

И. О. МАРТИРОСЯН, С. С. ОГАНЕСЯН, Н. А. АРУТЮНЯН, М. М. КУЗНЕЦОВА

АТФ-ФОСФОГИДРОЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ СОКРАТИТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ И ЭКГ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРТРОФИИ СЕРДЦА

На основании существующих в литературе данных о решающем значении дефектов в самом контрактильном аппарате в возникновении недостаточности сердца [6, 12 и др.] можно полагать, что исследование молекулярных свойств миофибриллярных белков прольет свет на основные механизмы перехода сердца от устойчивой гиперфункции к декомпенсации. Имеется небольшое число работ, посвященных исследованию сократительных белков в условиях экспериментальной гипертрофии сердца. Они в основном касаются количественного синтеза и обновления сократительных белков.

Согласно Ф. З. Меерсону [1], гипертрофия сопровождается не только увеличением концентрации миозина и актомиозина, но их более интенсивным обновлением. Другие отрицают усиление обновляемости сократительных белков [7, 8]. В исследованиях Ф. З. Меерсона и сотрудников установлено, что гипертрофия сердца вследствие сужения устья аорты сопровождается повышением АТФ-фосфогидролазной активности миофибрилл сократительных белков. Изучение гидролитической активности миофибрилл гипертрофированного сердца также объясняется активированием АТФ-азы сократительных белков [5].

Остается почти незатронутым вопрос сравнительной оценки сократительной деятельности путем сопоставления результатов электрофизиологических и биохимических исследований.

В настоящей работе приводятся не только данные об АТФ-фосфогидролазной активности очищенных препаратов сократительных белков разных отделов миокарда, но и сделаны сопоставления полученных фактов с ЭКГ гипертрофированного сердца.

Опыты поставлены на кроликах и собаках с сужением устья аорты в стадии устойчивой гиперфункции сердца. Собак оперировали под тиопенталовым наркозом с управляемым дыханием. Левая плевральная полость вскрывалась по четвертому межреберью. Аорта выделялась ниже отхождения левой подключичной артерии. С помощью ушивателя корня легкого продольно прошивалась аорта на 60% просвета. ЭКГ регистрировали до и после коарктации аорты у собак через 2—10 мес., а у кроликов через 10 дней и 3 мес. Проведен также контроль рентгеноскопии. Сократительные белки у собак были исследованы через 8—12 мес., а у кроликов—через 2—3 мес. после появления стеноза аорты.

Миозин выделяли по Мюллеру [11]. Экстрагировали раствором, содержащим 0,3 М KCl, 0,075 М KH_2PO_4 , 0,075 М K_2HPO_4 5×10^{-4} М АТФ, pH — 6,8. После 20-минутного экстрагирования к полученному экстракту добавляли три объема деионизированной воды. Экстракты центрифугировали при 3000 об./мин. Осадок — актомиозин — удаляли. Миозин осаждали добавлением к надосадочной жидкости 6 объемов холодной воды, а осадок разбавляли до объема, равного 150 мл, с добавлением сухого KCl для увеличения ионной силы от 0,06 до 0,5 μ . Затем добавляли АТФ, равную в конечной концентрации 10^{-4} М. Через 10 мин. центрифугировали при 16000 об./мин. в течение 30 мин. Затем белок дважды переосаждали добавлением 11 объемов холодной воды. Полученный раствор диализовали против раствора 0,5 М KCl, содержащего 0,02 М KH_2PO_4 , 0,3 М K_2PO_4 и АТФ 5×10^{-4} М.

Актомиозин выделяли 24-часовым экстрагированием из гомогената раствором 0,5 М KCl, 0,03 М NaHCO_3 , pH 8,4. Белковый экстракт переосаждали трижды. Все процедуры, связанные с выделением белка, производили в холодной комнате. Концентрацию белка определяли по Лоури [9]. АТФ-фосфогидролазную активность миозина определяли в инкубационной смеси, состоящей из 150 мг белка, 10^{-3} М АТФ, 5×10^{-3} М CaCl_2 в трис + HCl буфере pH 7,2, в случае актомиозина pH 9,1.

Отщепленный фосфат определяли по Лоури и Лопесу [10].

Для оценки степени гипертрофии левого желудочка сердца при стенозе аорты мы учитывали изменение комплекса QRS и зубца Т. Определяли изменения зубца R в отведениях I, AVL и левых прекардиальных, зубца S в III, AVF и правых прекардиальных отведениях, зубца Т в I, AVL и левых прекардиальных, а также синдром T_1-T_6 . Анализ полученных данных у собак выявляет, что RS_{III} , S_{AVF} не претерпевают особых изменений в динамике, в то время как остальные критерии подвергаются определенным изменениям (табл. 1). Синдром (T_1-T_6) указывает, что имеется преобладание зубца T_{V-6} что, вероятно, связано с увеличением зубца Т за счет возникающей гипоксии миокарда. Полученные результаты ЭКГ исследования у кроликов представлены в табл. 2. Из этих данных следует, что наиболее четко и статистически достоверно увеличение зубца R в I и левых грудных отведениях, а также зубца S в III отведении. Положительной динамики зубца S в отведениях $AVF_{V_1-V_2}$ нами не выяснено. При сравнении рентгенограмм кроликов до и после сужения аорты (через каждые 10 дней) как в передней, так и в косых положениях отмечается значительное увеличение всех полостей сердца, особенно левого отдела.

В табл. 3, 4 приведены данные АТФ-фосфогидролазной активности актомиозина разных отделов сердца кроликов и собак, а также миозина левого желудочка собак в норме и при экспериментальной гипертрофии. Из данных таблиц следует, что у кроликов через 2—3 мес. после создания экспериментального стеноза аорты АТФ-азная активность

актомиозина левого желудочка увеличивается на 22%, правого — на 10%; у собак через 10—12 мес. АТФ-азная активность актомиозина в левом желудочке увеличивается на 30%. АТФ-азная активность очищенного миозина из левого желудочка у собак увеличена на 35%. Увеличение АТФ-азной активности актомиозина в межжелудочковой перегородке собак статистически недостоверно.

Таблица 1
Среднеарифметические величины ЭКГ критериев левого желудочка у собак

Зубцы ЭКГ	Статистические показатели	До операции	Через 8—10 мес. после операции
R _{AVL}	M	1,08	1,9
	±σ	0,52	0,54
	±m	0,21	0,15
	P	=0,002	<0,001
R _{V5}	M	8,1	11,4
	±σ	3,63	0,45
	±m	1,1	0,54
	P	<0,001	<0,001
S _{V1—V2}	M	11,8	15,7
	±σ	4,39	3,73
	±m	1,4	1,4
	P	<0,001	<0,001
T ₁	M	1,07	-1,1
	±σ	0,67	0,46
	±m	0,26	0,23
	P	<0,002	0,01>P<0,002
T _{AVL}	M	1,43	-2
	±σ	0,48	0,9
	±m	0,19	0,36
	P	<0,001	=0,002
T _{V5}	M	2,3	3,7
	±σ	1,7	2,7
	±m	0,56	1
	P	<0,002	0,02>P>0,01

По данным электрокардиографического исследования, в условиях экспериментального сужения устья аорты развивалась гипертрофия левого желудочка. Последняя была установлена изменением комплекса QRS в соответствующих отведениях; в некоторых случаях зарегистрирована определенная динамика со стороны зубца Т, что, по-видимому, связано с наличием гипоксии миокарда и в связи с этим нарушением нормального хода реполяризации миокарда.

Однако при сопоставлении признаков гипертрофии миокарда, гипоксии его и увеличении АТФ-азной актомиозина в каждом отдельном случае какой-либо зависимости нами не выявлено.

Увеличение размеров сердца, наблюдаемое нами при рассмотрении рентгенограмм у кроликов, является подтверждением данных Ф. З. Меерсона [1] о том, что вес и размеры сердца быстро нарастают уже через 2—7 суток после создания экспериментального стеноза аорты. По-видимому, это представляет собой увеличение массы образующих ее белков. Исследование АТФ-азной активности сократительных белков миокарда показало, что при экспериментальном стенозе аорты изменения наступают не только в левом желудочке, на который падает нагрузка в процессе сократительной работы, но и в правом желудочке. Небольшие изменения АТФ-азной активности в межжелудочковой перегородке указывают на то, что она мало участвует в увеличении напряжения, развиваемого левым желудочком, необходимым для преодоления сопротивления.

При этом большой разброс полученных данных, по-видимому, объясняется суммированием результатов, полученных в растворах белков, в которых возможны заметные индивидуальные колебания АТФ-азной активности.

Таблица 2

Среднесарифметические величины ЭКГ критериев гипертрофии левого желудочка у кроликов

Зубцы ЭКГ	Средние величины амплитуды зубцов в мм		Достоверность полученных данных
	до сужения	после сужения	
R ₁	1,1±0,2	2,6±0,3	t = 5, P<0,001
RAVL	1,6±0,5	2,2±0,4	t = 1,8, P<0,1>0,05
RV ₅ -V ₆	5,4±0,4	6,6±0,2	t = 3,0, P<0,02>0,01
III	2,4±0,1	3,6±0,4	t = 3,0, P<0,02>0,01
SAVF	3,5±0,6	2,3±0,5	
SV ₁ -V ₂	6,6±0,8	4,0±0,6	
T ₁	1,6±0,06	1,4±0,6	
TAVL	0,6±0,1	0,4±0,01	
TV ₅ -V ₆	2,8±0,5	2,5±0,4	
TV ₁ -TV ₆	0,2±0,35	0,4±0,03	

Таким образом, развивающееся в процессе компенсаторной гиперфункции сердца повышение АТФ-азной активности миокарда свидетельствует об увеличении способности миозина дефосфорилировать АТФ и использовать энергию макроэргических связей для осуществления возросшей сократительной деятельности сердца, особенно левого желудочка, который выполняет самую большую сократительную работу. Интересно, что это не приводит к изменению скорости реполяризации мембраны миокардиальных клеток. Изменения ферментативной активности сократительных белков в условиях гипертрофии миокарда, по-видимому, об-

Таблица 3

Гидролиз АТФ актомиозином разных отделов сердца собаки
8—12 мес. КГС, мкг Р/37° (5')

Субстрат	Актомиозин нормального сердца		
	левый желудочек	правый желудочек	межжелуд. перегородка
АТФ-10-3М	22,1±3,9 n=20	24,6±5,9 n=25	23,8±4,3 n=20
АТФ-10-3М	Актомиозин гипертрофированного сердца		
	28,8±7,2 n=25	26,9±7,9 n=25	26,0±5,0 n=20
	0,02>P>0,01	0,01>P>0,001	0,1>P>0,05

Таблица 4

Гидролиз АТФ актомиозином разных отделов сердца кроликов
2—2,5 мес. мкг Р/37° (5')

Субстрат	Актомиозин нормального сердца		
	левый желудочек	правый желудочек	межжелуд. перегородка
АТФ 10-3М	19,0±5,1 n=35	21,8±8,1 n=25	25,8±8,9 n=28
АТФ 10-3М	Актомиозин гипертрофированного сердца		
	22,9±3,4 n=25	24,0±4,3 n=20	27,8±3,2 n=20
	0,02>P>0,01	0,02>P>0,01	0,01>P>0,001
Субстрат	Миозин собаки		
	нормального сердца	гипертрофированного сердца	
	левый желудочек	левый желудочек	
АТФ 10-3М	31,3±2,1 n=30	P<0,001	42,5±2,9 n=30

условлены прежде всего изменениями их молекулярной конформации. Это подтверждается данными об увеличении светопоглощения растворами миозина и актомиозина гипертрофированного сердца ультрафиолетовой области спектра [3, 4].

Согласно нашим предварительным данным [2], усиливается также активизирующее АТФ-азу действие сердечных гликозидов на миоцин гипертрофированного сердца. Это также может служить подтверждением изменения молекулярной структуры сократительных белков в условиях гипертрофии.

Институт кардиологии и сердечной хирургии
Министерства здравоохранения
Армянской ССР

Поступило 24/VII 1967 г.

Ի. Օ. ՄԱՐՏԻՐՈՅԱՆ, Ս. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Ն. Ա. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Մ. Մ. ԿՈՒՋՆԵՑՈՎԱ

ԿԾԿՎՈՂ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ԱՏՖ-ՖՈՍՖՈՀԻԴՐՈՒԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԵՎ ԷԿԳ-Ն ՍՐՏԻ ԷԲՍՊԵՐԻՄԵՆՏԱԼ ՀԻՊԵՐՏՐՈՖԻԱՅԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Հոգվածում բերվում են տվյալներ միոկարդի տարբեր բաժինների կծկվող սպիտակուցների մաքրված պրեպարատների՝ ԱՏՖ-ֆոսֆոհիդրոլազային ակտիվության մասին, և ստացված տվյալները համեմատվում են նորմալ ու հիպերտրոֆիայի ենթարկված սրտի էԿԳ-ի հետ:

Փորձերը դրվել են աորտայի սկզբնական հատվածի ստենոզով ճաքարների և շնների վրա՝ սրտի կայուն հիպերֆունկցիայի ստադիայում:

Ճաքարների մոտ աորտայի էքսպերիմենտալ ստենոզի առաջացումից երկու-երեք ամիս հետո ձախ փորոքից անջատված ակտոմիոգլինի ԱՏՖ-ազայի ակտիվությունը մեծանում է 22%-ով, աջ փորոքում՝ 10%-ով: Շնների մոտ 10—12 ամիս հետո ԱՏՖ-ազայի ակտիվությունը ձախ փորոքում մեծանում է 30%-ով, մաքրված միոգլինը՝ 35%-ով:

ԷԿԳ-ի տվյալներով, զարգանում է ձախ փորոքի հիպերտրոֆիան, որը հաստատվում է համապատասխան արտածումներում կոմպլեքսի փոփոխության միջոցով: Որոշ դեպքերում գրանցվել է որոշակի դինամիկա ատամիկի կողմից, որը, ըստ երևույթին, պայմանավորված է միոկարդում հիպոկսիայի առկայությամբ: Վերջինիս հետևանքով խանգարվում է միոկարդի ռեպոլայզիզացիայի նորմալ ընթացքը:

Այսպիսով, միոկարդի ԱՏՖ-ազայի ակտիվության բարձրացումը սրտի կոմպենսատոր հիպերֆունկցիայի դեպքում վկայում է միոգլինի ԱՏՖ-ը դեֆոսֆորիլացնելու և մակրոէրգիկ կապերի էներգիան օգտագործելու հատկության մասին, որն անհրաժեշտ է հատկապես ձախ փորոքի բարձրացած կծկողական ֆունկցիայի համար, որովհետև այն կատարում է ամենամեծ կծկիչ աշխատանքը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Меерсон Ф. З. Миокард при гиперфункции, гипертрофии и недостаточности сердца. М., 1965.
2. Мартиросян И. О., Аваков С. Н. Вопросы недостаточности миокарда и патологии кровообращения. Ереван, 1966, стр. 25.
3. Манвелян М. А., Бай Н. В., Оганесян С. С. Вопросы недостаточности миокарда и патологии кровообращения. Ереван, 1966, стр. 20.
4. Бабалян Г. В., Оганесян С. С. Вопросы недостаточности миокарда и патологии кровообращения. Ереван, 1966, стр. 25.
5. Aras A., Becer M., Brown A., Hass Y. Fed. Proc., 1961, 20, 1.
6. Bing J. R. Physiolog. Rew., 1965, 45, 171.
7. De Schryver, Gudjarnson C. Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med., 1965, 119, 4, 961.
8. Helander E. Cardiologia, 1965, 47 3, 146.
9. Lowry O. H., Farr A. L., Roseb Rough N. J., Rendall R. J. J. Biol. Chem., 1951, 193, 265.
10. Lowry O., H., Lopes P. L. J. Biol. Chem., 1946, 162, 421.
11. Müller H., Franzen J., Rece P. V., Olson R. E. J. Biol. Chem., 1964, 239, 5, 2153.
12. Olson R. E. Amer. J. Med., 1961, 36, 692.