

Р. Ш. МАТЕВОСЯН, Н. Ф. ГУСАКОВА, В. Г. АМАТУНИ, С. А. СИСАКЯН

ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИОКАРДА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОККЛЮЗИИ КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ И ВОЗДЕЙСТВИИ ИНТАЛА

В ряде работ показано положительное влияние препарата интала на капиллярное кровоснабжение сердечной мышцы при нарушении ее коронарного кровоснабжения [5, 6]. Имеются также сведения о механизме противоаллергического и нейротропного действия этого препарата [2, 7, 8]. Наряду с этим, однако, не изучено влияние интала на процессы энергообеспечения сердечной мышцы, нарушение которого играет немаловажную роль в патогенезе сердечной недостаточности при инфаркте миокарда.

Цель настоящего исследования заключается в изучении при экспериментальной окклюзии коронарной артерии влияния интала на активность ряда ферментов в инфарктном и внеинфарктном участках миокарда.

Материал и методы. Опыты поставлены на 45 белых беспородных крысах-самцах весом 150—170 г. I группу составили интактные животные (И). У остальных животных производили перевязку нисходящей ветви левой коронарной артерии. II группа животных была контрольной (К), а животным III группы через 2 часа после окклюзии и в дальнейшем ежедневно вводили интал в дозе 1 мг/кг. Животных забивали декапитацией на 3, 7 и 15-й дни эксперимента. На 10 мкм криостатных срезах миокарда гистохимически исследовали зону некроза, меринекротический и отдаленный участки миокарда. В миокарде определяли активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ)—фермента прямого окисления лактата по методу Нахласа и соавт., цитохромоксидазы (ЦХО)—по методу Ода и соавт., миофибриллярной аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы-Mf—по методу Падикула и Германа и митохондриальной АТФ-азы-Mx—по методу Вахштейна и Мейзеля. Из энергетических субстратов в миокарде гистохимически исследовали гликоген (Гл). Последний определялся в парафиновых срезах после фиксации материала в абсолютном ацетоне при $t = -2 \div -17^\circ\text{C}$ по методу Мак-Мануса. Активность ферментов и содержание субстратов в миокарде оценивали спектрофотометрически [3] и гистометрически визуально-ранговым методом с применением 9-балльной

шкалы [4]. На серийных 20 мкм срезах инкубированных в среде, содержащей нитро-СТ с помощью стереометрического метода [1] определяли площадь инфицированной зоны миокарда, выраженную в процентах по отношению к площади всего среза.

Результаты и обсуждение. В миокарде интактных животных активность ключевого фермента цикла Кребса—СДГ и ЛДГ равнялась $7,0 \pm 0,12$ баллам, ЦХО— $6,0 \pm 0,30$ баллам (табл.). Продукт реакции—формаза при выявлении вышеуказанных окислительно-восстановительных (ОВ) ферментов представлен главным образом мелкими гранулами сине-фиолетового цвета, расположенными упорядоченно вдоль миофибрилл. Основную часть общего формаза при определении активности СДГ и ЛДГ в миокарде составляет диформаза. Активность специфических фосфатаз бала равна $6,0 \pm 0,14$ баллам, а содержание гранул Гл в кардиомиоцитах составляло $4,0 \pm 0,44$ балла.

На 3-й день исследования после окклюзии коронарной артерии относительный размер зоны некроза в миокарде левого желудочка составлял 20,2% (табл.). В этой зоне в большинстве кардиомиоцитов отмечалось отсутствие гранул формаза и Гл, активности специфических фосфатаз (рис. 1 а). В перинекротической зоне кардиомиоциты с пониженной активностью ферментов чередовались с кардиомиоцитами с повышенной их активностью, однако, количество первых преобладало (рис. 1 б). Перинекротическая зона и отдаленные внеинфарктные участки миокарда в целом на этот срок исследования характеризовались снижением активности СДГ и ЛДГ (на 23 и 28% по сравнению с II животными; табл.; рис. 1 в). При этом отмечалось значительное уменьшение количества диформаза (E_2 —0,250 и 0,183 соответственно), сочетающееся с возрастанием количества моноформаза. Возрастание последнего есть результат слабого окислительно-восстановительного потенциала митохондрий и других внутриклеточных структур кардиомиоцитов. Активность ЦХО на этот срок исследования снижалась до $4,0 \pm 0,36$, а АТФ-аза-Mf—до $5,0 \pm 0,37$ баллов (рис. 1 г). Содержание Гл в кардиомиоцитах этих зон уменьшилось до 1 балла. При введении животным интала с 3-дневным нарушением коронарного кровоснабжения отмечалось уменьшение относительного размера зоны некроза у них на 10%. В оставшихся кардиомиоцитах этой зоны и зон вне бассейна лигирования ветви коронарной артерии отмечалась значительная активация СДГ и ЛДГ (увеличение активности по сравнению с К животными соответственно на 52 и 77%; табл.; рис. 1 д, е, ж). Активность ЦХО повышалась до $8,0 \pm 0,14$ баллов. Активность специфических фосфатаз также повышалась, но менее значительно по сравнению с ферментами ОВ ряда ($7,0 \pm 0,51$ баллов; рис. 1 з). Одновременно наблюдалось и увеличение в саркоплазме кардиомиоцитов содержания Гл до $3,0 \pm 0,42$ балла.

Через 7 суток после перевязки венечной артерии размер зоны некроза составлял 19,01%. В пограничных с зоной инфаркта и в сохранившихся в зоне инфаркта кардиомиоцитах активность дегидрогеназ

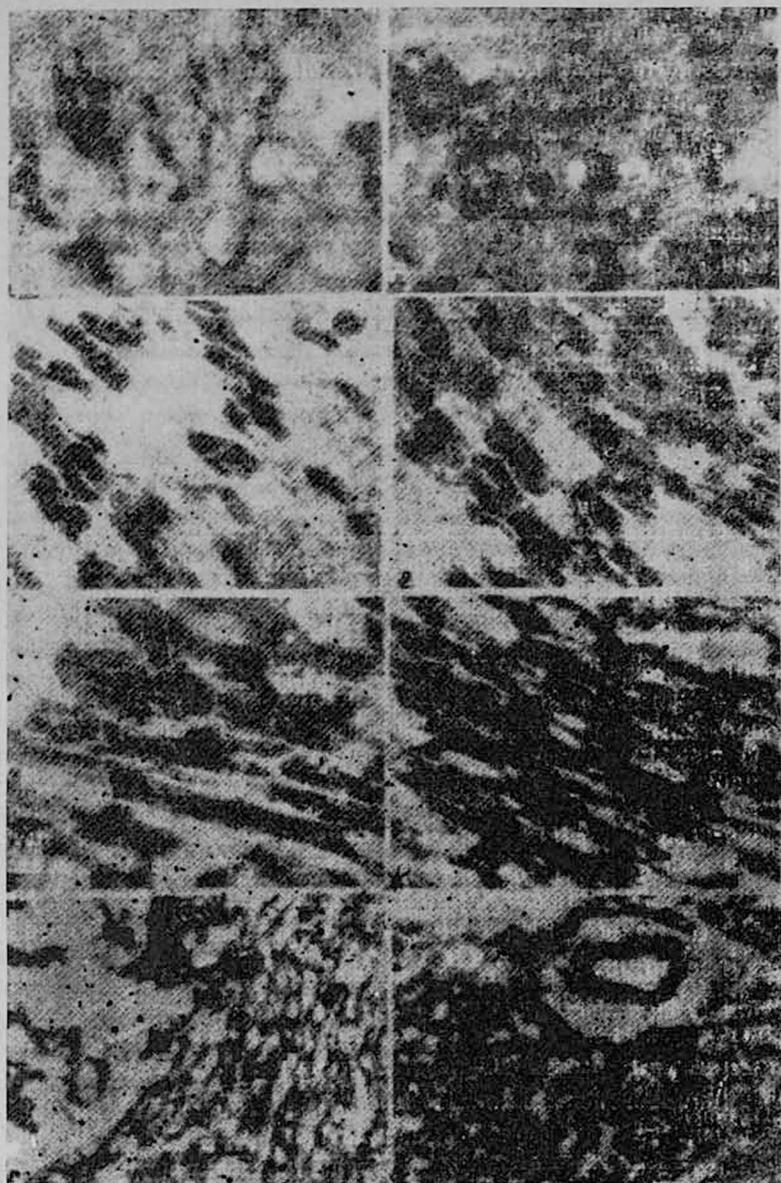


Рис. 1. Изменения активности ферментов энергетических процессов в миокарде при окклюзии нисходящей ветви левой коронарной артерии: а) активность СДГ в кардиомиоцитах инфарктной зоны. 3-й день исследования. Метод Нахласа и соавт. Ок. 7, об. 16; б) активность СДГ в кардиомиоцитах перинфарктной зоны. 3-й день исследования. Ок. 7, об. 16; в) активность СДГ в кардиомиоцитах внеинфарктной зоны. 3-й день исследования. Ок. 7, об. 16; г) активность АТФ-азы-Mg в кардиомиоцитах внеинфарктной зоны. 3-й день исследования. Метод Падикула и Германа. Ок. 7, об. 10; д) активность СДГ в кардиомиоцитах инфарктной зоны при применении нитрата. 3-й день исследования. Ок. 7, об. 16; е) активность СДГ в кардиомиоцитах перинфарктной зоны при применении нитрата. 3-й день исследования. Ок. 7, об. 16; ж) активность СДГ в кардиомиоцитах внеинфарктной зоны при применении нитрата. 3-й день исследования. Ок. 7, об. 16; з) активность АТФ-азы-Mg в кардиомиоцитах внеинфарктной зоны при применении нитрата. Ок. 7, об. 10.

Таблица

Изменение размера зоны некроза и активности дегидрогеназ в миокарде после окклюзии нисходящей ветви данной коронарной артерии и введении на этом фоне нитала

Гистохимические показатели	Дни исследования	I группа		II группа			III группа						
		интактные животные		животные с окклюзией коронарной артерии			животные с окклюзией коронарной артерии, получавшие нитал						
		активность фермента		относительный размер зоны некроза (%)	активность фермента			относительный размер зоны некроза (%)	активность фермента				
		баллы	оптическая плотность —E		баллы	оптическая плотность —E	% от И		% от К	баллы	оптическая плотность —E	% от И	% от К
СДГ	3-й	7±0,12	V ₁ =0,467 V ₂ =0,350 V ₃ =0,066	20,2±0,13	5±0,31	V ₁ =0,350 V ₂ =0,250 V ₃ =0,050	-23* -29* -24*	18,2±0,06	-10	9±0,11	V ₁ =0,583 V ₂ =0,530 V ₃ =0,050	+25* +51* -24*	+52* +112* —
	7-й			19,01±0,19	6±0,27	V ₁ =0,0405 V ₂ =0,320 V ₃ =0,075	-13 -9 +14	15,2±0,13	-20*	9±0,20	V ₁ =0,583 V ₂ =0,530 V ₃ =0,050	+25* +51* 24*	+44* +66* -33*
	15-й			18,5±0,15	7±0,11	V ₁ =0,467 V ₂ =0,350 V ₃ =0,066	— — —	13,3±0,13	-28*	8±0,13	V ₁ =0,525 V ₂ =0,460 V ₃ =0,057	+12 +31* -14	+12 +31* -14
ЛДГ	3-й	7±0,22	V ₁ =0,410 V ₂ =0,325 V ₃ =0,063		5±0,42	V ₁ =0,297 V ₂ =0,183 V ₃ =0,095	-28* -44* +50*			9±0,23	V ₁ =0,625 V ₂ =0,475 V ₃ =0,031	+28* +46* -51*	+77* +160* -67*
	7-й				6±0,33	V ₁ =0,354 V ₂ =0,256 V ₃ =0,075	-24* -21* +19			9±0,14	V ₁ =0,525 V ₂ =0,475 V ₃ =0,031	+28* +46* -51*	+48* +85* -56*
	15-й				7±0,19	V ₁ =0,410 V ₂ =0,325 V ₃ =0,063				8±0,51	V ₁ =0,468 V ₂ =0,402 V ₃ =0,047	+14 +24* -25*	+14 +24* -25*

Примечание: V₁—активность фермента по оптической плотности—E₁ общего формазана (λ=560 нм); V₂—по E₂ диформазана (λ=560 нм); V₃—по E₃ моноформазана (λ=530 нм); звездочка - различие достоверно.

на этот срок исследования была снижена: СДГ—на 13% и ЛДГ—на 24%. Наблюдалось повышение в кардиомиоцитах активности ЦХО, АТФ-аз-Мх и Мf до 6 баллов. Содержание Гл в кардиомиоцитах было равно $2,0 \pm 0,20$ баллам. При введении интала через 7 суток после окклюзии относительный размер зоны некроза уменьшался по сравнению с контролем на 20%. В зоне инфаркта и около него отмечалось возрастание активности в кардиомиоцитах СДГ и ЛДГ соответственно на 44 и 48%. Повышение активности указанных ферментов сопровождалось за счет увеличения в кардиомиоцитах количества диформаза на 66 и 85%. Наряду с усилением энергообразовательных процессов в миокарде при применении интала улучшились и процессы, связанные с утилизацией энергии сократительным миокардом (АТФ-аза-Мf— $7,0 \pm 0,16$ баллов).

Спустя 15 дней после перевязки коронарной артерии относительный размер зоны некроза составлял 18,5%. В этой зоне наблюдалось формирование фиброзного рубца. Положительную гистохимическую реакцию давали стромальные клеточные элементы и сохранившиеся единичные кардиомиоциты. В кардиомиоцитах, расположенных на значительном расстоянии от зоны инфарктирования, активность исследуемых ферментов и содержание Гл не отличались от таковых в II группе животных. На 15-й день эксперимента введение интала также способствовало ферментативной активации в миокарде, но менее выраженной, чем на 3 и 7-е сутки. Так активность СДГ и ЛДГ возросла соответственно на 12 и 14%, ЦХО и специфических фосфатаз повысилась до 7 баллов, а содержание Гл достигло уровня 3 баллов. При этом наблюдалось уменьшение относительного размера зоны некроза на 28% по сравнению с зоной некроза миокарда животных, не применявших интал.

Таким образом, ежедневное введение интала животным с окклюзией коронарной артерии, по сравнению с животными, не получавшими этот препарат, приводит к большому уменьшению площади некротической зоны и к значительной интенсификации в инфарктном и внеинфарктных участках миокарда активности ряда ОВ ферментов, характеризующих энергетические процессы в нем. Положительное влияние интала, хотя и в меньшей степени, сказывалось и на процессах утилизации энергии и обеспечения миокарда энергопластическим субстратом—гликогеном. Указанные обменные изменения наиболее ярко проявлялись в миокарде на 3—7-е сутки после острого нарушения коронарного кровотока и способствовали нормализации энергообмена и сократительной функции миокарда. Описанные в ишемизированном миокарде изменения в энергетическом обмене под воздействием интала могут быть рассмотрены как результат улучшения микроциркуляторного кровоснабжения миокарда [5], так и результат прямого влияния интала на функционально-ферментативную активность соответствующих органелл и внутриклеточных структур кардиомиоцитов.

2. Շ. ՄԱԹԵՎՈՍՅԱՆ, Ն. Յ. ԳՈՒՍԱԿՈՎԱ, Վ. Գ. ԱՄԱՏՈՒՆԻ, Ս. Ս. ՍԻՍԱԿՅԱՆ
ՄՐՏԱՄԿԱՆԻ ՀԻՍՏՈՔԻՄԻԱԿԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ ՊՍԱԿԱԶԵՎ ԱՆՈՒԻ ԽՔԱՆՄԱՆ
ԵՎ ԻՆՏԱԼԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Շույց է արված, որ առնետների մոտ պտակաձև զարկերակի խթանման ժամանակ ինտալի ազդեցությունը նկատվում է սրտամկանի նեկրոտիկ օջախի փոքրացում և օքսիդա-վերականգման ռեակցիաներին մասնակից ֆերմենտների ակտիվության բարձրացում:

Ենթադրվում է, որ ինտալի այդ ազդեցությունը պայմանավորված է սրտամկանի միկրո-շրջանառության կանոնավորմամբ և վերոհիշյալ ֆերմենտների վրա նրա ուղղակի ներգործությամբ:

R. Sh. Matevossian, N. F. Gousakova, V. G. Amatouni, S. A. Sissakian

Histochemical Characteristics of Myocardium at Experimental
Occlusion of Coronary Artery and Intal Influence

S u m m a r y

It is shown that under the influence of intal in rats with occlusion of the coronary artery it is observed the decrease of the necrotic zone's area and intensification of the activity of a number of oxidation-reduction ferments. It is supposed that the effect of intal is a result of improvement of the microcirculation in the myocardium and direct action on the activity of these ferments.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Автандилов Г. Г. Морфометрия в патологии. М., 1973.
2. Быкова А. А., Закс А. С., Евгеева Т. А., Польшанова Г. А. Химико-фармацевтический журнал, 1980, 9, 11—13.
3. Гусакова Н. Ф. Гистометрический физуально-ранговый метод определения активности ферментов и содержания субстратов в тканях. Методические рекомендации. Ереван, 1988.
4. Гусакова Н. Ф. Энергетическое обеспечение сократительной способности миокарда человека в условиях нормы и патологии. Автореф. докт. дисс., М., 1988.
5. Матевосян Р. Ш., Аматауни В. Г., Сисакян С. А., Аракелян И. Г. Кровообращение, 1988, 3, 3—7.
6. Матевосян Р. Ш., Аматауни В. Г. Кардиология, 1989, 5, 94—96.
7. Church M. K. Agents and actions, 1986, 8, 288—293.
8. Davies R. J., Moodley Y. Pharmacol. and Ther. 1982, 3, 279—297.

УДК 616.831—005.4:547.466.3

С. А. МИРЗОЯН, А. Г. ЕКАВЯН

РОЛЬ ПРОИЗВОДНЫХ ГАМК В НЕЙТРАЛИЗАЦИИ
АММИАКА В МОЗГЕ ПРИ ЕГО ИШЕМИИ

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), являясь главным нейротрансмиттером ЦНС образует естественные метаболиты линейного и циклического характера, обладающие высокой физиологической активностью [1, 3, 6, 7], одновременно обнаружена способность эндогенного