

УДК 612.017

ИЗМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЕРДЦА КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЕВЯТИСУТОЧНОЙ ТЕПЛОВОЙ НАГРУЗКИ

© 2007 В.Г. Подковкин, Д.Г. Иванов¹

В статье обсуждается действие повышенной температуры окружающей среды, на сердце крыс. Приводятся оригинальные данные об изменении относительной массы сердца, уровня 11-оксикортикостероидов, гликогена и малонового диальдегида в сердце животных в условиях ежедневной тепловой нагрузки (70⁰С, 10 мин). Показано снижение относительной массы сердца в условиях тепловой нагрузки на девятые сутки эксперимента, уменьшение содержания 11-оксикортикостероидов и гликогена на пятые сутки термического воздействия с последующим ростом концентрации этих веществ в сердце вплоть до девярых суток эксперимента. Уровень малонового диальдегида был повышен в сердце крыс подвергавшихся тепловой нагрузке. Проведен корреляционный анализ изменения показателей. Обсуждаются механизмы изменения указанных показателей.

Введение

В результате развития промышленного производства и активизации темпов научно-технического прогресса изменяется интенсивность многих физических факторов окружающей среды, таких как температура, вибрация, шумы, радиация, электромагнитное излучение и т.п. [1]. В этих условиях возрастает напряжение систем, обеспечивающих адаптацию организма к внешним факторам. Особую опасность для человека представляет действие экстремальных факторов, результатом которого может быть развитие различного рода патологий [10].

Одним из наиболее распространенных факторов среды обитания, под воздействие которого попадает человек, является повышенная температура. С воздействием повышенной температуры человек сталкивается как в условиях промышленного производства, при эксплуатации различного рода технических средств и аппаратов, так и при перемене географических широт. Адаптационные реакции

¹ Подковкин Владимир Георгиевич (podkovkin@rambler.ru), Иванов Дмитрий Геннадьевич (dg1983@rambler.ru), кафедра биохимии Самарского государственного университета, 443011, Россия, г. Самара, ул. Академика Павлова, 1.

организма в ответ на воздействие повышенной температуры отмечены у крыс, собак и других лабораторных животных [18].

В связи с актуальностью проблемы воздействия термического фактора окружающей среды на организм человека, действие повышенной температуры на человека и животных интенсивно исследовалось в 30-х – 70-х годах прошлого века [18]. В этих работах всесторонне исследовано действие повышенных температур на терморегуляторную функцию организма, эндокринную, дыхательную и сердечно-сосудистую системы, желудочно-кишечный тракт и водно-солевой обмен.

Согласно исследованиям, проведенным в нашей лаборатории, периодическое воздействие повышенной температурой на животных затрагивало обменные процессы костной ткани [12].

Эти результаты были предложены авторами в качестве тепловой модели остеопазии, которая была успешно применена для исследования лечебно-профилактического действия искаженного магнитного поля и эктопической имплантации аллогенного гидроксипатита на метаболизм костной ткани лабораторных крыс [5]. Однако действие глюкокортикоидов и энергетический обмен сердца в данной модели описаны не были.

Известно, что сердечно-сосудистая система играет ведущую роль в терморегуляции человека и животных. В связи с тем, что теплообмен между организмом и окружающей средой осуществляется через кровь, состояние сердечно-сосудистой системы во многом определяет реакцию организма на воздействие высоких температур окружающей среды. Нарушение в функционировании сердечно-сосудистой системы при действии термического фактора могут быть обусловлены как изменением в самом сердце, так и изменением экстракардиальной регуляции деятельности сердца [18].

Целью настоящей работы было оценить повреждающее действие глюкокортикоидов и энергетический обмен сердца в условиях девятисуточной тепловой нагрузки.

Материалы и методы

Исследования проведены на лабораторных беспородных крысах-самцах массой 80-110 г.

В эксперименте исследовали две группы животных. Животные первой группы помещались в камеру с температурой воздуха 70⁰С ежедневно в течение 9 суток. Продолжительность воздействия составляла 9 мин, а затем увеличивалась на 15 секунд ежедневно.

Животные второй группы служили контролем. Контрольных животных содержали в аналогичных условиях в клетках, находившихся в том же помещении. Все животные получали одинаковое питание.

Животных выводили из эксперимента путем декапитации на третьи, пятые, седьмые и девятые сутки. Одновременно с животными опытной группы забивали

одно или два животных контрольной группы. Забитых животных взвешивали и определяли среднюю массу в группах. Масса забитых в различные сроки животных опытной группы не отличалась значимо между собой и от средней массы животных контрольной группы.

Сердце крыс отмывали от крови в физиологическом растворе, высушивали на фильтровальной бумаге, взвешивали и гомогенизировали с 2 мл 0,1 М фосфатного буфера pH 7,6.

Рассчитывали относительную массу сердца по отношению к массе животного, результат выражали в процентах.

Для анализа на содержание глюкокортикоидов брали 0,55 мл гомогената и смешивали с 0,25 мл 95% этанола. Уровень 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) определяли по методу Ю.А. Панкова, И.Я. Усватовой, в модификации В.Г. Подковкина [13].

Для анализа гликогена гомогенат разводили в соотношении 1:1 водой. Проводили гидролиз полученного раствора 30% раствором КОН на водяной бане. Гликоген из гидролизата дважды переосаждали спиртом. Осадок растворяли в воде, содержание гликогена определяли колориметрированием раствора с антроновым реактивом [15].

Уровень малонового диальдегида (МДА) в сердце определяли по реакции гомогената с 2-тиобарбитуровой кислотой, после осаждения белков ТХУ, по методу И.Д. Стальной и Т.Г. Гаришвили [16].

Полученные результаты были обработаны с помощью стандартного t-критерия Стьюдента и с помощью корреляционного анализа [17].

Результаты

Относительная масса сердца крыс в условиях девятисуточной тепловой нагрузки снижалась, и была меньше контрольных значений на 11% у животных, подвергавшихся тепловой нагрузке в течение девяти суток (таблица).

Таблица

Динамика показателей, характеризующих функциональное состояние сердца в условиях девятисуточной тепловой нагрузки

Анализируемый показатель	Группа животных				
	Контроль	3 сутки	5 сутки	7 сутки	9 сутки
Относительная масса сердца, %	0,46±0,02	0,46±0,01	0,45±0,01	0,45±0,02	0,41±0,01*
Содержание 11-ОКС, мкг/г	0,93±0,05	0,93±0,13	0,79±0,04*	0,84±0,04	1,43±0,12*
Содержание гликогена, мкг/г	39,70±2,25	40,93±5,70	28,49±2,94*	43,23±5,53	68,83±8,05*
Уровень МДА, ×10 ⁻² мкмоль/г	0,77±0,08	1,38±0,15*	1,14±0,07*	1,23±0,09*	1,11±0,07*

Примечание: * - уровень значимости результатов относительно контроля p<0.05

Содержание 11-оксикортикостероидов в сердце не изменялось у крыс, подвергавшихся ежедневной тепловой нагрузке в течение трех суток. На пятые сутки термического воздействия уровень 11-оксикортикостероидов в сердце крыс снижался на 15% относительно контрольного. Необходимо заметить, что в эти сроки действия термического фактора, наблюдается увеличение массы надпочечника, снижение концентрации 11-оксикортикостероидов в коре железы и увеличение содержания этих гормонов в печени, без изменения уровня 11-оксикортикостероидов в плазме [14]. На седьмые сутки тепловой нагрузки у крыс было отмечено возвращение сердечного уровня 11-оксикортикостероидов к норме. После этого следовало увеличение показателя на 54% относительно контроля на девятые сутки действия термического фактора.

В течение первых трех суток ежедневной тепловой нагрузки, изменения уровня гликогена в сердце крыс не происходило. На пятые сутки эксперимента у крыс наблюдалось снижение содержания гликогена в сердце на 28% относительно значений показателя, отмеченных у контрольных животных. На седьмые сутки действия термического фактора на крыс уровень гликогена в сердце возвращался к нормальным значениям. На девятые сутки действия повышенной температуры происходило увеличение значений анализируемого показателя на 73% относительно контроля.

Результаты корреляционного анализа, показали достаточно высокую взаимосвязь между изменением уровня 11-оксикортикостероидов и содержанием гликогена в сердце, коэффициент корреляции равен 0,96.

Уровень малонового диальдегида в сердце животных, подвергавшихся тепловой нагрузке, был выше значений этого показателя у контрольных животных во все сроки эксперимента. Уже на третьи сутки действия термического фактора содержание малонового диальдегида в сердце возрастало на 79%. После этого, происходило небольшое снижение анализируемого показателя. На пятые сутки действия повышенной температуры воздуха содержание малонового диальдегида в сердце опытных животных отличалось от контроля на 48%. На седьмые сутки тепловой нагрузки, наблюдалось второе возрастание уровня малонового диальдегида в сердце, отличие опытных значений показателя от контрольных достигало 60%. На девятые сутки термического воздействия содержание малонового диальдегида снова снижалось относительно седьмых и третьих суток, но оставалось выше контрольных значений показателя на 44%.

Оценка взаимосвязи изменения содержания 11-оксикортикостероидов с уровнем малонового диальдегида в сердце обнаружило высокий коэффициент корреляции (0,99) внутри опытной группы в период действия тепловой нагрузки от третьих до седьмых суток. На девятые сутки действия термического фактора корреляция между показателями нарушалась. На фоне значительного увеличения уровня 11-оксикортикостероидов в сердце, резкого повышения содержания малонового диальдегида не происходило.

Таким образом, ежедневная тепловая нагрузка 70⁰С, 10 минут приводила к снижению относительной массы сердца у крыс на девятые сутки, снижению уровня 11-оксикортикостероидов, гликогена в сердце на пятые сутки и увеличению данных показателей на девятые сутки воздействия. Содержание малонового диальдегида в сердце крыс под действием тепловой нагрузки было повышено. Кроме того, наблюдалось взаимосвязанное изменение анализируемых показателей.

Обсуждение

Изменение уровня 11-оксикортикостероидов в сердце крыс обусловлено изменением функциональной активности коры надпочечников под действием термического фактора, на это указывают увеличение массы надпочечников, уровня 11-оксикортикостероидов в этой железе и печени в данные сроки действия повышенной температуры среды [14].

Согласно литературным данным, можно полагать, что наблюдаемая в эксперименте активация функции коры надпочечников, обусловлена афферентной сигнализацией от кожных тепловых терморецепторов, которая передается в передний гипоталамус по палеоспиноталамическому и спиноретикулярному трактам спинного мозга. И по неоспиноталамическому тракту в кору мозга [2]. В результате этого изменяется нейросекреторная деятельность гипоталамических ядер [18].

В условиях действия экстремальных или новых факторов окружающей среды может наступить стрессорное повреждение миокарда связанное с липотропным эффектом катехоламинов и глюкокортикоидов. Считается доказанным, что эти гормоны участвуют в реализации липидной триады, т.е. усиливают действие липаз, фосфолипаз, интенсивность перекисного окисления липидов и детергентное действие жирных кислот [7, 11].

Известно, что малоновый диальдегид является конечным продуктом перекисного окисления липидов, поэтому его содержание может до известной степени отражать течение процессов перекисного окисления [4].

Повышение содержания малонового диальдегида в сердце крыс, наблюдавшееся в эксперименте, указывает на активацию процессов перекисного окисления липидов в результате повышения уровня 11-оксикортикостероидов в органе в течение первых семи суток действия ежедневной тепловой нагрузки, об этом свидетельствует высокий коэффициент корреляции изменения этих показателей в указанные сроки. В результате этого возрастает повреждение сердца животных и наблюдается уменьшение относительной массы органа. Роль активных форм кислорода и перекисного окисления липидов в развитии патологий сердца широко обсуждается в литературе [9, 19].

По мнению Шошенко К.А. [20] изменение массы сердца крыс в условиях физиологической нагрузки в первую очередь зависит от роста или деградации мы-

шечной ткани сердца. При этом в условиях благоприятной адаптации, как правило, наблюдается гипертрофия сердца. На основании этого можно полагать, что уменьшение относительной массы сердца вызвано деструктивными изменениями в органе.

Известно, что источниками энергии в сердце могут служить и глюкоза, и жирные кислоты. Показано, что после приема пищи, когда концентрация глюкозы и инсулина в крови высока, а содержание жирных кислот снижено, основным источником энергии для сердца является глюкоза. В голодном состоянии, напротив, увеличивается содержание свободных жирных кислот в крови и снижается уровень глюкозы. Жирные кислоты становятся основным энергетическим субстратом сердца. При этом повышение их уровня в сердце снижает потребление глюкозы миокардом, ингибирует гликолиз и способствует синтезу и накоплению гликогена в сердце [8].

На основании этих данных по содержанию гликогена в сердце животных можно косвенно судить о протекании энергетического обмена в сердце крыс. Уменьшение содержания гликогена в сердце на пятые сутки действия термического фактора обусловлено включением его запасов в метаболизм сердечной мышцы. Можно полагать, что к этому времени снижается содержание глюкозы в крови, но основным биохимическим путем, приводящим к выработке энергии в сердечной мышце, остается гликолиз. Возвращение содержания гликогена в сердце к норме на седьмые сутки эксперимента и возрастание его уровня на девятые сутки, вероятно, обусловлено его накоплением в сердечной мышце, в результате того, что основным энергетическим субстратом становятся жирные кислоты.

Указанные изменения уровня гликогена в сердце животных в условиях тепловой нагрузки могут быть обусловлены действием как прямым, так и опосредованным действием 11-оксикортикостероидов на данный орган. В литературе отмечено повышение активности фосфоорилазы, в результате действия глюкокортикоидов на орган-мишень [3]. С другой стороны изменение содержания гликогена в сердце крыс, могло происходить под действием адреналина. Активация симпатно-адреналовой системы и накопление катехоламинов в сердечной мышце, при увеличении функциональной активности коры надпочечников, в настоящее время не вызывает сомнения [6].

Заключение

На основании полученных в работе данных, можно полагать, что в условиях ежедневной тепловой нагрузки происходит активация функции коры надпочечников у крыс. В результате этого, усиливается гормональное влияние этих желез на сердце, приводящее к повреждению органа по свободно-радикальному механизму на девятые сутки действия термического фактора. Вместе с этим в условиях тепловой нагрузки изменяется метаболизм сердечной мышцы. На пятые сутки

эксперимента основным энергетическим субстратом кардиомиоцитов становятся жирные кислоты, а не глюкоза, что сказывается на содержании гликогена в сердце.

Литература

- [1] Агаджанян, Н.А. Адаптация и резервы организма / Н.А. Агаджанян. – М.: Физкультура и спорт, – 1983. – 176с.
- [2] Брюк, К. Тепловой баланс и регуляция температуры тела / К. Брюк // Физиология человека / под ред. Шмидта Р., Тевса Г. Т.3. – М.: Мир, 1996. – 198с.
- [3] Великанова, Л.И. Гормоны коры надпочечников и их влияние на обмен веществ / Л.И. Великанова // Синдром Иценко-Кушинга / под ред. Баранова В.Г., Нечая А.И. – Л.: Медицина, 1988. – 224 с.
- [4] Владимиров, Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. – М.:Наука, 1972. – 252с.
- [5] Грибкова, О.В. Влияние аллогенного гидроксиапатита и постоянного магнитного поля на показатели метаболизма костной ткани и функциональное состояние коры надпочечников: автореф. дис. ... канд. биол. наук / О.В. Грибкова. – Самара, 2005. – 19с.
- [6] Егорова, Л.И. Лечение глюкокортикоидами и АКТГ / Л.И. Егорова. – М.: Медицина, 1965. – 306с.
- [7] Елисеев, В.В. Аденозин и функции миокарда / В.В. Елисеев, Н.С. Сапронов. – СПб: Изд-во «Лань», 2000. – 160с.
- [8] Инфаркт миокарда / Под. ред. Елисеева О.В. – М.: Медицина, 1975. – 319 с.
- [9] Капелько, В.И. Активные формы кислорода, антиоксиданты и профилактика заболеваний сердца / В.И. Капелько // Русский медицинский журнал. – 2003. – Т. 11. – № 21. – С. 15.
- [10] Меерсон, Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф.З. Меерсон, М.Г. Пшенникова. – М.: Медицина, 1988. – 256 с.
- [11] Меерсон, Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца / Ф.З. Меерсон. – М.: Медицина, 1984. – 270с.
- [12] Подковкин, В.Г. Влияние искаженного геомагнитного поля на метаболизм соединительной ткани у крыс при тепловой нагрузке / В.Г. Подковкин, О.В. Грибкова // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2005. – Т. 45. – № 4.
- [13] Подковкин, В.Г. Микромодификация метода определения 11-оксикортикостероидов / В.Г. Подковкин. – Деп. в ВИНТИ 04.07.1988, №5348-В 88.
- [14] Подковкин, В.Г. Состояние коры надпочечников и динамика содержания оксипролина у крыс при термическом воздействии / В.Г. Подковкин, Д.Г. Иванов // Вестник Самарского государственного университета. 2006. – № 9. – С.237.
- [15] Практикум по биохимии / Под ред. Северина С.Е., Соловьевой Г.А. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 509 с.

- [16] Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. - М.: Медицина, 1977. – 392 с.
- [17] Фролов, Ю.П. Математические методы в биологии. ЭВМ и программирование / Ю.П. Фролов. Самара: Изд-во СамГУ, 1997. 265 с.
- [18] Чвырев, В.Г. Тепловой стресс: руководство для врачей / В.Г. Чвырев, А.Н. Ажаев, Г.Н. Новожилов. – М.: Медицина, 2000. – 296с.
- [19] Шанин, Ю.Н. Антиоксидантная терапия в клинической практике / Ю.Н. Шанин, В.Ю. Шанин, Е.В. Зиновьев. – СПб: ЭЛБИ-СПб, 2003. – 128 с.
- [20] Экологическая физиология животных. Часть II. Физиологические системы в процессе адаптации и факторы среды обитания / Под. ред. Слоним А.Д. и др. – Л.: Наука, 1981. – 582 с.

Статья поступила в редакцию 25/IX/2006;
в окончательном варианте – 26/XII/2006.

BIOCHEMICAL MARKERS ALTERATIONS OF RAT HEART UNDER NINE-DAY HEAT STRESS

© 2007 V.G. Podkovkin, D.G. Ivanov²

In the paper the environmental high temperature effect on the rat heart is discussed. The original data about alterations of the relative heart mass, 11-oxycorticosteroides, glycogen and malonic dialdehyde contents in animal heart under daily heat stress (70⁰C, 10 min.) are produced. In experiment the relative heart mass was decreased on the ninth day of the temperature factor effect. The 11-oxycorticosteroides and glycogen contents were decreased on the fifth experimental day and were increased to the ninth day of the heat stress. The malonic dialdehyde content in heart of rat, witch was expositied heart stress, was increased. The correlation analysis of markers alterations is directed. The markers changes mechanisms are discussed.

Paper received 25/IX/2006.

Paper accepted 26/XII/2006.

² Podkovkin Vladimir Georgievich (podkovkin@rambler.ru), Ivanov Dmitriy Gennadevich (dg1983@rambler.ru), Dept. of Biochemystry, Samara State University, 443011, Samara, Russia.