

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ

На правах рукопису

РОМАНЕЦЬ Світлана Михайлівна

ВПЛИВ ГІПОТЕРМІЇ ТА КАРДІОТРОПНИХ ПРЕПАРАТІВ НА
СЕРЦЕВИЙ РИТМ ТА СТАН β -АДРЕНОРЕЦЕПТОРІВ
МІОКАРДУ У ЩУРІВ

03.00.22. — кріобіологія

А в т о р е ф е р а т

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

ХАРКІВ — 1997



Дисертація є рукопис

Робота виконана в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини
НАН України

Науковий керівник:

д.б.н., проф. Жегунов Г.Ф.

Офіційні опоненти:

д.б.н., проф. Луговий В.Й.

д.м.н., проф. Самохвалов В.Г.

Провідна організація:

Харківський державний
університет (ХДУ), м. Харків

Захист відбудеться 20 травня 1997 р. о 13³⁰ годині на засіданні
спеціалізованої вченої ради Д 50.21.01 при Інституті проблем
кріобіології і кріомедицини НАН України

/310015, Харків-15, вул. Переяславська, 23/

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці
ІПКіК НАН України

Автореферат розісланий "19" квітня 1997 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

д.м.н., проф.

Гольцев А.М.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми

В останні роки значно зростає інтерес до вивчення закономірностей впливу низьких температур на організм теплокровних тварин та людини. Актуальність цієї проблеми обумовлюється її великим загальнобіологічним значенням. Систематичне і поглиблене вивчення гіпотермії, розробка рекомендацій до її застосування дозволяє використовувати її як засіб вибору при неефективності наявних медикаментозних засобів. Позитивні результати застосування лікувальної гіпотермії отримані у хворих на черепно-мозкову травму, захворюваннями ЦНС, при ішемії і гіпоксії, перитоніту і виразкової хвороби, отруєннях барбітуратами, алкоголем, при цирозах печінки, операціях на серці і магістральних судинах, у акушерстві, гінекології та ін. (Грищенко В.И., 1974; Кошнев С.Н., 1985; Мешалкин Е.Н., 1985; Бабийчук Г.А., 1992). Незважаючи на значну кількість робіт, присвячених дослідженню різноманітних аспектів дії холоду на організм, багато які сторони цієї важливої проблеми залишаються до цього часу недостатньо розглянутими. Зокрема, незважаючи на накопичений експериментальний матеріал про вплив холоду на серце як у нашій країні, так і за кордоном, дослідження в цьому напрямку залишаються актуальними і сьогодні. З другого боку, особливе значення набуває проблема впливу гіпотермії на ефективність лікувальних препаратів, застосовуваних при класичних методах лікування вищезазначених патологій, і можливості їх використання сумісно з гіпотермічними методами.

Мета дослідження

Метою даної роботи є вивчення стану електрофізіологічних і адренорецепторних процесів у міокарді щурів і їх взаємодії в умовах

різних режимів гіпотермії, а також при використуванні кардіотропних фармакологічних препаратів.

Задачі дослідження

1. Виявити зміни параметрів електрофізіологічних процесів у міокарді щурів при загальному охолодженні і краніо-церебральній гіпотермії (КЦГ).
2. Дослідити вплив досліджених режимів гіпотермії на функціональний стан β -адренорецепторів (β -АР) міокарду щурів.
3. Вивчити дію гіпотермічних впливів на електрофізіологічні і β -адренорецепторні ефекти ізоптина і обзидана.
4. Визначити ступінь взаємозалежності змін електрофізіологічних і β -адренорецепторних процесів у міокарді при використаних видах впливів.

Наукова новизна

В даній роботі вперше проведено порівняльне дослідження дії різних видів охолодження, а саме загальної та краніо-церебральної гіпотермії, на основні параметри функціональної активності міокарду щурів. Встановлені закономірності змін електрофізіологічних показників серцевого циклу при вивчених впливах. Визначені кінетичні параметри β -АР міокарду (константу дисоціації (K_d) і максимальну кількість рецепторів (B_{max})) при гіпотермії. Проведений кореляційний аналіз взаємозалежності електрофізіологічних і адренорецепторних процесів у серці щурів в умовах використаних експериментальних впливів.

Вперше вивчено вплив різних видів гіпотермії на ефективність дії кардіотропних лікувальних препаратів (ізоптину і обзидану). Виявлені особливості дії цих препаратів на електрофізіологічні процеси у міокарді. Охарактеризовані зміни взаємодії даних речовин з β -АР міокарду в умовах гіпотермії.

Наукова і практична цінність роботи

Одержані результати дозволяють розширити і поглибити існуючі уявлення про механізми впливу гіпотермії на функціональний стан серця. Дослідження адренорецепторних процесів дає можливість пошуку нових засобів регуляції серцевої діяльності в гіпотермічних умовах.

Практична цінність одержаних експериментальних даних полягає в визначенні ефективності дії кардіотропних препаратів на діяльність серця у охолодженому організмі. Це, в свою чергу, дозволяє розробити конкретні рекомендації щодо застосування медикаментозних методів лікування сумісно з гіпотермічними.

Основні положення, що виносяться на захист

1. Як загальна, так і краніо-церебральна гіпотермії викликають взаємопов'язанні зміни електрофізіологічних і адренорецепторних процесів у міокарді щурів. Характер відзначених змін залежить від застосовуваного методу охолодження.
2. При гіпотермії змінюється ефективність, а не направленість дії кардіотропних лікувальних препаратів на діяльність серця, що підтверджується виявленими змінами електрофізіологічних параметрів, а також величин константи дисоціації і максимальної кількості рецепторів.

Апробація роботи

Основні положення дисертаційної роботи були представлені на 19 Міжнародному конгресі по рефрижерації (19th International Congress of Refrigeration, 1995, The Hague, The Netherlands); III Міжнароднім симпозиумі "Адаптація організму в стресових ситуаціях" (1995, м. Геленджик); 4 Міжнародній конференції по тканинним банкам і клінічному застосуванню клітинних і тканинних трансплантантів (4th International Conference on Tissue Banking and

Clinical Application of Cell and Tissue Grafts, 1995, Leuven, Belgium); I З'їзді українського товариства кріобіології і кріомедицини (1995, м. Харків); 33 Щорічна зустріч товариства кріобіології (The 33rd Annual Meeting of the Society for Cryobiology, 1996, Indianapolis, USA).

За результатами досліджень опубліковано 8 друкованих робіт.

Структура дисертації

Матеріали викладені на 115 стор., які вміщують 31 рис., 7 таблиць і список літератури, який включає 138 літературних джерел.

Дисертаційна робота складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень і їх обговорення, заключення, висновків і списку літератури.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Об'єкт і постановка досліджень

Дослідження проводили на 90 самцях білих безпородних щурів масою 180-250 г. Усі щури до початку експерименту утримувались в умовах віварію, одержуючи стандартний раціон і воду.

Білих щурів найчастіше використовують при дослідженнях різних температурних впливів, тому що в них добре виявлені терморегуляційні реакції. З метою стандартизації умов експерименту усі дослідження починались не пізніше 9 години ранку.

Для блокування рефлексорних терморегуляційних реакцій організму експериментальних тварин в процесі охолодження застосовували наркоз, частково гальмуючий центральні механізми контролю терморегуляції. З цією метою до початку експерименту тварин наркотизували внутрішньочеревними ін'єкціями суміші тіопенталнатрію (завод мелпрепаратів, м. Київ, Україна) і оксибутирату на-

трію (хімфармзавод №6, м. Рига, Латвія) з розрахунку 30 і 100 мг/кг маси, відповідно.

Загальну гіпотермію здійснювали зануренням тварини у холодну воду (0-2°C) до того часу, поки ректальна температура не досягне 27°C. Середня швидкість охолодження при цьому складала 1°C/хв. КЦГ здійснювали охолодженням зовнішніх покривів голови холодоносієм (лід) з безпосереднім контактом до досягнення ректальної температури 27°C. В даному випадку тварини охолоджувались зі швидкістю 0,1°C/хв.

Методика ЕКГ досліджень

ЕКГ записували за допомогою ЕК1К-01 у II стандартному відведенні. ЕКГ реєстрували у процесі охолодження тварини через кожний градус зниження температури тіла. Аналізуючи криві ЕКГ, розраховували (в сек.) тривалість інтервалів: від початку хвилі Р до початку зубця Q (час проведення збудження від передсердя до шлуночків); від початку сегменту Р до його закінчення (час розповсюдження збудження по передсердю, а також час деполяризації передсердя); від початку зубця Q до кінця хвилі S (час деполяризації шлуночків); від початку зубця Q до кінця хвилі Т (тривалість електричної систоли шлуночків); від початку хвилі Т до її закінчення (час реполяризації міоцитів шлуночків); від початку зубця Q до початку зубця Р наступного циклу (електрична діастола передсерддій); від кінця хвилі Т до початку зубця Q наступного циклу (електрична діастола шлуночків); від кінця хвилі Т до початку хвилі Р наступного циклу (час загальної діастоли міокарду) і інтервал RR (тривалість серцевого циклу) (Цукерман Б.М., Титомір Л.И., 1980; Рашмер Р., 1981).

Метод визначення кінетичних параметрів β -АР

Вивчення кінетичних параметрів β -АР здійснювали методом рівноважного зв'язування мічного трітїєм дигідроальпренололу (^3H -ДГА) з гомогенатом міоцитів щурів в присутності 10 ммоль/л MgCl_2 . Умови кінетичної рівноваги досягались за 20 хв (Williams L.T., Lefkowitz R.J., 1978). при 25°C. Величину неспецифічного зв'язування визначали у присутності надлишку β -адреноблокатора пропранололу. Розподіл зв'язанного і вільного ліганду здійснювали методом вакуумного фільтрування через скловолокнисті фільтри GF/C ("Whatman", Англія) при температурі 0 — +4°C. Фільтри прораховували за допомогою сцинтиляційного β -спектрометру Beckman LS-7800 (США). Величину специфічного зв'язування визначали за різницею між рівнями тотального і неспецифічного зв'язувань. K_d і V_{max} β -АР обчислювали з використанням метода аналізу кривих в координатах Скетчарда (Варфаломсєв С.Д., 1982). Величину V_{max} виражали в фмоль на мг тканини серця.

Загальний хід експерименту

Тварину важили, наркотизували, реєстрували ЕКГ. За п'ять хвилин до початку охолодження здійснювали премедикацію. Внутрішньочеревним способом вводили обзидан (Veb, Німеччина) або ізоптин (Лек Любляна, Югославія) у дозі 20 мг/кг. Діюча речовина обзидану — 1-ізопропіл-аміно-3-(1-нафтілокси)-2-пропанол гідрохлорид. Діюча речовина ізоптину — 5-[(3,4-діметоксифенетіл)-метіл-аміно]-2-(3,4-діметоксифеніл)-2-ізопропіл-валеронітрилу гідрохлорид. У клінічній практиці дані препарати застосовують як антиаритмики. Гіпотермію здійснювали використовуючи вищезначені методи. Протягом експерименту виміряли температуру тіла тварини у прямій кишці за допомогою мідь-константанової термопари. ЕКГ реєстрували через кожний градус зміни температу-

ри тіла. По досягненні ректальної температури 27°C тварину декапітували, виймали серце. Серце промивали у фізіологічному розчині і гомогенізували 50 секунд при 15 000 обертах на хвилину у середовищі гомогенізації. Наважка органу (1 г) гомогенізувалась в 9 мл 0,25 М розчину сахарози, забуференого трис-НСІ, рН 7,4, після чого визначали кінетичні параметри β -АР як означено вище.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Зміни електрофізіологічних параметрів міокарду щурів при гіпотермії.

Дослідження змін діяльності серця при різних видах охолодження виявили, що електрофізіологічні показники, що відображають фази скорочення (систола) та розслаблення (діастола) міокарду, мають неоднаковий характер змін як при загальній, так і при краніо-церебральній гіпотерміях. КЦГ до ректальної температури 27°C викликає достовірне падіння ЧСС до 205 ± 8 уд/хв, що у 1,6 рази менше від нормотермічного рівня (Рис.1). При даному виді охолодження систоличні характеристики (PQ, P, QS, QT, T) зміню-

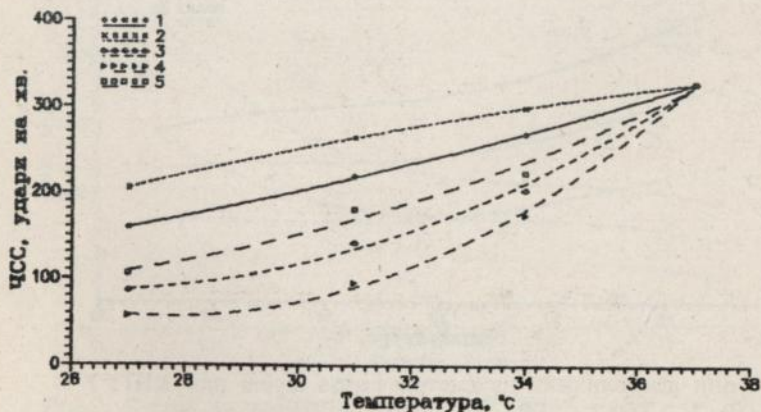


Рис. 1. Зміни ЧСС при експериментальних впливах: 1 — загальна гіпотермія; 2 — КЦГ; 3 — загальна гіпотермія + ізоптин; 4 — загальна гіпотермія + обзидан; 5 — КЦГ + ізоптин.

ються практично монотонно. Виключенням є процеси деполяризації і реполяризації передсердя (P), деполяризації шлуночків (QS), котрі у наших умовах експерименту достовірно не змінюються (Табл.1). Діастолічні показники міокарду (QP, TQ, TP) при КЦГ змінюються плавно до 30-32°C, потім різко зростають в 1.8, 1.8 і 1.9 рази відповідно (Рис.2, Табл.2). При охолодженні всього організму тварин загальний характер і направленість змін показників ЕКГ

Табл.1. Зміни систолічних параметрів міокарду шурів при гіпотермії до ректальної температури 27°C.

ТЕМПЕРАТУРНІ ВПЛИВИ	PQ, с	P, с	QS, с	QT, с	T, с
НОРМА	0.043±0.0009	0.010±0.0003	0.018±0.0005	0.079±0.0020	0.061±0.0020
КЦГ	0.072±0.0070*	0.012±0.0009	0.020±0.0020	0.141±0.0120*	0.122±0.0110*
ЗАГАЛЬНА ГІПОТЕРМІЯ	0.073±0.0010*	0.011±0.0009	0.023±0.0030	0.158±0.0200*	0.135±0.0170*

* $p < 0.05$ відносно норми

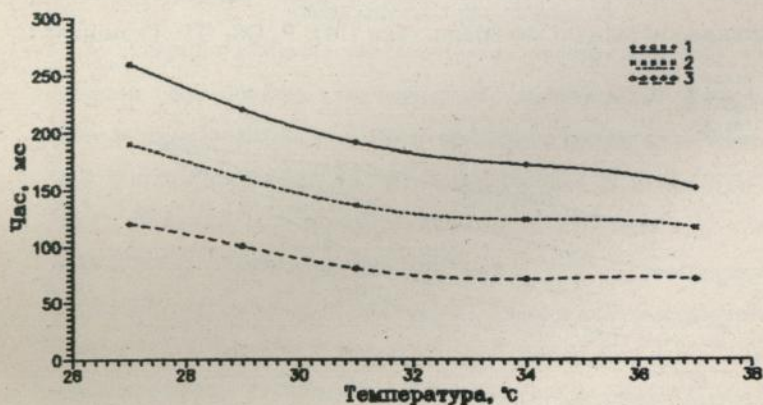


Рис.2. Зміни діастолічних параметрів серця шурів при КЦГ: 1 — QP; 2 — TQ; 3 — TP.

відповідають тим, що спостерігаються при КЦГ (Рис.1). У даних умовах ЧСС достовірно знижується і сягає значення 159 ± 12 уд/хв,

що в 2.1 рази менше контрольного рівня. Час проведення збудження по атривентрикулярній ділянці міокарду (інт. PQ) достовірно зростає в 1.7 рази в порівнянні з нормотермією. Інтервал QS збільшується в 1.3 рази. В більшій мірі сповільнюються процеси, що виражені на ЕКГ інтервалом QT і зубцем Т — у 2.0 і 2.2 рази відповідно (Табл.1). Графік, відображаючий зміну діастолічних показників при загальній гіпотермії, має ту саму направленість,

Табл.2. Зміни діастолічних параметрів міокарду шурів при гіпотермії до ректальної температури 27°C.

ТЕМПЕРАТУРНІ ВПЛИВИ	QR, с	TQ, с	TP, с
НОРМА	0.142±0.004	0.106±0.004	0.063±0.003
КЦГ	0.251±0.010*	0.191±0.002*	0.12±0.005*
ЗАГАЛЬНА ГІПОТЕРМІЯ	0.474±0.113*	0.281±0.027*	0.208±0.026*

* $p < 0.05$ відносно норми

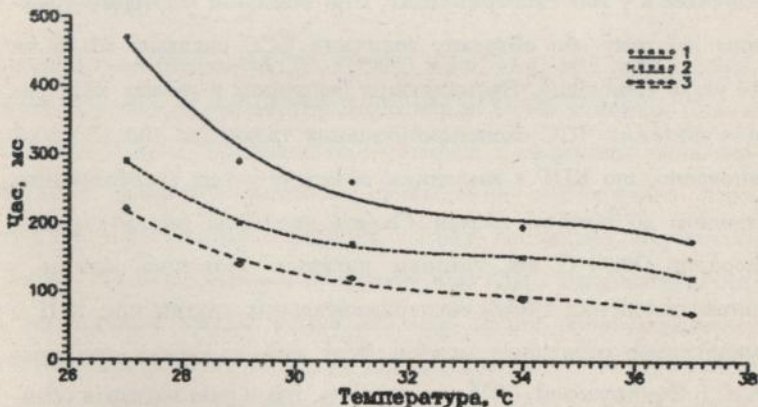


Рис.3. Зміни діастолічних показників серця шурів при загальній гіпотермії: 1 — QR; 2 — TQ; 3 — TP.

що і при КЦГ. Проте точка перегину кривих зміщена до області більш низьких температур — 28-29°C (Рис.3).

Порівнюючи вплив різних видів охолодження на серце щурів, можна зробити висновок про те, що загальна гіпотермія є більш сильним екстремальним діянням, ніж КЦГ. Такий метод охолодження приводить до швидких та більш значних змін електрофізіологічних показників міокарду щурів. В той же час направленість цих змін однакова при обох методах охолодження. Виходячи з приведених даних, можна припустити, що найменш чутливими до зниження температури є процеси розповсюдження збудження по передсердям, атріовентрикулярній ділянці і міокарду шлуночків. В той же час, найбільш схильні до порушень при охолодженні процеси реполяризації міоцитів шлуночків.

Вплив кардіотропних лікувальних препаратів на електрофізіологію серця щурів при гіпотермії

Вивчаючи зміни електрофізіології міокарду щурів при їх охолодженні з премедикацією вивченими фармпрепаратами, були виявлені деякі особливості. ЧСС досліджуваних тварин вірогідно зменшувалась у всіх експериментах. При загальній гіпотермії з введенням ізоптину або обзидану величина ЧСС складала 86 ± 36 чи 57 ± 14 уд/хв відповідно. Премедикація ізоптином в умовах КЦГ доводила значення ЧСС експериментальних тварин до 106 ± 12 уд/хв. Встановлено, що КЦГ з введенням обзидану у всіх експериментах призводила до загибелі тварин. Смерть наступала при ректальній температурі $30-31^{\circ}\text{C}$ від зупинки дихання. Можливо, одним з варіантів пояснення гибелі експериментальних тварин при КЦГ з премедикацією обзиданом можуть бути дані клінічних спостережень С.Б.Французової, 1976, які свідчать, що в ряді випадків обзидан може справити негативний вплив, призводячи до зниження скоротливої функції серця і підвищення тонуусу бронхіальної мускулатури. Слід відзначити, що зміни діастолічних показників серця

щурів при охолодженні з ізоптином і обзиданом мали схожий характер. Так, найбільше зростання діастолічні показники зазнають при введенні обзидану в умовах обох видів гіпотермії (Рис.4). Введення обзидану щурам в умовах загального охолодження виклика-

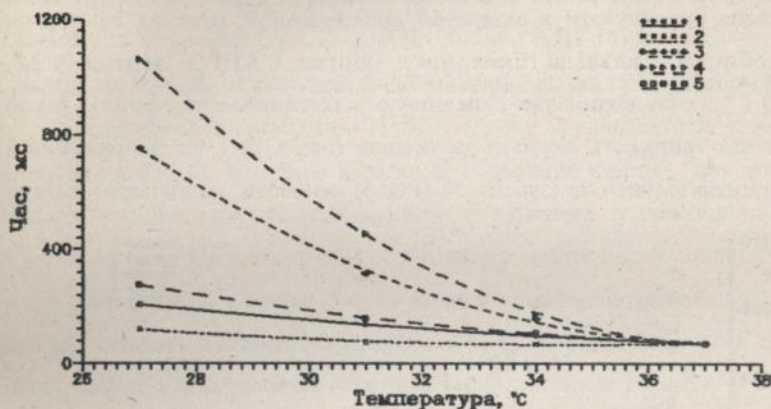


Рис.4. Зміни інтервалу ТР при експериментальних дійннях: 1 — загальна гіпотермія; 2 — КЦГ; 3 — загальна гіпотермія + ізоптин; 4 — загальна гіпотермія + обзидан; 5 — КЦГ + ізоптин.

ло подовження інтервалів QR, TP, TQ в 8.6, 15.1, 10.5 разу в порівнянні з контролем, відповідно. Дещо менші зміни викликає премедикація ізоптином. Так, загальна гіпотермія з введенням даної кардіотропної речовини викликала збільшення діастолічних параметрів (інт. QR, TP, TQ) в 6.5, 10.8, 7.3 разу відповідно. Порівнюючи зміни, що викликаються ізоптином при КЦГ, з нормотермічними значеннями, можна відзначити, що вплив даного фармакологічного агента менш значний, ніж дія обзидану. Так, тривалість інтервалів QR, TP і TQ збільшувалась в 3.6, 4.0 і 3.1 разу в порівнянні з контролем, відповідно.

На відміну від означених вище змін діастолічних показників в умовах обох видів гіпотермії з використанням фармакологічного

впливу, інтервали, що характеризують різні систоличні процеси, змінюються неоднаково. Так, тривалість атріовентрикулярної провідності (інт. PQ) змінюється подібно до діастолічних показників, тобто по силі справляючої дії експериментальні впливи можна розгашувати в слідуючій послідовності: загальна гіпотермія + обзидан > загальна гіпотермія + ізоптин > КЦГ + ізоптин (у 2.6, 1.9 і 1.5 разу відповідно перевищують контрольні значення). В той же час тривалість систоли шлуночків (інт. QT) і час реполяризації міоцитів шлуночків (зубець T) (Рис.5) зазнають найбільших змін в

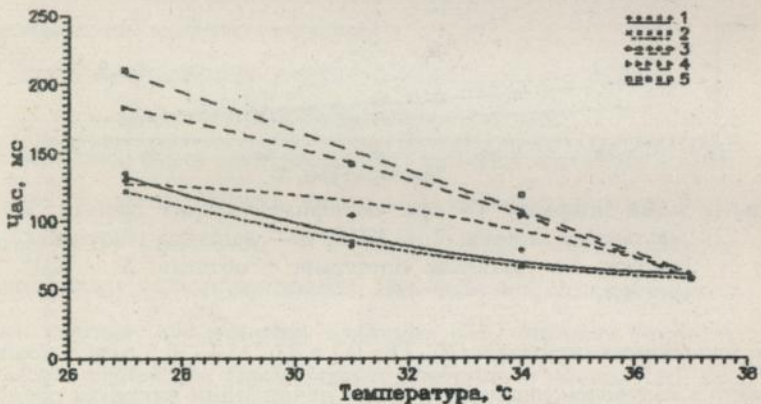


Рис.5. Зміни інтервалу T при експериментальних впливах: 1 — загальна гіпотермія; 2 — КЦГ; 3 — загальна гіпотермія + ізоптин; 4 — загальна гіпотермія + обзидан; 5 — КЦГ + ізоптин.

умовах КЦГ з введенням ізоптину (в 3.1 і 3.6 разу відповідно більше контролю). Необхідно відзначити, що на відміну від діастолічних показників, систоличні параметри в умовах обох видів гіпотермії з введенням як ізоптину, так і обзидану, лише незначно відрізняються від величин, отриманих при впливі даних видів охолодження без фармакологічних агентів.

Таким чином, найбільші зміни серцевого циклу взагалі і більшості його інтервалів спостерігаються при загальному охолодженні організму на фоні введення обзидану. Проте, процес передсердної провідності виявився найбільш чутливим до поєднання таких експериментальних впливів як загальна гіпотермія і введення ізоптину, а інтервали QT і T — до поєднання КЦГ і ізоптину.

Зміни кінетичних параметрів β -АР міокарду шурів при гіпотермії

Специфічне зв'язування ^3H -ДГА з β -АР кардіоміоцитів шурів у нормотермічних умовах є швидкий, оборотний процес, що повністю насичується. Аналіз кривих зв'язування у координатах Скетчарда виявив, що клітини серця шурів мають значну кількість місць зв'язування, а також досить високу спорідненість до ліганду, про що свідчать значення V_{\max} і K_d (Табл.3). Крива зв'язування даного ліганду у координатах Скетчарда має лінійний низхідний характер, що свідчить про гомогенний пул зв'язуючих місць досліджуваних рецепторів. У наших дослідженнях встановлено, що різні види гіпотермії неоднаково впливають на кінетичні параметри специфічного зв'язування ^3H -ДГА β -АР міокарду шурів. Так, загальна гіпотермія призводить до достовірного збільшення кількості місць зв'язування ліганду, про що свідчить зростання значення V_{\max} у 2.3 рази (Табл.3). При цьому спорідненість АР до ліганду практично не відрізняється від нормотермічного рівня. З іншого боку, при КЦГ спостерігається достовірне збільшення спорідненості β -АР до використаного ліганду (K_d зменшується у 1.9 рази), тоді як кількість місць зв'язування ^3H -ДГА не змінюється в порівнянні з нормотермічним рівнем. Узагальнюючи вищезначені експериментальні дані, можна зробити висновок про те, що як загальна, так і краніо-церебральна гіпотермії призводять до збільшення швидкості зв'язування ^3H -ДГА β -АР міокарду шурів.

Однак, при загальному охолодженні цей ефект досягається за рахунок збільшення насичуючої ємності пулу β -АР міокарду, а при КЦГ той же ефект досягається за рахунок зростання спорідненості β -АР до даного ліганду.

Вплив кардіотропних лікувальних препаратів на становище β -АР міокарду шурів при гіпотермії

Аналогічно електрофізіологічній частині наших досліджень, наступним етапом стало вивчення впливу кардіотропних лікувальних препаратів на кінетичні параметри реакції зв'язування ^3H -ДГА β -АР у нормотермічних умовах. Виявлено, що введення ізоптину призводить до зменшення кількості місць зв'язування ліганду (значення B_{max} знижується з 0.94 ± 0.15 до 0.65 ± 0.033 фмоль) і до збільшення спорідненості β -АР до ^3H -ДГА (величина K_d зменшується з 8.65 ± 1.1 до 6.35 ± 1.9 пмоль), однак ці зміни не мають статистично вірогідного характеру (Табл.3).

Наші результати підтверджуються даними, що опубліковані у роботі R.D.Feldman et al., 1985. Вони встановили, що застосування ізоптину *in vivo* призводить до збільшення спорідненості β -АР лімфоцитів людини до агоністів на 41%. Автори підкреслюють, що зміна параметрів β -АР може бути зумовлена не тільки прямою взаємодією ізоптину з рецепторами, але ще й опосередковано через зміну рівня катехоламінів у плазмі крові.

Застосування обзидану в умовах нормотермії призводить до змін кінетичних параметрів β -АР, що мають зовсім протилежний напрямок в порівнянні до дії ізоптину. Дійсно, у цих експериментах спостерігається збільшення максимальної кількості β -АР з 0.94 ± 0.15 до 1.61 ± 0.57 фмоль і зростання величини K_d з 8.65 ± 1.1 до 12.02 ± 3.8 пмоль, однак, як і у випадку з ізоптином, зміни не мають

Табл. 3. Зміни кінетичних параметрів β -АР міокарду шурів при експериментальних впливах.

ВПЛИВИ	V_{max} , фмоль	K_d , пмоль
НОРМОТЕРМІЯ	0.94±0.150	8.65±1.10
НОРМОТЕРМІЯ+ІЗОПТИН	0.65±0.033	6.35±1.90
НОРМОТЕРМІЯ+ОБЗИДАН	1.61±0.570	12.02±3.80
ЗАГАЛЬНА ГІПОТЕРМІЯ	2.14±0.150*	9.92±0.48
ЗАГАЛЬНА ГІПОТЕРМІЯ+ІЗОПТИН	1.37±0.240***	8.88±1.80
ЗАГАЛЬНА ГІПОТЕРМІЯ+ОБЗИДАН	0.53±0.056*.***	3.15±0.53*.***
КЦГ	1.1±0.230	4.64±0.55*
КЦГ+ІЗОПТИН	2.1±0.520*	20.63±6.80 ^{♦♦}

* $p < 0.05$ відносно норми

♦♦ $p < 0.05$ відносно КЦГ

*** $p < 0.05$ відносно загальної гіпотермії

достовірного характеру (Табл.3). Одержані нами результати погоджуються з результатами цілого ряду робіт (П.В.Сергеев, Н.Л.Шимановський, 1987; О.М.Авакян, 1988), в яких вказується на збільшення кількості місць зв'язування агоністів β -АР за дії обзидану у середньому в 1.5-2 разу. Дані про зміниння K_d , що зустрічаються у цих джерелах, дуже суперечливі.

Обговорюючи результати досліджень сумісної дії гіпотермії і фармакологічних агентів на становище β -АР, необхідно відзначити, що у доступній літературі нам не вдалося виявити даних про подібні експерименти. Вивчаючи кінетику зв'язування 3H -ДГА β -АР серця шурів при загальному охолодженні тварин на фоні попереднього введення фармакологічних препаратів відмічені такі зміни. Загальна гіпотермія з використанням ізоптину призводить до

збільшення максимальної кількості β -АР відносно нормотермічного рівня, яке, однак, не є статистично достовірним (Табл.3). В той же час, значення V_{\max} за цих умов (1.37 ± 0.24 фмоль) достовірно менше, ніж при загальній гіпотермії без використання фармакологічної премедикації (2.14 ± 0.15 фмоль). Встановлено, також, що даний двофакторний вплив практично не викликає змін спорідненості β -АР до агоністу в порівнянні як до нормотермії, так і до традиційного режиму загального охолодження організму (Табл.3). Дослідження стану β -АР міокарду при загальній гіпотермії з попереднім введенням обзидану виявили, що у даному випадку спостерігається достовірне зменшення кількості місць зв'язування і величини K_d відносно як до норми (у 1.8 і 2.7 рази відповідно), так і до загальної гіпотермії (у 4 і 3.1 рази відповідно) (Табл.3). В аналогічних дослідженнях із застосуванням режиму КЦГ встановлено, що введення ізоптину призводить до достовірного збільшення у 2.2 разу кількості місць зв'язування агоністу відносно контролю. При цьому спостерігається також збільшення значення K_d , яке є достовірним відносно КЦГ (Табл.3). Як означено вище, КЦГ з премедикацією обзиданом викликає загибель тварин у інтервалі температур тіла $30-31^\circ\text{C}$, обумовлену зупинкою дихання. В зв'язку з цим нам не вдалося вивчити функціональне становище β -АР серця шурів при даному виді експериментального впливу.

На основі одержаних результатів можна зробити висновок про те, що регуляція функціонального стану системи β -АР міокарду шурів за досліджених умов здійснюється через активацію тільки одного з двох можливих механізмів: або збільшенням спорідненості рецепторів до ліганду, або зростанням V_{\max} . Однонаправлених змін даних показників (збільшення або зменшення кількості місць зв'язування і спорідненості одночасно) нами не було виявлено.

Підводячи підсумок проведеним дослідженням, слід відзначити, що зміни електрофізіологічних показників серцевої діяльності і біохімічних параметрів β -АР є взаємозалежними процесами. Проведений нами лінійний кореляційний аналіз відмічених змін (Табл.4) показав, що існує достовірна лінійна кореляція між більшістю досліджених електрофізіологічних показників і кінетичними параметрами β -АР. Лінійність кореляції, яка спостерігалась, менш виражена для показників, що відображають суто електричні мембранні процеси, а саме тривалості передсердної (зубець Р) та внутришньошлуночкової (комплекс QRS) провідностей.

Табл.4. Коефіцієнти кореляції кінетичних параметрів АР і електрофізіологічних показників міокарду шурів.

	QP	P	PQ	RR	QS	QT	T	TQ	TP
V_{\max}	1.0	0.89	1.0	1.0	0.82	1.0	1.0	1.0	1.0
K_d	-1.0	-0.89	-1.0	-1.0	-0.82	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0

З нашої точки зору, біологічне розуміння кореляції, яка відмічалась, полягає в тому, що будь-яке зовнішнє діяння, збільшуюче тривалість інтервалів серцевого циклу, запускає комплекс реакцій, що призводять до підвищення ефективності рецепторного зв'язування гормонів або медіаторів, які можуть усунути зрушення, що спостерігаються у цьому випадку.

ВИСНОВКИ

1. Загальна гіпотермія в порівнянні з КЦГ викликає одностороннє, але більш значні і швидкі зміни електрофізіологічних параметрів міокарду шурів. Найбільш чутливими до дії гіпотермії є процеси реполяризації міоцитів шлуночків, а

найбільш стійкими — процеси розповсюдження збудження по передсердиям, атривентрикулярній області і міокарду шлуночків.

2. Направленість змін електрофізіологічних параметрів міокарду щурів, що викликані введенням ізоптину або обзидану, при гіпотермії не змінюється. Вплив обзидану в умовах зниженої температури посилюється, а в разі КЦГ призводить до летальних наслідків. Гіпотермія збільшує вплив ізоптину на діастолічні показники, тоді як його дія на систолічні процеси міокарду зменшується.
3. Як загальна гіпотермія, так і КЦГ призводять до збільшення зв'язування ^3H -ДГА β -АР міокарду щурів. Даний ефект досягається або за рахунок зростання кількості β -АР мембран міоцитів при загальному охолодженні, або за рахунок збільшення спорідненості β -АР до ліганду при КЦГ.
4. Загальна гіпотермія з премедикацією ізоптином призводить до значного підвищення ефективності зв'язування ^3H -ДГА β -АР міокарду щурів шляхом збільшення кількості β -АР. Загальна гіпотермія з премедикацією обзиданом або КЦГ на фоні введення ізоптину не викликають значних зрушень ефективності зв'язування ліганду, однак стан β -АР характеризується достовірно зниженими (у першому випадку) або підвищеними (у другому випадку) значеннями K_d і V_{max} .
5. Встановлена кореляція між кінетичними параметрами β -АР і електрофізіологічними показниками міокарду щурів свідчить, що зміни цих параметрів є взаємозалежними процесами. Модифікація стану β -АР є компенсаторною реакцією на збільшення тривалості серцевого циклу при фармакологічному впливі і зниженні температури тіла гварин.

Перелік робіт, опублікованих за темою дисертації

1. Романец С.М., Жегунов Г.Ф., Бабійчук Г.А. Сравнительное изучение электрофизиологических показателей сердца крыс при общей и краниоцеребральной гипотермии //Вестник проблем современной медицины, 1994. — Вып. 9. — С. 65-69.
2. Романец С.М. Изучение температурной зависимости изменений электрофизиологических показателей сердца крыс при краниоцеребральной гипотермии //Проблемы криобиологии, 1995. — № 4. — С. 41-44.
3. Романец С.М. Особенности действия мембранотропных препаратов на сердечный цикл в условиях общей гипотермии //Проблемы криобиологии, 1996. — № 2. — С. 45-48.
4. Романец К.М., Романец С.М. Реакция некоторых систем организма на экстремальное охлаждение //Тез. докл. III Межд. симп. "Адаптация организма при стрессовых ситуациях", 11-14 октября 1995 г., г. Геленджик.
5. Романец С.М., Романец К.М., Бабійчук Г.А., Жегунов Г.Ф., Скорняков Б.А., Гирич С.О. Исследование состояния некоторых систем организма при экстремальном охлаждении //Тез. докл. I Съезда укр. тов. криобиол. и криомед., 18-20 октября 1995 г., Харьков. — С. 213-215.
6. Romanets S.M., Zhegunov G.F., Babiychuk G.A. New knowledge on effect of hypothermia on heart functioning //Abst. 19th International Congress of Refrigeration, August 20-25, 1995, The Hague, The Netherlands. — P. 44.
7. Romanets S.M., Babiychuk G.A., Zhegunov G.F. Alterations in electrophysiological and beta-adrenergic processes in the myocardium during hypothermic treatment //Abst. 4th International Conference on

Tissue Banking and Clinical Application of Cell and Tissue Grafts,
October 16-18, 1995, Leuven, Belgium.

8. Babichuk G.A., Skornyakov B.A., Romanets K.M., Romanets S.M.
Effect of hypothermia and cryoprotectants on kinetic processes in vivo
and in vitro studies //Abst. 33rd Annual Meeting of the Society for
Cryobiology, August 17-21, 1996, Indianapolis, USA. — P. 159.

Reef-

Романец С.М. "Влияние гипотермии на сердечный ритм у животных". Рукопись диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.22 — "криобиология". Защита диссертации состоится в ИПКиК НАН Украины, г. Харьков, 1997 г. В работе исследовалось влияние общей и кранио-церебральной гипотермий на состояние электрофизиологических и адренорецепторных процессов в миокарде крыс, а также на эффективность действия кардиотропных лекарственных препаратов. Установлено, что наиболее чувствительными к действию гипотермии являются процессы реполяризации миоцитов желудочков, а наиболее устойчивыми — процессы распространения возбуждения по предсердиям, атриовентрикулярной области и миокарду желудочков. Направленность изменений электрофизиологических параметров миокарда крыс, вызываемых введением изоптина или обзидана, при гипотермии не изменяется. Как общая гипотермия, так и КЦГ приводят к увеличению связывания ^3H -ДГА β -АР миокарда крыс. Установлена линейная корреляция между изменениями кинетических параметров β -АР и электрофизиологических показателей миокарда крыс.

S.M.Romanets "Effect of hypothermia on the animal heart rhythm". Manuscript of thesis for a candidate's degree from biology according to speciality 03.00.22 — "cryobiology" is submitted to defence. Defence of the thesis will take place in Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of Ukrainian Academy of Sciences, Kharkov, in 1997. The effect of total and cranio-cerebral hypothermia on the state of electrophysiologic and adrenoreceptor processes in rat myocardium, and on the cardiotropic drugs efficacy was studied. It has been found that processes of ventricle myocyte repolarization are most sensitive to the hypothermia action, and that processes of excitation conducting through the atrium, atrioventricle region and ventricle myocard are most stable. The direction of alteration of the rats myocardium electrophysiological parameters, that induced by isoptin or obsidan injections, did not changes. Both total hypothermia and CCH result in increase of ^3H -DHA binding by rats myocardium β -adrenoreceptors. The lineal correlation between β -adrenoreceptors kinetic parameter changes and alterations of rats myocardium electrophysiological parameters has been observed.

Ключові слова: загальна та краніо-церебральна гіпотермія, міокард, електрофізіологія, β -адренорецептори, ізоптин, обзидан.

Ав 37.556
АВ 37.556

Відповідальний за випуск — академік НАН України В.І.Грищенко

Підписано до друку 1 квітня 1997 р. Умовн.-друк. арк. 1. Зам. 12-97

Тираж 100 екз. Ротапринт ФПІНТ НАНУ, м. Харків.

Безкоштовно.
