

ВЛИЯНИЕ НО-ШПЫ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

В.Г. Сенцов, В.Т. Долгих, Н.И. Вениченко

г. Екатеринбург, г. Омск

Цель данного исследования. Изучение механизмов токсического действия но-шпы в эксперименте на целостном организме и препарате изолированного, изоволюмически сокращающегося сердца.

Материал и методы. Эксперимент проведен на белых беспородных крысах-самцах массой 250 ± 20 г, содержащихся в стандартных условиях. Затравка животных проводилась путем внутривентрикулярного введения но-шпы в дозах 0,25 мг/100г; 1,25 мг/100г и 5 мг/100г массы тела. В течение 60 мин после введения но-шпы контролировали уровень артериального давления (АД), центрального венозного давления (ЦВД), частоту сердечных сокращений (ЧСС) и частоту дыхания (ЧД), проводили запись реограммы с ее первой производной и ЭКГ во II стандартном отведении. Затем рассчитывали длительность интервалов PQ и QT, амплитуду зубцов P и R, ударный (УО) и минутный (МОС) объемы сердца и общее периферическое сопротивление сосудов (ОПСС). Контролем служили наркотизированные животные с перевязанной правой сонной артерией. Эксперименты проведены на целостном организме и на препарате изолированного, изоволюмически сокращающегося сердца. Исследовали метаболические изменения в миокарде и функционально-метаболические изменения на препарате изолированного, изоволюмически сокращающегося сердца.

Для изучения нарушений сократительной функции и метаболизма миокарда исследования выполнялись на препаратах изолированных, изоволюмически сокращающихся сердец, взятых через 60 мин после введения но-шпы, по методу E.L. Fallen et al. (1967). На основании графического материала рассчитывали комплекс силовых (систолическое, диастолическое и развиваемое давление) и скоростных (максимальную скорость увеличения и уменьшения внутрижелудочкового давления) показателей, а также дефект диастолы. На различных этапах эксперимента забирали пробы перфузата, прошедшего через коронарное русло, в котором определяли содержание глюкозы, лактата, пирувата, активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и МВ-изоэлаза креатинкиназы (КК-МВ). Через 30 мин стабилизации работы изолированного сердца использовали методические приемы, позволявшие оценить тяжесть повреждения сердца и выявить ведущие патогенетические факторы кардиодепрессии, вызываемые острым отравлением но-

шпы: 1) навязывание высокого ритма сокращений (300, 400 и 500 мин⁻¹); 2) гипоксическая проба; 3) гиперкальциевая перфузия.

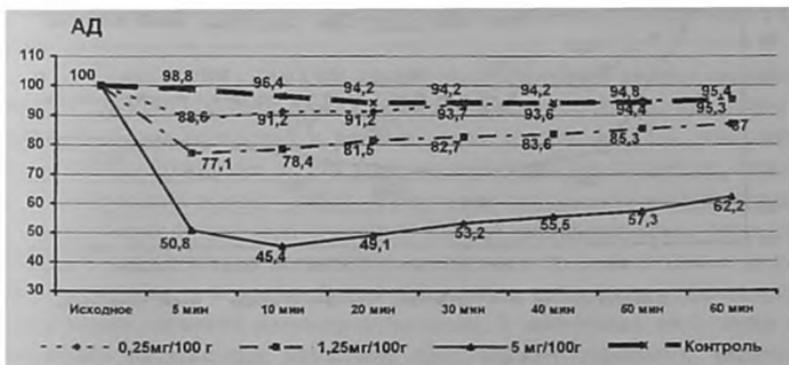
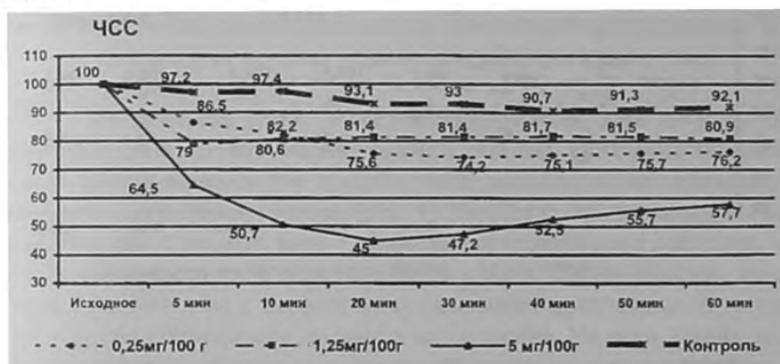
Результаты и их обсуждение. В контрольной группе животных калипсоловый наркоз на протяжении 60 мин наблюдения не вызвал достоверных изменений артериального давления, частоты сердечных сокращений и основных показателей центральной гемодинамики - ударного объема сердца, минутного объема кровообращения, общего периферического сопротивления сосудов и центрального венозного давления (рис.1). Значения этих параметров не отличались от одноименных исходных показателей животных экспериментальной группы. Однако после внутрибрюшинного введения но-шпы в дозе 0,25 мг/100г (I группа) артериальное давление через 5 мин уменьшилось и оказалось ниже соответствующего показателя контрольной группы на 14,4%. К 60-й мин эксперимента артериальное давление имело тенденцию к повышению и превышало величину артериального давления, зарегистрированного через 5 мин после инъекции но-шпы. Введение препарата замедляло частоту сердечных сокращений в первые 30 мин эксперимента. Начиная с 30-й мин, отмечалось незначительное учащение сердечного ритма, а к 10-й мин эксперимента ударный объем достоверно уменьшался на 5,7%. В более поздние сроки достоверных изменений ударного объема не выявлено.

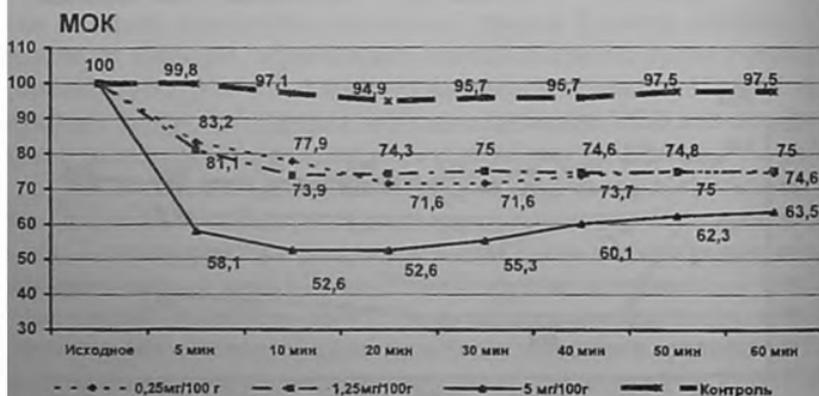
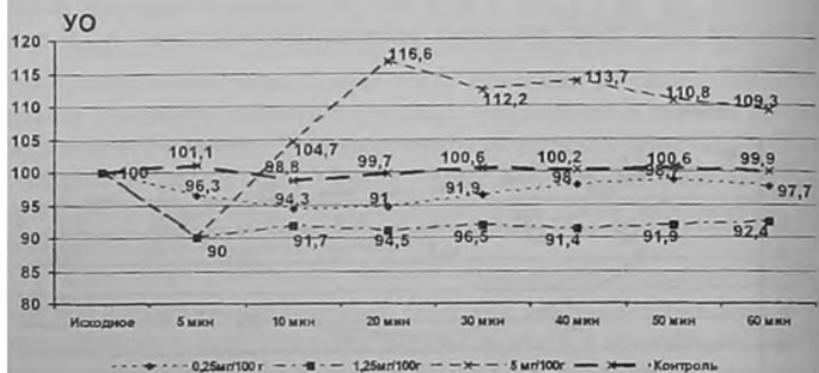
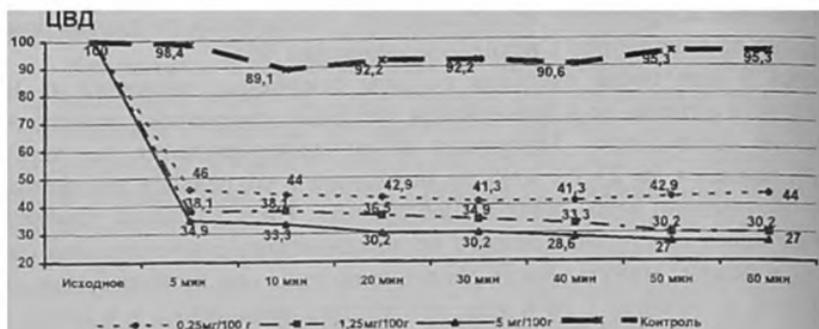
Снижение минутного объема кровообращения наблюдалось уже на 5-й минуте эксперимента. К 60-й мин ударный объем был ниже соответствующего показателя на исходном этапе в среднем на 10,4%. Общее периферическое сопротивление сосудов к 5-й мин эксперимента достоверно возросло на 6,9% и в последующие сроки наблюдения превышало исходные значения, свидетельствуя о повышении преднагрузки на сердце в условиях химической травмы. Уровень центрального венозного давления, отражающего венозный приток крови к сердцу, т.е. преднагрузку, уже с 5-й мин эксперимента снижался. На всех последующих этапах наблюдения выявлено снижение ЦВД как по отношению к исходному уровню, так и к контрольным величинам.

На следующем этапе исследований оценивались гемодинамические эффекты но-шпы при пятикратном увеличении дозы препарата (рис. 1). Установлено, что уже через 5 мин после внутрибрюшинного введения но-шпы в дозе 1,25 мг/100г (II группа) артериальное давление достоверно снизилось на 29,9%, а на всех последующих этапах наблюдения оно оставалось ниже исходного значения в среднем на 15-21%. Отмечено урежение частоты сердечных сокращений на 21,0%. На последующих этапах эксперимента достоверных изменений частоты

сердечных сокращений не наблюдалось, сохранялась синусовая брадикардия по отношению к исходным значениям ЧСС.

Через 5 мин после введения но-шпы отмечалось снижение на 10% ударного объема, но в дальнейшем значимых изменений ударного объема не наблюдалось. Минутный объем кровообращения уже через 5 мин оказался на 23,3% меньше исходного и сохранялся пониженным на протяжении всего периода наблюдения. Иная динамика изменений отмечалась со стороны общего периферического сопротивления сосудов: в первые минуты после введения но-шпы оно незначительно снижалось, а, начиная с 10-й мин, постепенно повышалось и к концу наблюдения на 10% превышало исходные значения. Но-шпа также достоверно снижала центральное венозное давление в течение всего эксперимента. Так на 5-й мин и 60-й мин эксперимента значения данного показателя были ниже исходных величин соответственно в 2,6 раза и 3,3 раза.





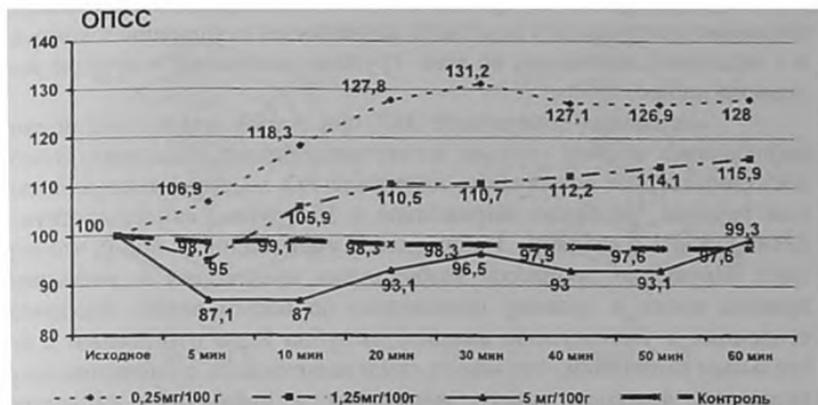


Рис. 1. Изменение гемодинамических показателей при различных концентрациях но-шпы у экспериментальных животных

На третьем этапе исследований разовая доза но-шпы была увеличена до 5 мг/100г массы тела (III группа). Исходные показатели гемодинамики до введения но-шпы также достоверно не отличались от значений контрольной группы (рис. 1). Вместе с тем, введение но-шпы, вызывало уже с первых минут снижение артериального давления, максимально выраженное к середине наблюдения. Таким образом, но-шпа в дозе 5 мг/100г уже с первых минут вызывает артериальную гипотензию, которая сохранялась до конца наблюдения. На всех этапах эксперимента частота сердечных сокращений также удерживалась ниже исходных показателей. Выраженность синусовой брадикардии в этой группе оказалась существенно более значимой, чем у животных I и II групп.

Достоверно снижался также ударный объем сердца, однако, в отличие от предыдущих двух групп, начиная с 10-й мин наблюдения, ударный объем возрастал в разные сроки от 5% до 17%. Минутный объем кровообращения на 5-й минуте эксперимента снизился, однако, на последующих этапах наблюдения имел тенденцию к возрастанию, оставаясь ниже исходного значения. Общее периферическое сопротивление сосудов вначале достоверно снижалось по отношению к исходным значениям, а в дальнейшем отмечалась тенденция к некоторому увеличению значений данного показателя. У животных этой серии наблюдалось выраженное снижение центрального венозного давления, величина которого уменьшилась непосредственно после введения но-

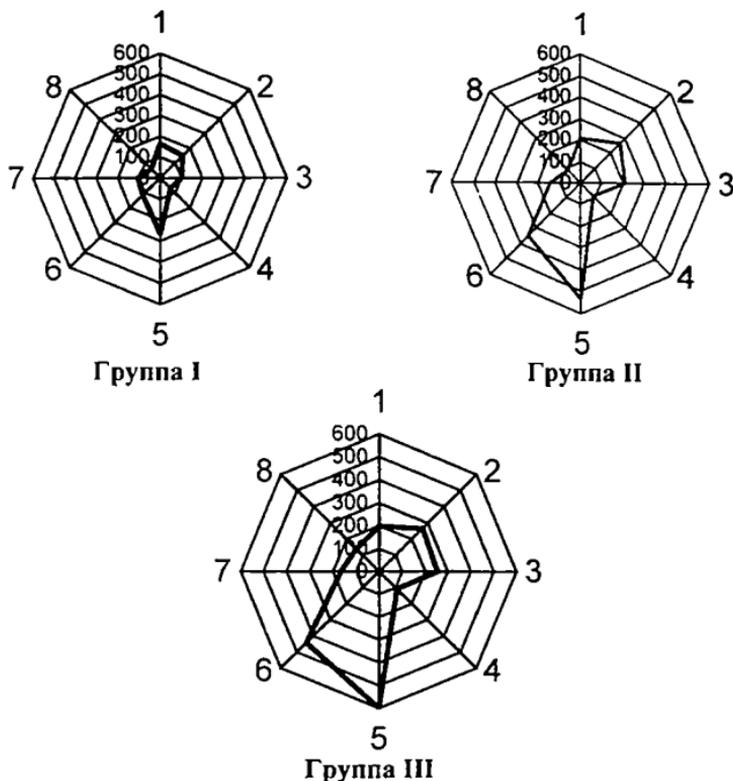
шпы и удерживалось на протяжении всего эксперимента. Достоверное снижение центрального венозного давления по отношению к контролю и к исходным величинам во всех группах отмечалась в течение всего периода наблюдения.

Изменения показателей ЭКГ при остром отравлении но-шпой наблюдались во всех группах экспериментальных животных. Отмечалось достоверное увеличение интервала PQ во всех экспериментальных группах, особенно выраженное в III группе, свидетельствуя об АВ-блокаде I-й степени. Наблюдалось уменьшение зубца P, что отражает нарушение процессов возбуждения предсердий и уменьшение притока крови к правому предсердию по полым венам. Выявлялась тенденция к уменьшению амплитуды зубца R по отношению к контрольным величинам, что может свидетельствовать о снижении сократительной функции левого желудочка и диффузных структурно-метаболических изменениях в миокарде.

Изменения частоты дыхания у животных при отравлении но-шпой неоднозначны: но-шпа в дозах 0,25 мг/100 г и 1,25 мг/100 г существенных изменений частоты дыхания не вызывала и лишь в дозе 5 мг/100 г она индуцировала брадикардию, что, по-видимому, связано с ее воздействием на дыхательный центр.

К 60-й мин острого отравления во всех трех группах отмечались нарушения метаболизма, о чем свидетельствовало дозозависимое увеличение содержания глюкозы, пирувата и лактата (рис.2). Концентрация мочевой кислоты, являющейся конечным продуктом катаболизма пуриновых и пиримидиновых оснований, у животных I группы снижалась, что связано с повышенным выделением ее с мочой. Во II и в III группах животных уровень мочевой кислоты оказался незначительно выше. Дозозависимо возрастало и выделение в плазму крови ферментов, свидетельствующее о генерализованном повреждении клеток и повышении проницаемости клеточных мембран.

Последнее положение подтверждалось некоторым увеличением гематокритного числа, что, очевидно, также связано с повышенной проницаемостью сосудистой стенки, активацией процессов перекисного окисления липидов, накоплением веществ низкой и средней молекулярной массы, развитием ацидоза и гемодинамическими нарушениями, возникающими при отравлении но-шпой. Кроме того, в плазме крови дозозависимо изменялась и светосумма перекисной хемиллюминесценции: в I группе имелась тенденция к повышению, а во II и III группах отмечалось превышение контроля в 1,7 раза и в 2,5 раза соответственно.



Показатели в контрольной группе животных

1 - Глюкоза, ммоль/л- $5,49 \pm 0,40$	2 - Лактат, ммоль/л- $1,80 \pm 0,05$
3 - Пируват, ммоль/л- $0,19 \pm 0,008$	4 - Мочевая кислота, мкмоль/л- $51,1 \pm 4,60$
5 - АсАТ, мккат/л- $0,03 \pm 0,001$	6 - ЛДГ, мккат/л- $1,90 \pm 0,10$
7 - КК-общая, мккат/л- $0,23 \pm 0,004$	8 - КК-МВ, МЕ/л- $17,1 \pm 0,70$

Рис. 2. Изменения биохимических показателей в экспериментальных группах животных (в % к значениям контрольной группы)

Учитывая данные хемилюминесценции, можно полагать, что и в сердечной мышце но-шпа будет вызывать аналогичные процессы, что будет приводить к снижению ее сократительной функции и формированию синдрома низкого сердечного выброса вследствие повреждения ферментных систем транспорта Ca^{2+} и митохондрий продуктами перекисного окисления липидов, но-шпой и ее метаболитами.

Для выяснения механизмов нарушения сократимости сердечной мышцы и значимости поврежденного сердца в формировании недостаточности кровообращения при остром отравлении но-шпой были проведены исследования на изолированных, изоволюмически сокращающихся сердцах. Несмотря на 30-минутный период стабилизации, отчетливо выявлялось нарушение сократительной функции миокарда, что выражалось в снижении систолического (на 28,4%) и развиваемого (на 34,6%) давления по сравнению с контролем (табл. 1). Скорости сокращения и расслабления также были достоверно снижены по отношению к контролю в 1,48 и 1,49 раз соответственно. При ритме 500 мин⁻¹ отмечалось уменьшение систолического и развиваемого давления на 25% и 39% соответственно и повышение диастолического давления на 29% по отношению к контролю.

Таблица 1

Влияние острого отравления но-шпой с дозой 5 мг/100г на показатели, характеризующие сократительную функцию миокарда в условиях навязывания ритма высокой частоты ($M \pm m$)

Показатели	ЧСС. мин ⁻¹	Группы животных	
		К	И
Систолическое давление, мм рт. ст.	240	55,4±1,55	39,7±1,33*
	300	52,9±1,77	39,5±1,57*
	400	49,9±1,81^	38,9±1,71*
	500	42,5±2,57^	31,9±1,97*^
Диастолическое давление, мм рт. ст.	240	4,93±0,15	6,29±0,49*
	300	4,98±0,38	7,09±0,48*
	400	4,99±0,11	7,27±0,67*
	500	7,75±0,29^	9,99±0,69*^
Развиваемое давление, мм рт. ст.	240	51,1±1,54	33,4±1,49*
	300	48,1±1,71	32,4±1,56*
	400	47,1±1,88	31,8±1,45*
	500	36,1±2,74^	21,8±1,73*^
Дефект диастолы, мм рт. ст. с	240		
	300		
	400		8,66±2,12
	500	9,32±0,47	51,4±8,44*
Неусваиваемость сердцами навязываемого ритма сокращений	240		
	300		
	400		
	500		40%

Примечание. Группы животных: К - контроль (n=10); О - опыт (n=10). *- достоверные различия по отношению к контролю, ^- достоверные различия по отношению к исходным величинам.

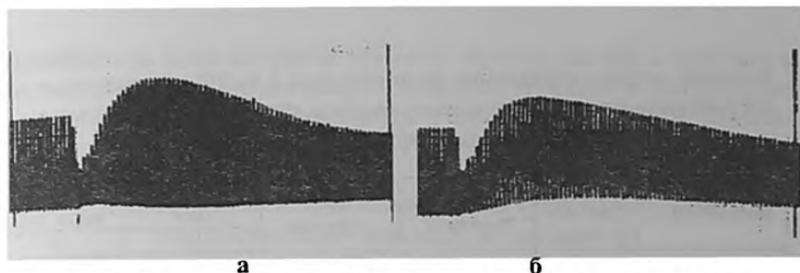


Рис. 3. Появление альтернирующих сокращений в опытной группе при ритме 400 мин⁻¹ (а) и ритме 500 мин⁻¹ (б)

Дефект диастолы появлялся при ритме 400 мин⁻¹, а при ритме 500 мин⁻¹ наблюдался в 100% случаев и был увеличен по сравнению с контролем в 5,5 раза (рис. 3,4)

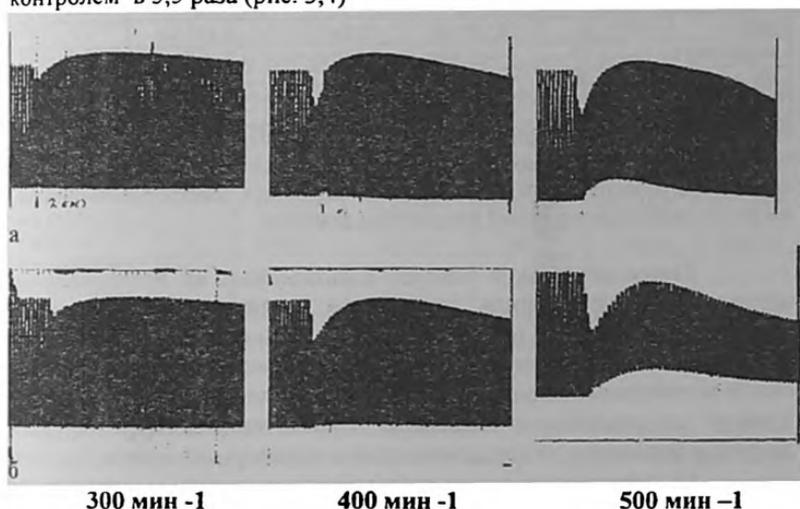


Рис. 4. Динамика давления в левом желудочке сердца контрольной (а) и опытной (б) группах при навязывании высокого ритма сокращений.

Сердца животных, перенесших отравление но-шпой, достоверно больше, чем в контроле потребляли глюкозы (в 1,1 раза), увеличивая выделение кардиомиоцитами в коронарный проток лактата в 1,9 раз и пирувата в 7,1 раз (табл. 2). Повышался выход ферментов: АсАТ в 1,3 раза, ЛДГ в 1,8 раза и КК-МВ-фракции в 1,2 раза по сравнению с контролем (табл. 2).

Таблица 2

Влияние острого отравления но-шпой (доза 5 мг/100 г) и гипоксии на потребление глюкозы, выделение лактата, пирувата и ферментов изолированными сердцами крыс ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных	Исходные величины	До гипоксии	Гипоксия, мин	Реоксигенация, мин
				10	10
Глюкоза, ммоль/(мин·кг)	К	140,5±0,7	183,6±1,1	1020,9±1,5	334,1±2,8
	О	156,5±1,2*	311,3±8,1*^	1291,1±11,6*^	481,7±1,6*^
Пируват, ммоль/мин·кг	К	2,4±0,04	6,1±0,1	7,1±0,03	5,2±0,08
	О	17,1±0,1*	20,9±0,5*^	37,7±0,4*^	25,2±0,63*^
Лактат, ммоль/мин·кг	К	43,6±0,7	59,9±1,2	104,6±1,9	70,1±0,6
	О	84,8±0,8*	112,4±1,9*^	133,5±1,9*^	113,1±1,3*^
АСТ, мккат/мин·г	К	1,8±0,1	0,4±0,05	0,3±0,06	0,6±0,03
	О	2,4±0,1*	0,5±0,003^	0,6±0,007*^	0,8±0,01*^
ЛДГ, мккат/мин·г	К	0,5±0,06	0,2±0,01	0,4±0,01	0,1±0,01
	О	0,9±0,01*	0,7±0,01*^	1,2±0,006*^	0,4±0,01*^
КК-МВ, МЕ(мин·г)	К	1,4±0,09	0,6±0,04	0,5±0,03	0,2±0,02
	О	1,7±0,04*	0,7±0,01*^	0,6±0,03	0,9±0,01*^

Примечание. Группы животных: К - контроль (n=10); О - опыт (n=10). *- достоверные различия с контролем. ^- достоверные различия с исходными величинами. Потребление глюкозы и выделение пирувата и лактата рассчитано на 1 мм рт. ст. развиваемого левым желудочком давления.

Таким образом, в опытах, выполненных на изолированных сердцах крыс, отмечается выраженное снижение сократительной функции миокарда, что проявляется снижением силовых и скоростных показателей сократимости и ростом диастолического давления. Нарушение метаболизма выражается в повышении потребления глюкозы на 1 мм рт. ст. развиваемого давления и увеличении выхода пирувата, лактата и ферментов из кардиомиоцитов в коронарный проток.

На следующем этапе экспериментов изучалось влияние 10 минутной гипоксической перфузии на сократительную функцию изолированных сердец крыс (табл. 3). Видно, что гипоксическая перфузия вызывала угнетение, как процессов сокращения, так и процессов расслабления миокарда, снижала эффективность использования глюкозы изолированными сердцами, усиливала деструкцию мембран кардиомиоцитов, о чем можно судить по возрастающему выходу в коронарный проток ферментов и метаболитов углеводного обмена. Реоксигенация в течение 10 мин изолированных сердец контрольных животных обуславливала умеренное восстановление силовых и скоростных показателей сократимости. Потребление глюкозы на 1 мм рт. ст. развиваемого давления сердцами опытной группы значительно уменьшалось,

но оставалось выше исходных значений. Уровень лактата и пирувата в коронарном перфузате достоверно превышал исходные и контрольные значения. Реоксигенация усиливала утечку АсАТ, ЛДГ и КК-МВ-фракции из кардиомиоцитов.

Таблица 3

Чувствительность к гипоксии изолированных сердец крыс, подвергнутых токсическому действию но-шпы ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных	Исходные величины	Гипоксия, мин		Реоксигенация, мин	
			2	10	2	10
Систолическое давление, мм рт. ст.	К	55,4±1,5	27,5±1,5	25,4±1,6	32,9±2,6	53,9±1,9
	О	39,7±1,3*	23,9±1,9^	24,1±1,5^	36,4±1,8	37,3±1,1*
Диастолическое давление, мм рт. ст.	К	4,93±0,1	8,74±0,2	10,4±0,5	9,76±0,3	8,25±0,8
	О	6,29±0,4*	12,7±1,1*^	16,8±1,4*^	11,4±1,1^	9,14±1,1^
Развиваемое давление, мм рт. ст.	К	51,1±1,5	18,9±1,4	14,9±1,6	23,1±2,7	46,1±1,4
	О	33,4±1,4*	11,1±1,2*^	7,84±1,4*^	24,9±2,5^	29,5±1,6*^
Скорость сокращения, мм рт. ст. / с	К	1102±28	432±38	318±22	520±41	977±19
	О	744±23*	272±28*^	214±23*^	464±46^	577±38*^
Скорость расслабления, мм рт. ст. / с	К	840±32	252±19	244±13	334±24	626±16
	О	561±33*	139±11*^	127±13*^	260±22*^	377±21*^

Примечание. Группы животных: К - контроль (n=10); О - опыт (n=10). * - достоверные различия с контролем, ^ - достоверные различия с исходными величинами.

Нарушение процессов сокращения и расслабления, отрицательный инотропный эффект и увеличение дефекта диастолы при навязывании высокой частоты сокращений свидетельствует о повреждении Са-насоса сарколеммы и саркоплазматического ретикулума, а тяжесть этого повреждения можно оценить перфузией сердец раствором с повышенной концентрацией в нем ионов кальция. Гиперкальциевая проба в течение 1-й мин проявлялась положительным инотропным эффектом, что выражалось в увеличении систолического и развиваемого давления, а также скоростей сокращения и расслабления. Диастолическое давление начинало повышаться со 2-й мин перфузии и достигало максимальных значений на 15-й мин (в 2,8 раза превышая исходный уровень).

Сердца животных, перенесших 60-минутное острое отравление но-шпой, в течение первой минуты гиперкальциевой перфузии

обнаруживали положительный инотропный эффект. Затем инотропный эффект избытка ионов кальция в перфузате нивелировался, отмечалась выраженная кардиодепрессия и нарастание контрактурных сокращений, в результате чего развиваемое давление на 15-й мин перфузии уменьшалось в 3 раза, систолическое давление – в 1,5 раза, а скорость сокращения и расслабления в 3,3 и 4,5 раза соответственно по отношению к исходным данным; диастолическое давление возрастало в 3 раза. Реперфузия сердец раствором с нормальным содержанием кальция (2,5 ммоль/л) негативно повлияла на показатели сократимости сердец: систолическое давление оказалось меньше исходного на 40%, развиваемое – на 63%, скорость сокращения – на 65 %, скорость расслабления – на 74%, а диастолическое давление повысилось в 3,2 раза. Полученные результаты при проведении гиперкальциевой перфузии свидетельствуют о том, что среди механизмов, ответственных за нарушение сократимости сердец в условиях острого отравления но-шпой, важная роль принадлежит нарушению трансмембранного обмена ионов кальция.

Таким образом, проведенные исследования, проведенные в условиях целостного организма и на изолированных, изоволюмически сокращающихся сердцах, когда жестко контролируются основные параметры сердечной деятельности (частота сокращений, перфузионное давление, рН, газовый и ионный состав перфузата), позволяют утверждать, что но-шпа при острых отравлениях нарушает энергетический метаболизм в сердечной мышце, разобщая окисление, сопряженное с фосфорилированием, активирует анаэробный гликолиз, ингибирует активность мембранолокализованных липидзависимых транспортных АТФаз, повышает проницаемость мембран кардиомиоцитов. Это проявляется в угнетении сократительной функции миокарда, развитии контрактурных сокращений миофибрилл. Кардиодепрессия становится более очевидной в условиях предъявления сердцу повышенной нагрузки ритмом высокой частоты, гипоксической перфузии и реоксигенации, а также нагрузки кальцием во время гиперкальциевой перфузии.