

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, исследуемое вещество 1б обладает низким наркотическим потенциалом, вызывает рецессивные признаки зависимости только при субхроническом введении, а также в значительной мере снижает тяжесть опиоидной зависимости на фоне хронической морфинизации животных.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гузевых Л. С., Валуйских Д. В., Воронина Т. А. // Экспер. и клин. фармакология — 2005. — Т. 68, № 3. — С. 16—19.

2. Broseta I, Arias R. M., Stinus L., et al. // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. — 2002. — Vol. 2. — P. 335—347.

3. Fernandez-Espejo, Cadore M., Stinus L. // Psychopharmacology. — 1995. — Vol. 122. — P. 122—130.

4. Mello N. K., Negus S. S. // Ann N Y Acad Sci. — 2000. — P. 104—132.

5. Mamiya T., Noda Y., Ren X., et al. // Br. J. Pharmacol. — 2001. — Vol. 132, P. 1111—1117.

6. Todtenkopf M. S., Marcus J. F., Portoghese P. S., et al. // Psychopharmacology (Berl). — 2004. — Vol. 172, № 4. — P. 463—470.

7. Walker E. A., Sterious S. N. // British J. Pharmacol. — 2005. — Vol. 145. — P. 975—983.

8. Wang Z., Raehal K. M., Bilsky E. J., Sadee W. // J. Neurochem. — 2001. — Vol. 77. — P. 1590—1600

**И. Н. Иежица, М. В. Харитонов, А. А. Желтова, Н. Г. Паньшин, Г. Л. Снигур, А. В. Смирнов, Н. А. Гурова, А. А. Спасов**

Кафедра фармакологии ВолГМУ, НИИ фармакологии

## АДРЕНОРЕАКТИВНОСТЬ МИОКАРДА В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА МАГНИЯ

УДК 615:546.46:616.12-092.4

Целью данного исследования являлась функциональная и морфологическая оценка состояния миокарда в условиях дефицита магния при проведении нагрузки адреналином. В ходе экспериментов было показано, что изменение показателей кардиогемодинамики в ответ на нагрузку адреналином у магнидефицитных животных менее выражено, чем у животных контрольной группы. При морфологическом исследовании были выявлены признаки ишемического повреждения кардиомиоцитов. Данные изменения также могут служить органической основой для снижения функциональных резервов сердца в условиях дефицита магния в ответ на введение адреналина.

*Ключевые слова:* дефицит магния, адреналин, кардиогемодинамика, миокард.

**I. N. Iezhitsa, M. V. Kharitonova, A. A. Zheltova, N. G. Panshin, G. L. Snigur, A. V. Smirnov, N. A. Gurova, A. A. Spasov**

## MIOCARDIAL ADRENOREACTIVITY IN MAGNESIUM-DEFICIENT RATS

The aim of the study was to estimate functional and morphological state of myocardium after epinephrine administration in magnesium-deficient rats. Changes of hemodynamic parameters in magnesium-deficient animals have been shown to be less pronounced in comparison with control group. Attributes of myocardium ischemic injury revealed during morphological study contribute to decreasing response to epinephrine in rats fed with magnesium-deficient diet.

*Key words:* magnesium deficiency, epinephrine, cardiohemodynamics, myocardium.

Дефицит магния часто осложняет течение сердечно-сосудистых заболеваний, начиная врожденными пороками сердца и кончая ишемической болезнью сердца (ИБС) [8, 12]. Так, Kousa A. с соавт. в исследовании, включавшем 18 946 мужчин 35—74 лет, перенесших инфаркт миокарда, показали, что дефицит магния в питьевой воде четко коррелирует с частотой данной патологии [10]. Ранее было проведено изучение влияния дефицита магния на аритмогенный порог и липидный статус, показано, что в данных условиях животные становятся более чувствительными к аритмогенному действию кальция хлорида, у них отмечается повышение индекса атерогенности [5, 7]. Дефицит магния снижает

стрессоустойчивость животных. В то же время в литературе отсутствуют данные о том, как изменяется кардиогемодинамика магнидефицитных животных в условиях нагрузки адреналином.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка адренореактивности миокарда животных с дефицитом магния с дальнейшим морфологическим исследованием миокарда.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты были выполнены на 13 крысах-самцах массой 200—240 г. Интактная группа животных составляла контроль ( $n = 7$ ). У остальных

ных 6 крыс вызывали магниидефицитное состояние, для моделирования которого использовали специальную магниидефицитную диету. В состав диеты входили: казеин (20 %), крахмал (70 %), DL-метионин (0,3 %), холина битартрат (0,2 %), кукурузное масло (5 %), поливитаминная смесь (1 %) и полиминеральная смесь, не содержащая магния (табл. 1). Весь рацион готовился на деионизированной воде, эту же воду в ходе эксперимента использовали в качестве питьевой воды для животных, находящихся на диете. Интактные животные получали полноценную диету, содержащую 0,84 г MgO на 1 кг диеты, что соответствовало 0,5 г элементарного магния на кг диеты.

ТАБЛИЦА 1

**Состав сбалансированной магниидефицитной полиминеральной смеси AIN-76, входящей в специализированную диету фирмы MP Biomedicals (Ohio, США)**

Содержание макро- и микроэлементов (процентная доля элемента)	г/кг
Кальция фосфат двухосновной	500,0
Натрия хлорид	74,0
Калия цитрат, моногидрат	220,0
Калия сульфат	52,0
Железа цитрат (16–17% элементарного железа)	6,0
Марганца карбонат (43–48 % элементарного марганца)	3,5
Цинка карбонат (70 % элементарного цинка)	1,6
Калия йодид	0,01
Натрия селенит	0,01
Хром калия сульфат	0,55
Меди карбонат (53–55 % элементарной меди)	0,3
Сахароза порошкообразная	124,0

Скорость и глубину развития гипомagneзиемии контролировали, определяя содержание магния в эритроцитах животных, спектрофотометрическим методом по цветной реакции с титановым желтым [4]. При снижении концентрации магния ниже 1,4 ммоль/л в эритроцитах считалось, что у животных развилась гипомagneзиемия средней тяжести. На 71-й день диеты проводилась регистрация основных показателей кардио- и гемодинамики. Животных предварительно наркотизировали (этаминал-натрия 40 мг/кг, внутривенно), в условиях искусственной вентиляции легких проводилась торакотомия и перикардотомия. Для измерения внутрижелудочкового давления и его первой производной (dp/dt+ и dp/dt-) через верхушку сердца в полость левого желудочка вводился катетер, соединенный с датчиком (Элема, Швеция). Для измерения артериального давления катетеризировалась общая сонная артерия, катетер также соединялся с датчиком. Через датчики с помощью компьютерного гемодинамического анализатора на базе программы BEAT (ВКНЦ РАМН, Москва, 2000) записывались следующие показатели кардио- и гемодинамики: левожелудочковое давление (ЛЖД), скорость сокращения и скорость расслабления миокарда (dp/dt+ и dp/dt- соответственно), частота сер-

дечных сокращений (ЧСС), систолическое и диастолическое артериальное давление (АД). Интенсивность функционирования структур (ИФС) получали расчетным способом по формуле [1]:

$$ИФС = \frac{ЛЖД \times ЧСС}{m}$$

где  $m$  = масса левого желудочка +  $\frac{2}{3}$  массы межжелудочковой перегородки в мг.

После периода стабилизации регистрируемых показателей (10 мин) проводилась дозированная стимуляция адренорецепторов сердца, которая осуществлялась путем введения адреналина внутривенно в дозе  $1 \times 10^{-6}$  мг на кг массы тела [1] и регистрировались вышеперечисленные показатели гемодинамики. Статистическая обработка гемодинамических данных проводилась с помощью программы Statistica 6.0 с использованием критерия Манна-Уитни.

После этого животное забивалось для морфологического изучения срезов левого желудочка. Продольные и поперечные фрагменты, включающие все оболочки сердца, вырезались на среднем уровне и фиксировались в 4%-м растворе нейтрального забуференного формалина (рН 7,4) в течение 24 часов, затем заливались в парафиновые блоки по общепринятым методикам. Парафиновые срезы толщиной 3–5 мкм окрашивались гематоксилином и эозином по Масону, гематоксилином-основным фуксином-пикриновой кислотой (ГОФП) по Ли [5], а также изучались в поляризованном свете. С помощью компьютерной системы «ВидеоТестМорфо-4» (Россия) определялась объемная плотность (ОП) кардиомиоцитов ( $V_v$  кмц,  $мм^3$ ), объемная плотность ядер кардиомиоцитов ( $V_v$  якмц,  $мм^3$ ) объемная плотность стромы ( $V_v$  с,  $мм^3$ ) и объемная плотность фуксинофильных кардиомиоцитов ( $V_v$  ГОФП+кмц,  $мм^3$ ), отношение объемной плотности стромы к объемной плотности паренхимы ( $V_v$ с/  $V_v$ кмц) [1]. Обработка морфологических данных проводилась с использованием парного t-критерия Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

У крыс, находящихся на безмагниевогой диете, к концу 10-й недели наблюдалось достоверное снижение уровня магния в эритроцитах в среднем на 54 % (с 2,01 до 0,92 мм/л) по отношению к группе интактных животных. Снижение уровня магния в организме сопровождалось изменением внешнего вида (потускнением шерстного покрова, гиперемией открытых участков тела — ушных раковин, хвоста и лап) и снижением массы тела, в среднем на 22 % ( $p < 0,05$ ).

В условиях алиментарного дефицита магния у животных наблюдались следующие изменения показателей гемодинамических показателей. В ответ на введение адреналина (табл. 2) прирост левожелудочкового давления, максимальной скорости сокращения и расслабления миокарда у животных с дефицитом магния был в 2,3, 2,25 и 2,6 раза меньше, чем в группе контроля.

ТАБЛИЦА 2

Показатели кардио- и гемодинамики крыс (в дельта % по отношению к исходным показателям) с дефицитом магния после введения адреналина ( $M \pm m$ )

№	Показатель	Время после внутривенного введения адреналина, сек.					
		10	20	30	40	50	60
<b>Животные, получавшие обычную диету (контроль), n = 7</b>							
1	ЛЖД	51,72 ± 5,09	49,01 ± 6,43	43,06 ± 1,94	38,47 ± 2,16	36,24 ± 1,97	34,43 ± 2,11
2	ИФС	43,02 ± 5,04	34,61 ± 6,32	47,32 ± 3,21	45,16 ± 3,41	52,57 ± 7,94	56,12 ± 5,39
3	dp/dt+	54,26 ± 7,24	58,39 ± 6,23	72,40 ± 8,23	69,08 ± 7,85	64,23 ± 8,28	59,00 ± 8,62
4	dp/dt-	29,56 ± 5,23	25,70 ± 2,36	21,71 ± 2,53	19,22 ± 3,18	16,35 ± 2,82	13,94 ± 3,21
5	АД сист	71,34 ± 6,57	68,10 ± 4,93	63,15 ± 5,31	56,86 ± 4,06	49,85 ± 4,64	35,87 ± 4,97
6	АД диаст	67,16 ± 7,15	57,85 ± 6,19	46,62 ± 4,73	49,33 ± 6,09	42,40 ± 7,02	42,09 ± 6,94
7	ЧСС	-5,73 ± 1,20	-9,65 ± 1,87	2,94 ± 1,18	4,78 ± 1,11	11,83 ± 4,97	16,10 ± 3,26
<b>Животные, получавшие диету с дефицитом магния, n = 6</b>							
1	ЛЖД	21,13 ± 1,84*	22,42 ± 3,29*	18,30 ± 2,75*	15,77 ± 2,71*	13,52 ± 3,18*	11,26 ± 3,62*
2	ИФС	19,02 ± 2,79*	17,09 ± 4,33*	18,83 ± 3,45*	19,45 ± 2,41*	16,99 ± 3,01*	20,04 ± 2,15*
3	dp/dt+	31,97 ± 4,58*	28,97 ± 4,39*	32,17 ± 4,83*	26,90 ± 5,90*	22,41 ± 6,00*	20,95 ± 6,16*
4	dp/dt-	10,68 ± 0,96*	7,54 ± 1,05*	7,21 ± 2,65*	5,70 ± 2,93*	3,34 ± 2,58*	2,74 ± 1,29*
5	АД сист	58,59 ± 5,32	54,64 ± 5,52	35,91 ± 7,18*	28,56 ± 6,60*	24,50 ± 4,83*	20,53 ± 4,91
6	АД диаст	50,43 ± 4,55	44,10 ± 7,68	38,09 ± 3,57	44,56 ± 3,27	25,81 ± 3,89*	25,39 ± 3,17
7	ЧСС	-1,77 ± 2,00	-4,46 ± 1,13	0,40 ± 0,92	3,24 ± 1,26	5,28 ± 1,25	8,11 ± 1,62

Примечание. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Statistica 6.0 с использованием Манна-Уитни; \* достоверны относительно контроля при  $p < 0,05$ .

Систолическое и диастолическое артериальное давление возрастало в группе магнидефицитных животных максимально на 10-й секунде наблюдения по сравнению с исходными данными, что существенно не отличалось от показателей, полученных в группе интактных животных. Максимальные различия в приросте ИФС были достигнуты в конце реакции, когда данный показатель в группе магнидефицитных животных был в 2,8 раза ниже, чем в группе контроля.

Морфологическое исследование показало, что в группе с дефицитом магния объемная плотность кардиомиоцитов достоверно снижалась по

сравнению с контрольной группой (табл. 1). Отмечалось достоверное увеличение (по сравнению с контролем) объемной плотности кардиомиоцитов с фуксинофильной цитоплазмой при окраске по Ли (табл. 3). ГОФП-позитивные кардиомиоциты располагались отдельными группами преимущественно периваскулярно в субэпикардиальных отделах миокарда левого желудочка. В эозинфильных мышечных сегментах при поляризационно-микроскопическом исследовании обнаружено сближение анизотропных дисков за счет укорочения изотропных (сегментарные контрактуры I-II степени) (рис. 1).

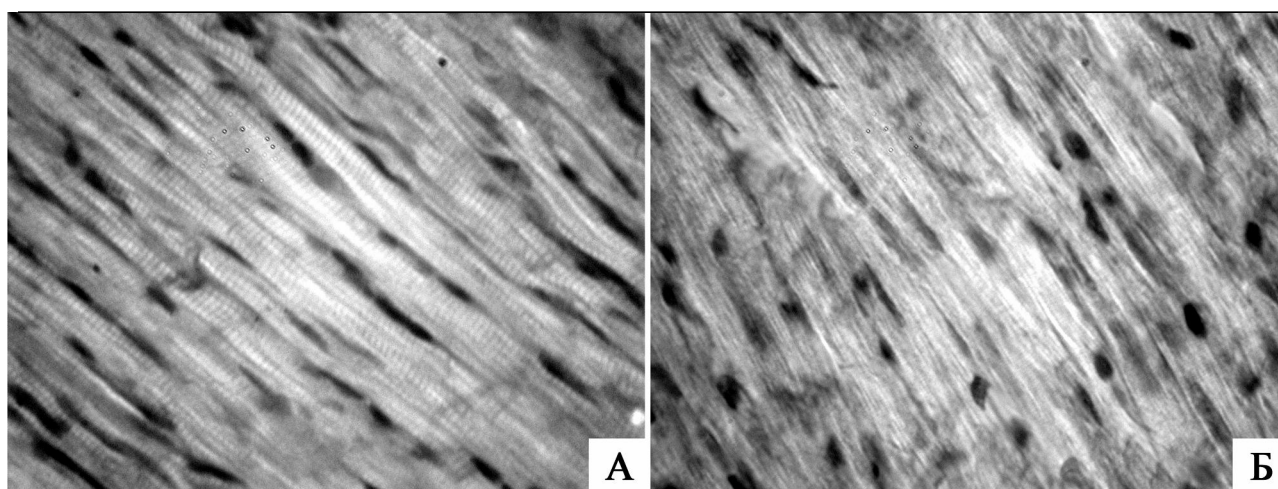


Рис. 1 Стенка левого желудочка, субэпикардиальный миокард:

А — контрольная группа. Б — Дефицит магния, сегментарные контрактуры I-II степени. Поляризационная микроскопия. Объектив x100 (масляная иммерсия), окуляр x10

ТАБЛИЦА 3

**Объемная плотность и объемное отношение основных компонентов миокарда крыс с алиментарным дефицитом магния ( $M \pm m$ ).**

Группа	Показатели:				
	Vv кмц, мм <sup>3</sup>	Vv якмц, мм <sup>3</sup>	Vv с, мм <sup>3</sup>	VvГОФП+ кмц, мм <sup>3</sup>	Vv с/Vv кмц, у.е.
Животные, получавшие обычную диету	827 ± 13,3	7,2 ± 1,2	73,6 ± 6,2	33,4 ± 3,5	0,09 ± 0,02
Животные, получавшие диету с дефицитом магния	718 ± 15,2*	11,4 ± 0,9	125 ± 7,4*	134 ± 8,2*	0,18 ± 0,03*

Примечание. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью t-критерия Стьюдента; \* достоверны относительно контроля при  $p < 0,05$ ; Vv кмц — объемная плотность кардиомиоцитов, Vv якмц — объемная плотность ядер кардиомиоцитов, Vv с — объемная плотность стромы; Vv ГОФП+ кмц — объемная плотность фуксинофильных кардиомиоцитов, Vvc/ Vv кмц — отношение объемной плотности стромы к объемной плотности паренхимы.

Отмечалось неравномерное полнокровие кровеносных сосудов. Во внутренней, средней и наружной оболочках артерий отмечались признаки умеренно выраженной лимфоплазмочитарной инфильтрации с отеком, которая распространялась периваскулярно и сочеталась с развитием склеротических изменений вокруг сосудов и в их стенке. Объемная плотность стромы достоверно увеличивалась по сравнению с контрольной группой. Увеличение ОП стромы в сочетании с уменьшением ОП кардиомиоцитов характеризовалось увеличением соотношения Vv с/Vv ( $p < 0,05$ ) (табл. 3).

Вышеописанные изменения гемодинамики свидетельствует о снижении функциональных резервов сердца у магнидефицитных животных при реакции на адреналин. Ранее Williams L. T. с соавт. было показано, что магний в 20 раз повышает аффинитет  $\beta$ -агонистов к рецепторам, ассоциированных с аденилатциклазой. По мнению Williams L. T. с соавт., Skorodin M. S. с соавт., Mroczek W. J. с соавт. магний необходим для активации аденилатциклазы и синтеза цАМФ. цАМФ обеспечивает фосфорилирование протеинкиназы, что в кардиомиоцитах приводит к открытию кальциевых каналов и повышению сократительной активности. Иначе говоря, магний необходим для реализации инотропного эффекта адреналина [11].

Кроме того, у крыс с алиментарным дефицитом магния обнаруженные морфологические изменения свидетельствовали о развитии хронического воспаления в стенке кровеносных сосудов с

последующим склерозированием и формированием мелкоочагового кардиосклероза. Данный процесс сопровождался увеличением объемной плотности соединительнотканной стромы преимущественно вокруг кровеносных сосудов, что существенно ухудшало кровоснабжение миокарда и способствовало развитию его гипоксии. Ишемическое повреждение кардиомиоцитов сопровождалось не только выраженной фуксинофилией, но и выраженными изменениями миофибрилл в виде контрактур. Данные морфологические изменения также могут служить органической основой для снижения функциональных резервов сердца в условиях дефицита магния.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, дефицит магния приводит к формированию мелкоочагового кардиосклероза, что функционально проявляется меньшим притоком левожелудочкового давления, скорости сокращения и расслабления миокарда, систолического и диастолического артериального давления в пробе с нагрузкой адреналином.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Автандилов Г. Г., Яблчанский Н. И., Салбиев К. Д., Непомнящих Л. М. Количественная морфология и математическое моделирование инфаркта миокарда. — Новосибирск: Наука, 1984. — 288 с.
2. Ковалев Г. И., Петров В. И., Гурбанов К. Г. // Фармакология кардиотонических средств. — М.: АМН СССР, 1988. — С. 106—110.
3. Меерсон Ф. З. Адаптация, стресс и профилактика. — М.: «Наука», 1981. — 151 с.
4. Меньшиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике. — М.: Медицина, 1987.
5. Саркисов Д. С., Перов Ю. Л. Микроскопическая техника: Руководство для врачей и лаборантов. М: Медицина 1996. — 544 с.
6. Спасов А. А., Иежица И. Н., Харитонова М. В., Гурова Н. А. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2008. — № 7. — С. 69—72.
7. Спасов А. А., Иежица И. Н., Харитонова М. В., Кравченко М. С. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2008. — Т. 71, № 4. — С. 35—41.
8. Abbott R. D., Ando F., Masaki K. H., et al. // Am. J. Cardiol. — 2003. — Vol. 15. — P. 665—669.
9. Ko Y.H., Hong S., Pedersen P. L. // J Biol Chem. — 1999. — Vol. 274. — P. 28853—28856.
10. Kousa A., Moltchanova E., Viik-Kajander M., et al. // J. Epidemiol. Community Health. — 2004. — Vol. 58, № 2. — P. 136—139.
11. Storm W., Zimmerman J.J. // Ann. Thorac. Surg. — 1997. — Vol. 64. — P. 572—577.
12. Ueshima K. // Magnes Res. — 2005. — Vol. 18, № 4. — P. 275—284.