

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕРДЦА И ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В МИОКАРДЕ ДЕСИМПАТИЗИРОВАННЫХ КРЫС: МОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ Б-ТОКОФЕРОЛА, ФИЗИЧЕСКОЙ ТРЕНИРОВКИ И ИХ СОЧЕТАНИЯ

Исследовано влияние десимпатизации гуанетидином на морфометрические характеристики миокарда и показатели перекисного окисления липидов у крыс, развивавшихся в условиях обычного двигательного режима и систематической физической нагрузки. Дефицит симпатических нервных влияний (ДСНВ) вызывает снижение абсолютной массы сердца, сокращение количества кардиомиоцитов в единице массы миокарда, а также снижение интенсивности процессов перекисного окисления липидов в миокарде. В условиях ДСНВ адаптация к систематической физической нагрузке сопровождается уменьшением массы сердца и количества кардиомиоцитов в миокарде при значительном усилении перекисного окисления липидов. Сочетание физической тренировки и введения б-токоферола у крыс с ДСНВ способствует нормализации весовых показателей сердца и интенсивности перекисного окисления липидов в миокарде.

**Ключевые слова:** десимпатизация, крысы, б-токоферол, физическая тренировка, миокард, кардиомиоциты, перекисное окисление липидов.

Моделирование дефицита симпатических нервных влияний (ДСНВ) используется для изучения роли симпатической нервной системы в регуляции функций организма. В экспериментальных условиях для этого применяют гуанетидин, который способен вытеснить норадреналин из симпатических нервных окончаний и вызывать гибель до 90-95% нейроцитов в симпатических узлах крыс [15, 24]. Показано, что уменьшение содержания норадреналина в миокарде животных с ДСНВ вызывает ослабление сократительной способности миокарда и снижение ударного объема крови [1, 8], нарушение белкового и липидного обмена [3, 9] и отрицательно влияет на процессы репаративной регенерации миокарда [5]. У таких животных в результате физической тренировки не формируется гипертрофия миокарда [25], не происходит увеличения ударного объема крови [12]. Но другие авторы считают, что десимпатизация не отражается на морфофункциональном состоянии миокарда [2], даже вызывает гипертрофические изменения кардиомиоцитов [14]. Несмотря на констатацию факта о низких функциональных возможностях животных с ДСНВ [12, 15], причины и механизмы ослабления адаптивных возможностей таких животных на уровне миокарда изучены недостаточно и в ряде случаев противоречивы. Согласно данным литературы [4] снижение физической работоспособности животных в эксперименте коррелирует с ростом продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в орга-

низме, вместе с тем сведения об уровне ПОЛ у крыс с ДСНВ единичны [26], а данные о ПОЛ при выполнении такими животными физических нагрузок в доступной литературе отсутствуют.

В связи с этим целью нашей работы было выявление изменений морфометрических характеристик миокарда и показателей ПОЛ у крыс с дефицитом симпатических нервных влияний и оценка возможности их коррекции введением б-токоферола и физической тренировкой.

### Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 50 беспородных белых крысах-самцах, содержащихся в стандартных условиях вивария. Дефицит симпатических нервных влияний создавали путем подкожного введения гуанетидина в дозе 40 мг/кг массы тела в течение первых трех недель постнатального онтогенеза [15]. Половина животных в период десимпатизации (на 2-3-й неделях жизни) и после ее завершения (на 5-6, 10-11, 14-15-й неделях жизни) получала б-токоферол (ТФ) per os в виде 10%-го масляного раствора D,L-б-токоферолацетата в дозе 10 мг/кг массы тела. С пятой недели жизни половина животных из групп Д и ДТФ подвергалась мышечным тренировкам (Тр) путем принудительного плавания методом ступенчатого повышения нагрузки [16]. Острые опыты были проведены на животных, достигших 15-недельного возраста.

Для количественной характеристики морфофункционального состояния миокарда на органном уровне определяли абсолютную массу свежеснятого сердца. Кусочек ткани из стенки левого желудочка фиксировали в 10%-м нейтральном формалине. Для выяснения численности популяции кардиомиоцитов применяли метод щелочной диссоциации фиксированного миокарда [17]. Сплошной подсчет кардиомиоцитов из одного образца ткани проводили в шести последовательно заполняемых суспензией камерах Фукса - Розенталя. Концентрацию кардиомиоцитов (КМЦ) в 1 мг ткани сердца определяли по формуле:

$$N = (X \times V \times 10^3) / (V_k \times m),$$

где X – среднее число кардиомиоцитов в одной счетной камере, V<sub>k</sub> – объем счетной камеры (3,2x10<sup>-3</sup> мм<sup>3</sup>), V – конечный объем суспензии (мл), m – масса кусочка ткани (мг).

Оценку уровня свободнорадикального окисления липидов в гомогенатах миокарда осуществляли тиобарбитуровым методом [19], определяя концентрацию эндогенного малонового диальдегида (МДА, нмоль/ 500 мг ткани), скорость спонтанного и аскорбатзависимого перекисного окисления липидов (Сп-ПОЛ и Аз-ПОЛ, нмоль МДА/500 мг ткани в час). Оптическую плотность проб измеряли на КФК-3 при λ= 532 нм. Достоверность изменений оценивали по t-критерию Стьюдента.

**Результаты исследования**

У животных, подвергшихся в раннем онтогенезе десимпатизации гуанетидином, абсолютная масса сердца составила 79% (P<0,001) от контроля (табл. 1). При формировании ДСНВ в сочетании с введением б-токоферола (группа ДТФ) изменения показателя были выражены в меньшей степени – абсолютная масса сердца составила 88% (P<0,01) от контроля. Можно отметить, что различия по абсолютной массе сердца между группами Д и ДТФ носили достоверный характер (P<0,01), что дает основание предполагать наличие определенного защитного эффекта б-токоферола в отношении миокарда при формировании ДСНВ. У тренированных крыс с ДСНВ (ДТр) абсолютная масса сердца составила только 71% от контроля (P<0,001), а по сравнению с нетренированными животными группы Д она была ниже на 8,2% (P<0,05). Следовательно, физические нагрузки вызвали у крыс с ДСНВ не гипертрофию, а усилили гипотрофию миокарда. У тренированных животных с ДСНВ, получавших б-токоферол (ДТФ+Тр), абсолютная масса сердца практически не отличалась от нормы, а по сравнению с нетренированными крысами из группы ДТФ оказалась выше на 9,7%(P<0,05). В свою очередь сопоставление данных тренированных крыс из групп ДТФ+Тр и ДТр показало значительную раз-

Таблица 1. Морфометрические показатели сердца опытных и контрольных крыс (M±m)

Группы животных	Абсолютная масса сердца, мг	Количество кардиомиоцитов в 1 мг миокарда (x10 <sup>3</sup> )
К n=10	718,8±15,31	24,8±0,730
Д n=10	566,5±16,04 ***	19,5±0,664 ***
ДТФ n=10	633,0±17,29 **, ^^	21,3±0,914 *
ДТр n=10	520,1±13,00 ***, ^, °°°	15,8±0,987 ***, ^, °°°
ДТФ+Тр n=10	695,0±14,84 ^^^, °, °°°	19,7±1,124 **, °

**Примечание.** \* – достоверность различий с группой К, ^ – достоверность различий с группой Д; ° – достоверность различий с группой ДТФ; °°° – достоверность различий с группой ДТр. \*, ^, °, °° – P<0,05; \*\*, ^^, °°, °°° – P<0,01; \*\*\*, ^^, °°°, °°°° – P<0,001.

ницу в абсолютной массе сердца (на 33,6%,  $P < 0,01$ ) между этими группами. Следовательно, в результате введения б-токоферола неблагоприятные последствия нарушения симпатических нервных влияний на сердце оказались менее выраженными.

С целью выявления возможных причин гипотрофии миокарда в условиях ДСНВ нами определялось количество КМЦ в ткани левого желудочка сердца крыс. Как видно из таблицы 1, у крыс группы Д количество КМЦ в 1 мг ткани миокарда по сравнению с контролем снижено на 21,3% ( $P < 0,05$ ), а в группе ДТФ – только на 14,1% ( $P < 0,001$ ). У тренированных крыс с ДСНВ концентрация КМЦ в ткани сердца ниже нормы на 36,8% ( $P < 0,001$ ). Иными словами, физические нагрузки на фоне ДСНВ способствовали значительному обеднению популяции КМЦ, так по сравнению с крысами группы Д число КМЦ снизилось на 19% ( $P < 0,05$ ). У животных группы ДТФ+Тр количество КМЦ в 1 мг миокарда было снижено по сравнению с контролем – на 20,5% ( $P < 0,001$ ). Вместе с тем по сравнению с крысами группы ДТФ изменения данного показателя отсутствовали. Следовательно, адаптация к физической нагрузке у крыс с ДСНВ, получавших б-токоферол, протекала значительно легче.

Таким образом, в целом у животных с экспериментально созданной гипофункцией симпатической нервной системы количество КМЦ в единице массы миокарда оказалось сниженным по сравнению с показателями нормально развивающихся животных контрольной группы. При этом, как видно на рисунке, наиболее близки к контролю показатели опытных животных, получавших витамин Е.

В настоящее время одним из общих механизмов пролиферации и гибели КМЦ называют усиление перекисного окисления липидов в миокарде [17]. В связи с этим мы предприняли исследование интенсивности перекисидации в гомогенатах миокарда.

Нами обнаружено, что в состоянии покоя у крыс с гипофункцией симпатической нервной системы показатели ПОЛ в гомогенатах миокарда ниже, чем в контроле: концентрация МДА на 36,4% ( $P < 0,05$ ), скорость Сп-ПОЛ на 24,6% ( $P < 0,01$ ) и скорость Аз-ПОЛ на 53,7% ( $P < 0,001$ ) (табл. 2). Формирование

ДСНВ в сочетании с введением б-токоферола дало неоднозначные изменения показателей ПОЛ. По сравнению с контролем увеличились уровень эндогенного МДА на 51,8% ( $P < 0,001$ ) и скорость Сп-ПОЛ на 24,3% ( $P < 0,05$ ), однако скорость Аз-ПОЛ оказалась ниже на 29% ( $P < 0,01$ ). Вместе с тем по сравнению с группой Д значения всех показателей ПОЛ у крыс ДТФ оказались повышенными.

Наиболее высокие показатели ПОЛ в гомогенатах миокарда отмечены у тренированных животных с ДСНВ. Превышение контрольных значений по уровню эндогенного МДА составило 63,1% ( $P < 0,001$ ), по скорости Сп-ПОЛ – 107% ( $P < 0,001$ ), но увеличение Аз-ПОЛ не носило достоверного характера. Показатели ПОЛ в группе ДТр были значительно выше аналогичных в группе Д. У тренированных животных с ДСНВ, получавших б-токоферол, в покое исходный уровень МДА и скорость Сп-ПОЛ находились в пределах нормы, а скорость Аз-ПОЛ была снижена на 56,4% ( $P < 0,001$ ). В сравнении с нетренированными животными группы ДТФ крысы ДТФ+Тр отличались более низким уровнем перекисидации в миокарде по всем параметрам.

ДСНВ является мощным фактором, воздействующим на животных (по данным дисперсионного анализа сила его влияния на весовые характеристики сердца составила 81,9%,  $P < 0,001$ ). Полученные нами данные дают основание считать, что низкие показатели абсолютной массы сердца у крыс с ДСНВ обусловлены снижением числа кардиомиоцитов в единице массы миокарда. Причиной снижения количества клеток в ткани называют активацию процесса апоптоза [11]. Известно, что усиление апоптоза происходит в результате повышения интенсивности свободнорадикальных процессов [22, 23]. Мы не исключаем возможность того, что снижение количества клеток в ткани сердца опытных животных было вызвано активацией апоптоза. Однако у крыс с ДСНВ, по нашим данным, происходит ослабление свободнорадикального окисления, что указывает на снижение интенсивности обменных процессов в сердечной мышце. Тем не менее, в предыдущих работах [7] нами было показано, что на более раннем этапе онтогенеза (возраст 6 недель) у крыс с

ДСНВ интенсивность свободнорадикальных процессов значительно превышает возрастную норму. Вероятно, изменения в численности популяции кардиомиоцитов в сердце опытных животных были индуцированы на ранних этапах постнатального онтогенеза.

Экспериментальные попытки влиять на структурно-функциональное состояние сердца при формировании ДСНВ путем введения  $\alpha$ -токоферола не привели к нормализации показателей. Все же было отмечено меньшее отклонение от нормы абсолютной и относительной массы сердца, а также концентрации кардиомиоцитов в миокарде. Факт усиления интенсивности свободнорадикальных процессов в ткани сердца у половозрелых крыс с ДСНВ при введении  $\beta$ -токоферола можно оценить как проявление его активирующего влияния на обменные процессы в миокарде, поскольку известны факты повышения концентрации цитохромов и их каталитической активности при введении  $\beta$ -токоферола в клетках печени [18]. С другой стороны, не исключено, что в условиях ослабления аэробных процессов при ДСНВ произошла кумуляция витамина Е до уровня, когда он сам становится источником радикалов и принимает участие в развитии свободнорадикального окисления, что рассматривается как способ регуляции уровня свободнорадикального окисления в организме [6].

Для крыс с ДСНВ выбранный режим тренировочных нагрузок оказался достаточно интенсивным и привел к снижению абсо-

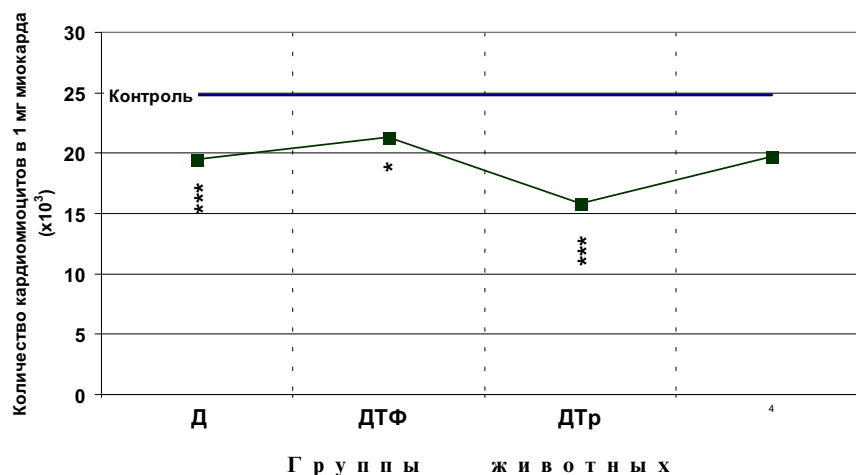
лютной массы сердца. По нашим данным, это связано со значительным сокращением численности популяции КМЦ. Усиление свободнорадикального окисления в миокарде свидетельствует о повышении интенсивности обменных процессов в сердце тренированных животных. Однако обнаруженный нами весьма значительный рост ПОЛ в миокарде может рассматриваться как признак истощения адаптивных резервов сердца и срыва функционирования антиоксидантной системы миокарда. Вероятными причинами этого у крыс с ДСНВ можно назвать слабость механизмов эффективного перераспределения кровотока при мышечных нагрузках [21] и низкое парциальное напряжение кислорода в крови [20]. При выполнении мышечных нагрузок эти факторы могли вызывать повторяющиеся эпизоды гипоксии миокарда десимпатизированных крыс и накопление продуктов свободнорадикального окисления, которые подавляют большинство метаболических процессов и снижают тем самым энергетический потенциал клеток сердца [10].

Тренировка животных с ДСНВ, получавших  $\alpha$ -токоферол, не привела к снижению массы сердца и сокращению численности КМЦ в ткани сердца, напротив, абсолютная и относительная массы сердца, а также показатели ПОЛ в миокарде находились в пределах нормы. Возможно, что полученный результат обусловлен антигипоксическими свойствами  $\alpha$ -токоферола, которые выявлены в работе на нервных клетках коры мозга

Таблица 2. Показатели перекисного окисления липидов в миокарде опытных и контрольных крыс ( $M \pm m$ )

Группы животных	Исходная конц. МДА (нмоль/500 мг ткани)	Спонтанное ПОЛ (нмоль МДА/500 мг ткани в час)	Аскорбатзависимое ПОЛ (нмоль МДА/500 мг ткани в час)
К n=10	0,770 $\pm$ 0,02374	8,123 $\pm$ 0,2611	17,372 $\pm$ 1,1161
Д n=10	0,511 $\pm$ 0,02563 *	6,122 $\pm$ 0,5462 **	8,031 $\pm$ 0,5783 ***
ДТФ n=10	1,169 $\pm$ 0,0925 ***, ^^	10,098 $\pm$ 0,6875 *, ^^	12,336 $\pm$ 1,2665 **, ^^
ДТр n=10	1,256 $\pm$ 0,08746 ***, ^^, °°°	16,823 $\pm$ 0,6974 ***, ^^, °°°	19,51 $\pm$ 1,187 ^^, °°°
ДТФ+Тр n=10	0,835 $\pm$ 0,0644 ^^, °°°, '·	6,863 $\pm$ 0,8970 ···	7,569 $\pm$ 0,5202 ***, °°, '·

**Примечание.** \* – достоверность различий с группой К, ^ – достоверность различий с группой Д; ° – достоверность различий с группой ДТФ; '· – достоверность различий с группой ДТр. \*, ^, °, '· – P<0,05; \*\*, ^^, °°, '· – P<0,01; \*\*\*, ^^, °°°, '· – P<0,001.



\* – P<0,05, \*\* – P<0,01, \*\*\* – P<0,001 по сравнению с контролем.

Рисунок. Количество кардиомиоцитов в 1 мг миокарда в контроле и в экспериментальных группах.

[13]. Введение витамина Е могло способствовать оптимальному протеканию обменных процессов в миокарде у крыс с ДСНВ в условиях физических тренировок. Можно также предположить, что нормализация весовых показателей сердца у крыс ДТФ+Тр вызвана модулирующим влиянием витамина Е на чувствительность  $\beta$ -адренорецепторов КМЦ к катехоламинам, посредством которых индуцируется биосинтез миозина в клетках миокарда [27].

Таким образом, формирование дефицита симпатических нервных влияний с помощью гуанетидина приводит к сокращению численности кардиомиоцитов в ткани сердца. Наличие достоверного снижения числа клеток в единице массы миокарда у десимпатизированных животных всех экспериментальных групп указывает на то, что гибель кардио-

миоцитов индуцируется в раннем постнатальном онтогенезе. Введение  $\alpha$ -токоферола не устраняет полностью возникших изменений в миокарде, оказывая только модулирующее влияние, следовательно, причины сокращения численности кардиомиоцитов при десимпатизации вызваны не только изменением интенсивности свободнорадикальных процессов и требуют дальнейшего изучения. Систематическая физическая тренировка десимпатизированных крыс приводит к более выраженному снижению абсолютной массы сердца и количества кардиомиоцитов, что сочетается со значительным усилением процессов ПОЛ в миокарде. Введение  $\alpha$ -токоферола модулирует интенсивность свободнорадикальных процессов в миокарде у крыс с дефицитом симпатических нервных влияний в условиях физической нагрузки.

**Список использованной литературы:**

1. Абзалов Р.А., Ситдилов Ф.Г. Влияние десимпатизации гуанетидином на функции сердца крысят // Бюлл. эксп. биол. и мед. 1986. Т. 51. №2. С. 141-144.
2. Ажипа Я.И. Трофическая функция нервной системы: Руководство по физиологии. М.: Наука, 1990. 672 с.
3. Бабаян С.А. // Особенности морфологических изменений сердечной мышцы в условиях химической десимпатизации // Вопросы общего учения о болезни. Под ред. акад. АМ СССР А.М. Чернуха. М., 1976. С. 52.
4. Борисова И.Г., Сейфулла Р.Д., Журавлев А.И. Действие антиоксидантов на физическую работоспособность и перекисное окисление липидов в организме // Фармакология и токсикология. 1989. Т. 52. №4. С. 89-92.
5. Забродин О.Н. История учения о нервной трофике // Физиол. журнал (украинский). 1992. Т. 38. №1. С. 115-121.
6. Капралов А.А., Петрова Г.В., Донченко Г.В. Физико-химические свойства и биологическая роль а-токоферолсвязывающих белков // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113. – Вып. 3. – С. 313-326.
7. Курьянова Е.В. Перекисное окисление липидов при десимпатизации и введении  $\beta$ -токоферола // Журн. фундаментальных и прикладных исследований «Естественные науки». Астрахань. – 2002. – №4. – С. 78-83.
8. Лысов В.Ф. Постнатальное развитие десимпатизированных сердца и почек у овец. Материалы съезда физиологов России. Ростов-на-Дону. 1998. С. 51-52.
9. Лысов В.Ф., Саденов М.М. Нейротрофический контроль постнатального структурно-функционального развития сердца ягнят // Тезисы VI Всесоюз. симпозиума «Физиология медиаторов. Периферический синапс» – Казань. – 1991. – С. 63.

10. Меерсон Ф.З., Пшениникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. – М.: Медицина, 1988. – С. 94-218.
11. Непомнящих Л.М., Семенов Д.Е. Апоптоз кардиомиоцитов как крайнее проявление регенераторно-пластической недостаточности миокарда // Бюлл. эксп. биол. и мед. 2000. Т. 130. №9. С. 336-341.
12. Нигматуллина Р.Р., Хурамшин И.Г., Насырова А.Г. Влияние десимпатизации на насосную функцию сердца в постнатальном онтогенезе крыс // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2002. Т. 88. №12. С. 1567-1577.
13. Пшикова О.В. Действие бета-каротина и витамина Е на оксигенотопографию и биоэлектрическую активность нервных клеток // Материалы конференции «Физиологические проблемы адаптации» 21-22 апреля 2003 года. – Ставрополь, 2003. – С. 156-157.
14. Родионов И.М., Ченцов Ю.С., Ярыгин В.Н. Морфофункциональные особенности сердечной мышцы у хронически десимпатизированных крыс // Бюлл. эксп. биол. и мед. 1982. Т. 93. №5. С. 34-37.
15. Родионов И.М., Ярыгин В.Н., Мухаммедов А.А. Иммунологическая и химическая десимпатизация – М.: Наука, 1988. – 152 с.
16. Савин В.Ф. Экстра- и интракардиальные механизмы регуляции частоты сердечного ритма в постнатальном онтогенезе. Автореферат дисс. канд. биол. наук. – 03.00.13 – Казань, 1988.
17. Семенова Л.А., Непомнящих Л.М., Семенов Д.Е. Морфология пластической недостаточности мышечных клеток сердца – Новосибирск, 1985. Стр. 62-162.
18. Сидорова Ю.А., Иванова Е.В., Гришанова А.Ю., Ляхович В.В. Дозовая зависимость влияния б-токоферола на активность ферментов метаболизма ксенобиотиков в печени крыс // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 2003 – Т. 136, №7. – С. 45-48.
19. Строев Е.А., Макарова В.Г. Практикум по биологической химии. – М.: Высшая школа, 1986. – 230 с.
20. Ernst S.B., Mullin W.J., Herrick R.E., Baldwin K.M. Exercise and cardiac performance capacity in rats with partial sympathectomy // J. Appl. Physiol. 1982.V.53. No.1. P. 242-246.
21. Ferrari A.U., Franzelli C., Daffonchio A., Perlini S., Dirienzo M.. Sympathovagal interplay in the control of overall blood pressure variability in unanesthetized rats. // Am. J. Physiol. – 1996. – V. 270. – N.6. – P. 2143-2148.
22. Qin F., Rounds N.K., Mao W., Kawai K., Liang C.S. Antioxidant vitamins prevent cardiomyocyte apoptosis produced by norepinephrine infusion in ferrets // Cardiovasc. Res. 2001. V.51. No. 4. P.736-748.
23. Roberg K., Ollinger K. Oxidative stress causes relocation of the lysosomal enzyme cathepsin D with ensuing apoptosis in neonatal rat cardiomyocytes. // Am. J. Pathol. – 1998. – V.152. – N.5. – P.1151-1156.
24. Schmidt R.E., Summerfield A.L., Hickey W.F. Ultrastructural and immunohistologic characterization of guanethidine-induced destruction of peripheral sympathetic neurons. // J. Neuropathol. Exp. Neurol. – 1990. -V.49. – N.2. – P. 150-167.
25. Tipton C.M., Sturek M.S., Oppliger R.A., Matthes R.D., Overton J.M., Edwards J.G. Responses of SHR to combinations of chemical sympathectomy, adrenal demedullation, and training // Am. J. Physiol. – 1984. – V.247. – N.1. – P. 109-118
26. Toleikis P.M., Godin D.V. Alteration of antioxidant status following sympathectomy: differential effects of modified plasma levels of adrenaline and noradrenaline // Mol. Cell. Biochem. 1995. V.152. No.8. P. 39-49.
27. Wade M.E., Herb R.A., Powers S.K., Criswell D. Exercise and beta-adrenergic regulation of rat cardiac myosin isoforms // J. Sports. Med. Fitness. – 1999. – V. 39. – N.1. – P. 42-49.