

УДК 615.9:661.74

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ИЗОЛИРОВАННОГО МИОКАРДА КРЫСЫ ПОСЛЕ КУРСОВОГО ПРИМЕНЕНИЯ ДИОКТИЛТЕРЕФТАЛАТА

Д.С. Лаптев,
С.Г. Петунов,
О.В. Нечайкина,
Д.В. Бобков

ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, Российская Федерация

На модели изолированного сердца крысы изучено кардиотоксическое влияние длительной (в течение 60 дней) ингаляции диоктилтерефталата в дозах 3,4, 18,6 и 96,8 мг/м³. Курсовое воздействие диоктилтерефталатом не изменяет сократительную активность и адренореактивность сердца крыс. Диоктилтерефталат в дозах 96,8 мг/м³ и 18,6 мг/м³ способствует развитию изменений электрической активности миокарда, приводя к увеличению амплитуды зубцов R и T, удлинению интервала QT и укорочению PR-интервала, что может вызывать нарушение сердечного ритма при ишемических состояниях. Адренореактивность изолированного сердца под влиянием диоктилтерефталата не изменяется. Учитывая полученные данные безопасной для сердца можно считать концентрацию диоктилтерефталата 3,4 мг/м³.

Ключевые слова: диоктилтерефталат, изолированное сердце, кардиотоксичность.

Введение. Диоктилтерефталат (ДОТФ) представляет собой сложный эфир 2-этилгексанола и терефталевой кислоты. Является пластификатором нового поколения, находящим применение в качестве более экологичного и безопасного заменителя диоктилфталата (ДОФ) и других фталатов. Ближайшей перспективой является существенное увеличение производства ДОТФ с улучшенными техническими характеристиками с целью импортозамещения в российской нефтехимической отрасли, реализуемое АО «Сибур-Химпром» (г. Пермь). Несмотря на установленный низкий уровень токсического воздействия на организм человека, расширение промышленного производства ДОТФ требует углубленной оценки его безопасности, в частности, оценки его влияния на сердечно-сосудистую систему, доля которой в профпатологии является лидирующей.

Острое интратрахеальное введение ДОТФ (максимальная концентрация в пересчете составила 2500 мг/м³) не оказывает токсического влияния на организм животных [1], сведений же о хроническом действии ДОТФ в литературе не представлено.

Целью работы было изучение кардиотоксических эффектов ДОТФ при субхроническом (в течение 60 дней) ингаляционном действии.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на модели *ex vivo* -изолированном сердце самцов белых крыс, полученных из питомника ФГБУН ИБХ РАН «Пушино» (Москва). Использование изолированных органов позволяет проводить исследования в отсутствие системных факторов регуляции и дает возможность исследовать механизмы действия биологически активных веществ, в том числе ксенобиотиков, на параметры функциональной активности, определить структуры-мишени, установить степень нарушения функции и обратимость ее восстановления под влиянием токсикантов.

Были сформированы 4 экспериментальные группы животных по 6 особей в каждой: контроль, ДОТФ (max), ДОТФ (med), ДОТФ (min). Животные опытных групп подвергались ингаляционной заправке ДОТФ ежедневно в течение 60 дней по четыре часа в дозах: ДОТФ (max) – 96,8 мг/м³, ДОТФ (med) – 18,6 мг/м³, ДОТФ (min) – 3,4 мг/м³. По окончании курсового воздействия животные подвергались эвтаназии путем церви-

Лаптев Денис Сергеевич (Laptev Denis Sergeevich), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экстремальной физиологии ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, lapden@mail.ru

Петунов Сергей Гервасиевич (Petunov Sergey Gervasiyevich), кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией экстремальной физиологии ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, sergey-petunov@mail.ru

Нечайкина Ольга Валерьевна (Nechaykina Olga Valeryevna), научный сотрудник лаборатории экстремальной физиологии ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, olga2278@mail.ru

Бобков Дмитрий Владимирович (Bobkov Dmitriy Vladimirovich), старший научный сотрудник лаборатории экстремальной физиологии ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, bdv21@yandex.ru

кальной дислокации, после чего проводили исследование сократительной и электрической активности изолированного сердца по Лангендорфу в соответствии с методикой, описанной ранее [2]. Параметры сократительной активности сердца регистрировали с помощью системы PowerLab Data acquisition system 8/30 (ADInstruments, USA) с последующей обработкой в программе «LabChartProUpgrade 7.0». Регистрируемые показатели: давление перфузии (ДП), пульсовое давление (ПД), частота сердечных сокращений (ЧСС), конечное диастолическое давление (КДД), ЭКГ. С помощью программного обеспечения дополнительно рассчитывались интегральный показатель минутной производительности левого желудочка сердца, соответствующий площади под кривой изменения давления в левом желудочке за одну минуту (Int_{мин}), максимальная скорость нарастания и снижения давления в левом желудочке (+dP/dt; -dP/dt). В каждом эксперименте проводили исследование адренореактивности миокарда, оценку устойчивости к ишемическому/реперфузионному воздействию.

Оценка адренореактивности проводилась путем добавления в перфузат адреналина до достижения концентрации 1×10^{-6} М. Экспозиция составляла 10 минут, что определялось скоростью формирования сосудистых реакций на действие вазоактивной субстанции [3]. По окончании воздействия проводили «отмывание» сердца физиологическим раствором Кребса-Хензелейта с целью определения обратимости наблюдаемых эффектов. Для оценки устойчивости изолированного миокарда к ишемии/реперфузии выполняли тотальную ишемию путем прекращения перфузии в течение 30 минут при 37°C с последующей реперфузией также в течение 30 минут.

При анализе результатов оценивали динамику параметров сократительной и электрической активности сердца по сравнению с фоновыми значениями. Статистическую обработку проводили в программе «GraphPad Prism 5.04». Для сравнения применяли Т-критерий Вилкоксона для связанных выборок, а для выявления межгрупповых различий применяли U-критерий Манна-Уитни. Статистически значимыми считались различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. Курсовое 60-дневное ингаляционное применение ДОТФ в исследуемых дозах не оказывало существенного влияния на параметры сократительной активности изолированного миокарда, такие как ЧСС, пульсовое давление и др. (табл. 1). Вместе с тем были выявлены изменения электрической активности сердца.

Анализ ЭКГ изолированного сердца крыс, заправленных ДОТФ в течение 60 дней, показал, что применение ДОТФ в средней и большой дозе сопровождается увеличением амплитуды зубцов R и T (табл. 2). У части животных в группе ДОТФ тах выявлена тенденция к удлинению интервала QT и укорочению PR-интервала.

Изменения электрической активности сердца, выявленные в экспериментальных группах животных, указывают на ускорение проведения возбуждения по миокарду предсердий и желудочков, что косвенно характеризуется увеличением максимальной скорости сокращения миокарда (+dP/dt), а также на удлинение электрической систолы сердца, что может привести к нарушению ритма сердечной деятельности. О токсическом эффекте длительной ингаляции ДОТФ в высоких концентрациях может свидетельствовать количество необратимых эпизодов желудочковой фибрилля-

Таблица 1

Параметры сократительной активности изолированного сердца крысы после курсовой ингаляционной заправки ДОТФ в течение 60 дней (M±SE)

Группа животных	N	ДП мм.рт.ст.	Int _{мин} у.е.	ЧСС уд./мин.	ПД мм.рт.ст.	+dP/dt мм.рт.ст./с	-dP/dt мм.рт.ст./с	КДД мм.рт.ст.
Контроль	4	94,9± 28,9	1753,0± 203,0	218,6± 8,7	92,2± 9,4	2965,0± 210,8	-1583,0± 114,3	8,8± 0,7
ДОТФ MIN	6	95,1± 1,7	1889,0± 259,0	235,2± 5,0	89,1± 13,5	2989,0± 408,6	-1597,0± 223,9	9,8± 1,9
ДОТФ MED	6	88,1± 14,4	1949,0± 217,5	223,4± 11,2	96,5± 12,1	3049,0± 349,9	-1588,0± 167,9	6,7± 1,1
ДОТФ MAX	6	91,8± 12,4	1841,0± 262,8	229,3± 6,7	91,4± 13,1	2907,0± 391,8	-1575,0± 262,6	8,3± 1,4

Таблица 2

Параметры электрической активности изолированного сердца крысы после ингаляционной заправки ДОТФ в течение 60 дней (M±SE)

Группа животных	RR Interval (s)	Heart Rate (bpm)	PR Interval (s)	P Duration (s)	QRS Interval (s)	QT Interval (s)	R Amplitude (mV)	T Amplitude (mV)
Контроль	0,283± 0,012	212,7± 9,2	0,051± 0,004	0,018± 0,001	0,015± 0,002	0,042± 0,005	7,865± 0,704	0,405± 0,237
ДОТФ min	0,263± 0,010	229,4± 8,1	0,052± 0,005	0,019± 0,001	0,017± 0,002	0,045± 0,009	7,729± 1,075	0,594± 0,423
ДОТФ med	0,280± 0,023	220,7± 14,970	0,056± 0,004	0,019± 0,001	0,018± 0,001	0,050± 0,005	11,990± 1,256 *	0,529± 0,430
ДОТФ max	0,288± 0,030	214,1± 18,6	0,039± 0,004	0,015± 0,003	0,014± 0,002	0,060± 0,012	10,340± 1,664	1,079± 0,769

Примечание: * – статистически значимое отличие от контрольной группы животных при $p < 0,05$

ции изолированного сердца крыс в период реперфузии. В группах ДОТФmax и ДОТФmed таких эпизодов было зафиксировано по два, в группе ДОТФmin фибрилляция не регистрировалась. Предпосылкой для развития фибрилляции желудочков, выявленной у части животных, может являться укорочение интервала PR, что характеризует увеличение скорости проведения возбуждения между предсердиями и желудочками.

При изучении влияния ДОТФ на устойчивость изолированного сердца крысы к ишемии и способность миокарда восстанавливать свои функции в условиях реперфузии выявлено дозозависимое изменение показателей сократимости. При отсутствии фибрилляции, вызванной применением препарата, такие показатели, как интегральная производительность, пульсовое давление, индекс сократительной функции, максимальная скорость сокращения и расслабления левого желудочка восстанавливались в цикле ишемия-реперфузия статистически значимо

лучше в экспериментальной группе ДОТФmax ($p < 0,05$) (табл. 3). В группе животных ДОТФmed статистически значимо лучше, чем в контроле, восстановился показатель интегральной производительности миокарда, а в группе ДОТФmin функциональные показатели сердца не отличались от таковых в контроле. Выявлено значительное дозозависимое снижение конечного диастолического давления в левом желудочке сердца крыс групп ДОТФmax и ДОТФmed по сравнению с контролем ($p < 0,05$) и ДОТФmin (рис. 1).

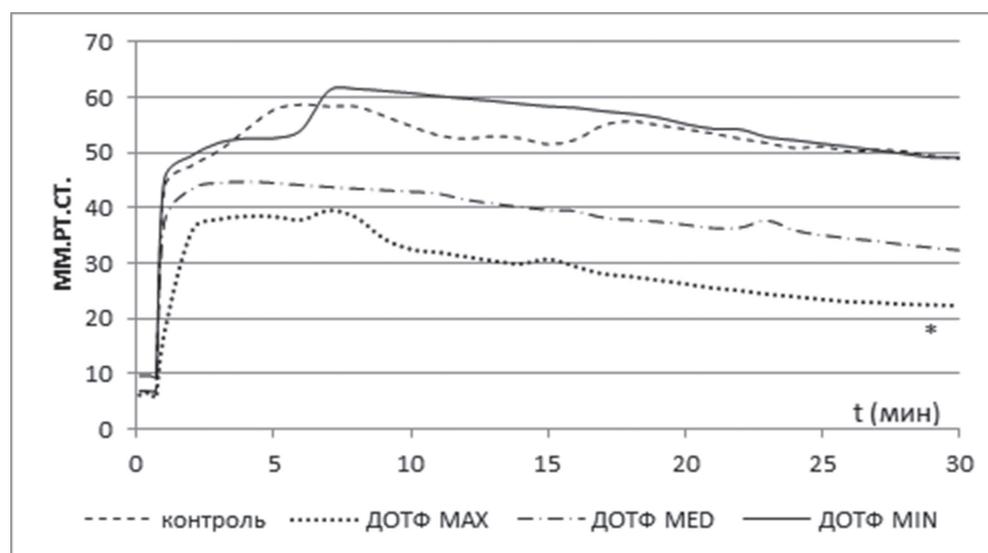


Рис. 1. Динамика конечного диастолического давления изолированного сердца крыс во время реперфузии. * – статистически значимое отличие от контрольной группы $p < 0,05$

Таблица 3

Параметры сократительной активности изолированного сердца крыс при реперфузии (% к фоновым значениям, M±SE)

Группа животных	N	ДП (%)	Int _{мин} (%)	ЧСС (%)	ПД (%)	+dP/dt (%)	-dP/dt (%)	КДД мм.рт.ст.
Реперфузия кон-ль	10	76,9±11,7	55,8±6,7	91,1±7,1	53,7±7,6	58,7±7,3	70,3±7,7	48,9±5,3
ДОТФ MIN	6	76,9±22,0	73,7±15,5	104,8±3,1	60,6±13,0	66,0±14,9	70,5±12,3	48,7±9,5
ДОТФ MED	6	70,7±9,9	90,4±18,3*	88,5±6,4	88,7±20,9	88,8±21,7	100,5±19,6	32,4±7,7
ДОТФ МАХ	6	90,5±6,5	133,4±18,1*	108,1±9,3	117,3±11,1*	120,6±12,2*	127,4±9,7*	22,3±6,4*

Примечание: * – статистически значимое отличие от контрольной группы животных при p<0,05

Таблица 4

Параметры сократительной активности изолированного сердца крыс под действием адреналина (Относительные данные в % к фоновым значениям, M±SE)

Группа животных	N	ДП	Int _{мин}	ЧСС	ПД	+dP/dt	-dP/dt	КДД
Адреналин Контроль	4	68,8±10,9	149,8±14,1	145,3±3,1	147,7±7,6	185,0±13,4	203,7±16,6	110±12,5
А-н ДОТФ MIN	6	79,4±11,0	140,4±9,2	126,5±8,1	151,9±10,4	184,7±7,9	207,5±13,8	128,7±14,1
А-н ДОТФ MED	6	81,6±18,6	139,9±19,1	126,9±11,4	146,0±21,5	186,0±22,4	218,8±25,3	146,5±23,9
А-н ДОТФ МАХ	5	63,5±10,1	133,5±11,9	133,4±13,4	153,1±19,0	195,7±21,3	222,0±24,3	112,2±5,0

Выявленное увеличение минутной производительности сердца в реперфузионный период при действии больших концентраций ДОТФ, может быть объяснено наблюдающимися под влиянием фталатов метаболическими изменениями в миокарде, которые сопровождаются увеличением митохондриальной массы и способствуют восстановлению энергетического баланса сердца, снижению конечно-диастолического давления и увеличению наполнения желудочков в диастолу [4].

При исследовании адренореактивности изолированного миокарда выявлена тенденция к снижению ЧСС в опытных группах животных в сравнении с контролем в среднем на 16% и увеличению КДД, свидетельствующее о неполном расслаблении миокарда в диастолу (табл. 4). Однако данные изменения не приводили к значимому снижению интегрального показателя минутной производительности миокарда в сравнении с контролем. Таким образом, затравка животных ДОТФ в течение 60 дней не оказы-

ваает существенного влияния на адренореактивность.

Заключение. Таким образом, длительная ингаляция ДОТФ не вызывает существенных изменений параметров сократительной активности сердца крыс и его адренореактивности. Результаты ЭКГ свидетельствуют о том, что во время ингаляции ДОТФ в сред-

них и высоких концентрациях может развиваться дозозависимая ишемия миокарда, очевидно, приводящая к развитию в условиях реперфузии желудочковых фибрилляций, сохраняющихся в ходе всего эксперимента. Концентрация ДОТФ 3,4 мг/м³ может считаться безопасной для сердца в исследуемом временном диапазоне.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мамонов Р.А., Федотова Л.А., Печникова И.А., Потапченко Т.Д. Токсичность диоктилтерефталата. Токсикологический вестник. 2018; 6 (153): 47–48.
2. Лаптев Д.С., Петунов С.Г., Бобков Д.В., Радилов А.С. Влияние β-эндорфина на функциональную активность изолированного сердца крысы. Роль дельта-опиоидных рецепторов. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2015; 3 (55): 66–71.

REFERENCES:

1. Mamonov R.A., Fedotova L.A., Pechnikova I.A., Potapchenko T.D. Toxicity of dioctylterephthalate. Toxicological Bulletin. 2018, 6, 153, Pp. 47–48 (in Russian).
2. Laptev D.S., Petunov S.G., Bobkov D.V., Radilov A.S. The influence of β-endorphin on the functional activity of the isolated heart of rat. The role of μ- and δ-opioid receptors. Regional blood circulation and microcirculation. 2015, 3, 55, Pp. 66–71 (in Russian).
3. Nechaykina O.V., Petunov S.G., Radilov A.S. Effect of β-endorphin on contractile activity

3. Нечайкина О. В., Петунов С.Г., Радилов А.С. Влияние β-эндорфина на сократительную активность изолированных лимфатических сосудов. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2013; 3 (47): 64–70.

4. Posnack N.G., Swift L.M., Kay M.W., Lee N.H., Sarvazyan N. Phthalate exposure changes the metabolic profile of cardiac muscle cells. Environ Health Perspect. 2012; 120 (9): 1243–

of isolated rat lymph vessels. Regional blood circulation and microcirculation. 2013, 3, 47, Pp. 64–70 (in Russian).

4. Posnack N.G., Swift L.M., Kay M.W., Lee N.H., Sarvazyan N. Phthalate exposure changes the metabolic profile of cardiac muscle cells. Environ Health Perspect. 2012, 120, 9, Pp. 1243–51.

D.S. Laptev, S.G. Petunov, O.V. Nechaykina, D.V. Bobkov

FUNCTIONAL PARAMETERS OF ISOLATED RAT MYOCARDIUM AFTER THE COURSE OF DIOCTYL TEREPHTHALATE

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, FMBA, 188663, Leningrad region, Russian Federation

The cardiotoxic effect of long-term (within 60 days) inhalation of dioctyl terephthalate at doses of 3,4; 18,6 and 96,8 mg/m³ has been studied on a model of isolated rat heart. The course administration of dioctyl terephthalate does not change the contractile activity and adrenoreactivity of the rat heart. Dioctyl terephthalate at doses of 96,8 mg/m³ and 18,6 mg/m³ contributes to the development of changes in the electrical activity of the myocardium, leading to an increase in the amplitude of the R and T waves, lengthening the QT interval and shortening the PR interval, which can cause cardiac arrhythmias in ischemic conditions. Adrenoreactivity of isolated heart does not change under the influence of dioctyl terephthalate. The data obtained indicate that the dioctyl terephthalate at concentration of 3,4 mg/m³ is safe for heart.

Keywords: *dioctyl terephthalate, isolated heart, cardiotoxicity.*

Материал поступил в редакцию 11.04.2019 г.

