0,05$). Следует отметить, что сыворотка здоровых лиц провоцировала также сокращения миокардиальных фрагментов, находящихся еще в стадии покоя после их получения.

При введении сыворотки больных ДКМП наблюдался противоположный эффект—амплитуда сокращений миокардиальных фрагментов заметно убывала, вплоть до остановки. В зависимости от стадии забо-

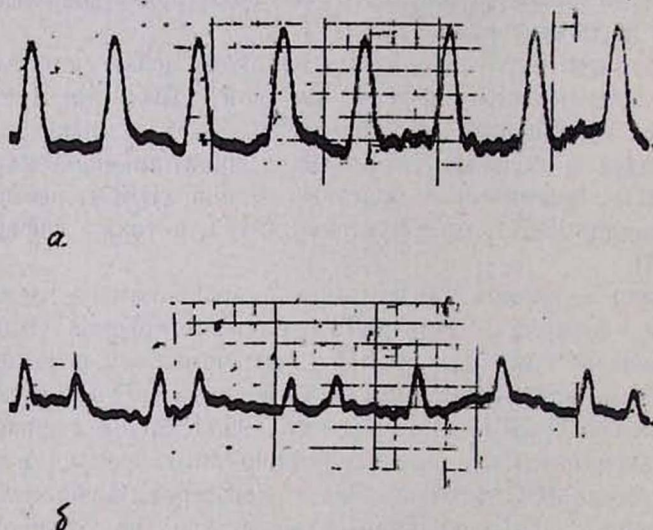


Рис. 1. Фотозлектрограмма сокращений эксплантатов миокарда куриного эмбриона «in vitro» до (а) и после (б) введения в культуру 0,1 мл. сыворотки крови больных ДКМП (20-я мин наблюдения).

левания, с течением времени появляется устойчивая аритмия (рис. 1). Смена среды, как правило, восстанавливала ритмическую активность эксплантатов, что свидетельствует о депрессивном эффекте сыворотки на сократимость миокарда.

Полученные с помощью гель-фильтрации сыворотки крови фракции проверяли на способность изменять сократительную активность. Уста-

новлено, что активными оказались фракции с № 10 по № 16, т. е. по мере уменьшения молекулярного веса белковых фракций их депрессивная активность постепенно возрастает, достигая максимума во фракциях № 12—13. Степень подавления сократительной способности клеток миокарда достигает исходного уровня, т. е. она сравнима с ингибиторной активностью цельной сыворотки. В последующих фракциях кардиоактивность не обнаруживается.

По данным диск-электрофореза испытуемых фракций подавляющий эффект на кардиальный эксплантат оказывали фракции, содержащие большое количество альбумина (№ 12—13). Было показано, что интересующие компоненты выходят в пике с белками, с молекулярным

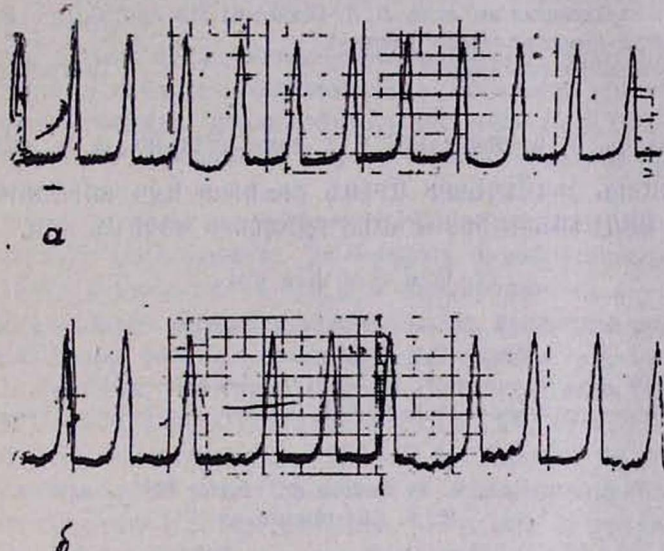


Рис. 2. Фотоэлектрограмма сокращений эксплантатов миокарда куриного эмбриона «in vitro» до (а) и после (б) введения в культуру 0,1 мл сыворотки крови больных ИБС (20-я мин наблюдения).

весом в пределах 60—70 кД. Таким образом, активное начало находится либо в преальбуминовой зоне, либо непосредственно связано с самим альбумином.

Сыворотка больных МК и РП по своему воздействию на сократимость кардиального эксплантата не отличалась от контроля, а сыворотка больных ИБС, наряду со стимулирующим сократительную функцию клеток эксплантата эффектом, обладала также аритмическим действием (рис. 2). Введение сыворотки больных ИМ подавляла сократительную функцию эксплантата в первые 5—7 дней заболевания, затем этот эффект исчезал и не отличался от эффекта сыворотки больных ИБС.

Выводы

1. Сыворотка крови больных различными сердечно-сосудистыми заболеваниями действует неоднозначно на сократимость клеток в культуре эмбрионального миокарда кур.

2. Сыворотка больных ДКМП обладает стабильными депрессивными свойствами и подавляет сократительную активность миокардиальных фрагментов в течение всего периода заболевания, тогда как депрессивный эффект сыворотки больных ИМ выявляется только в течение первых дней заболевания.

3. Кардиоактивный фактор локализован либо в преальбуминовой фракции, либо непосредственно связан с молекулой альбумина.

Институт кардиологии им. акад. Л. А. Оганесяна МЗ Арм. ССР, г. Ереван,
Ереванский государственный институт
усовершенствования врачей

Поступила 10/I 1988 г.

Ն. Ա. ԱՎԱՆՅԱՆ, Ռ. Ա. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Լ. Շ. ՄԵԼԻԿ-ՍԱՀԱԿՅԱՆ, Ռ. Ա. ԶԱՐԳՈՂՅԱՆ

ՍՐՏԱՅԻՆ ՀԻՎԱՆԴՆԵՐԻ ԱՐՅԱՆ ՇԻՃՈՒԿԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՍԱՂՄՆԱՅԻՆ ՍՐՏԱՄԿԱՆԻ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԿԾԿՄԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրված է առողջ անհատների և սիրտ-անոթային հիվանդություններով տառապող հիվանդների արյան շրճուկի ազդեցությունը հավերի սաղմերի սրտամկանային էքսպլանտների կծկման վրա: Հաստատված է, որ սաղմի սրտամկանի կծկման ուժը և հաճախականության փոփոխությունները պայմանավորվում են սրտի ախտահարման ընդլայնումով:

N. A. Avanian, R. A. Gevorkian, L. O. Melik-Shaakian,
R. A. Charehoghlian

Comparative Investigation of the Effect of the Serum of Patients with Cardiac Pathology on the Contractility of the Embryonal Myocardial Cells

Summary

The effect of the blood serum of healthy persons and patients with cardiovascular diseases on the embryo's myocardial explants has been investigated. It is established that the embryonal myocardium, depending on the presence of different cardiac pathologies, does not respond adequately on the influence of the blood serum by rhythmic inotropic characteristics.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ворновицкий Е. Г., Игнатъева В. Б., Марчук А. И., Ленкова Н. А. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1987, 3, 279.
2. Геворкян Р. А. Дисс. канд. Ереван, 1970.
3. Cornman I., Gargus Y. American Journal of Physiology, 1957, 189, 347.