

азаны больным с легкой степенью
гальным подбором оптимальных

желенной формой коронарной не-
легченной методике (преимущест-
в функционального исследования.

Жильцова М. Н., Назарова И. Н.
оновых ванн разной концентрации
— Вопр. курортот. физиотерапии

оновых ванн в комплексном лече-
Вопр. курортот., физиотерапии и

кусственных углекислых ванн на
рортот., физиотерапии и лечебн.

функциональной оценки системы

ения и клинические методы изуче-

Кривляк Ю. А., Григорьянц Р. А.,
пини хронической коронарной не-
— 43.

кого обменов.— В кн.: Радоновые

Поступила в редакцию
1.XI 1977 г.

ОБЗОРЫ

УДК 612.172

М. И. Гуревич, Н. Ф. Прончук

КУЛЬТУРА МИОКАРДИАЛЬНЫХ КЛЕТОК КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ АДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА СЕРДЕЧНУЮ МЫШЦУ

Одной из главных задач физиологии сердца является выяснение вопроса об организации сложных механизмов регуляции сердца, участвующих в приспособлении его деятельности к изменяющимся потребностям организма. До сих пор продолжают споры о том, каким образом отдельные клетки миокарда объединяются в единое целое, представляет ли собой миокард функциональной синцитий или состоит из отдельных, функционирующих относительно независимо элементов [5]. Имеются данные в пользу того, что сердечная мышца состоит из отдельных функциональных единиц, в каждую из которых входят сотни миокардиальных клеток [5, 38, 43].

Современный подход к разрешению основных проблем физиологии сердца — возбудимости и проведения возбуждения по сердечной мышце, генерации сердечного ритма и особенностей регуляции сократительной активности миокарда, требует проведения исследований на клеточном и субклеточном уровнях. Это условие становится определяющим для дальнейшего исследования межклеточных взаимодействий, энергетического обмена и механизма действия кардиотропных препаратов. Исследователи стремятся не только максимально приблизиться к миокардиальной клетке, но и проникнуть внутрь ее. Наиболее удачным объектом представляется группа жизнеспособных и нормально функционирующих клеток, свободных от васкуляризации и иннервации. Вот почему внимание многих исследователей привлекла культура сердечных клеток [2, 3, 25, 26, 66]. Интерес к ней как к объекту при разнообразных физиологических, биохимических и фармакологических исследованиях объясняется тем, что культура — это «живая модель» клеток сердца, функцию которой можно поддерживать в течение длительного периода времени [9], а клетки в ней свободны от межклеточного соединительного вещества и не подвержены гуморальным и нервным влияниям, господствующим в целостном организме. Такие клетки, выращенные на поверхности стекла, доступны для контроля за их сократительной активностью [2, 4, 33, 67] и для микроэлектродных исследований электрических свойств мембран [3, 6, 10, 14, 20, 33, 34, 41, 46—49, 55, 56, 61, 67, 70, 71, 72]. Отсутствие в культуре васкуляризации и иннервации позволяет изучать прямые воздействия различных фармакологических агентов на клетку путем регистрации ее ответных реакций [2, 14, 24, 26, 30, 35, 59, 66, 75].

Несмотря на то, что в процессе культивирования происходят изменения характерной структурной организации миокарда, несколько изменяется морфология клеток и возникают некоторые сдвиги в энергетическом обмене, основные свойства сердечных клеток в культуре, как показали многочисленные исследования, сохраняются [1—3, 6, 10, 19, 23, 29, 32, 71, 76].

Морфо-функциональные особенности культивируемых сердечных клеток. Началом культивирования считают работы Барроу [15], который в 1912 г. сообщил о том, что клетки, выросшие из эксплантатов сердечной мышцы куриного эмбриона, способны спонтанно и ритмично сокращаться. Однако, прошло много лет, прежде чем методом энзиматического расщепления ткани с помощью трипсина была получена суспензия сердечных клеток и выращена из них культура [16].

Принцип получения растущих в культуре миокардиальных клеток состоит в том, что в стерильных условиях извлекают сердца новорожденных животных или эмбриональные сердца и подвергают их действию протеолитических ферментов. В полученной суспензии ферменты ингибируют холодом, сывороткой крови или специальными ингибиторами, чтобы воспрепятствовать их дальнейшему разрушающему действию на мембраны клеток. Центрифугированием при малых оборотах отделяют клетки от раствора, содержащего инaktivированный фермент, и ресуспенсируют их в питательной среде [1, 3, 6, 19, 23, 29, 32, 71, 76]. Для поддержания роста и жизнедеятельности культивируемых сердечных клеток предложено много синтетических питательных сред, раз-



Рис. 1. Культура сердечных клеток новорожденных крысят. М — миобластоподобные клетки, Ф — фибробластоподобные. Ок. 10. Ув. $\times 300$.

личающихся составом входящей питательной среды является рост и функционированию клеток к поверхности стекла, вещество — фетун — фактор пр

Существует мнение, что форме, характерной для раннего созревания: стадию премиомиобластов, во время которых, переходящих в миоциты, зировать миозин [45].

У культивируемых сердечных клеток Эмбдена — Мейергофа [55, 73]. Анаэробный обмен, к тепловых, однако, интенсификация пролиферации клеток. Быстрым синтезом нуклеотидов экспоненциального роста [73].

Переход к обмену, свой также и рядом других признаков культивируемых клеток, что вызывает [68]; происходит снижение также нарушение структуры. Некоторые считают [11], что точные формы, поскольку они

Морфологически в культуре (миобластоподобные) и Ф. Клетки типа М обладают плоской, эксцентрично расположенной формой их неправильная, часто миобластоподобных клеток световых включений. Ядро овальной формы в центре клетки. Этот тип формой [44].

В течение 24 ч от начала поверхности стекла. Первыми появляются подобные клетки [12, 31, 57]. Эпителиальные культуры с преобладающим слоем в культуре составляет 5 мк

Уже в первые сутки от начала с частотой 30—130 сокращений в минуту в размерах, у них появляются клетки вступают в контакт друг с другом. Образуются различные по величине кластеры в одном ритме [20, 41, 42]. Размеры кластеров увеличиваются, и отдельные кластеры контактируют между собой. Сокращения близлежащих кластеров синхронизируются. Ф-клетки [19]. Описанный характерен для плотной культуры *sparse culture* [19] сердечных клеток, каждая из которых может синхронизирована [19].

При микроэлектродных исследованиях культивируемых сердечных клеток, наблюдаемым у кластерном виде таблицу, подол в плотной культуре.

При исследовании потенциалов покоя по величине потенциалы покоя стали следствием необратимого изменения содержания при введении мембраностойких веществ. Авторы [54], которые изолированным сердечным клеткам калиевая проницаемость их мембран.

Более низкая проницаемость функциональных связей между более плотной культуре [54].

личающихся составом входящих в них компонентов [7, 8]. Важнейшим ингредиентом питательной среды является нативная сыворотка, которая способствует нормальному росту и функционированию клеток в культуре, а также обеспечивает прикрепление клеток к поверхности стекла, поскольку в ней, как полагают, содержится белковое вещество — фетuin — фактор прикрепления [7, 8, 19, 71, 74].

Существует мнение, что клетки в монослойной культуре находятся в незрелой форме, характерной для ранних сроков эмбрионального развития клеток. Обнаружено, что сердечные клетки новорожденных крысят, находясь в культуре, проходят три стадии созревания: стадию премиобластов, которые делятся, но не синтезируют миозин; стадию миобластов, во время которой делению сопутствует синтез миозина, и стадию миобластов, переходящих в миоциты. Последние не способны к делению, но продолжают синтезировать миозин [45].

У культивируемых сердечных клеток отмечается переход обмена углеводов от цикла Эмбдена — Мейергофа и Кребса к анаэробному пентозо-фосфатному пути [28, 55, 73]. Анаэробный обмен, как известно, преобладает в ранних эмбриональных сердцах теплокровных, однако, интенсивность его снижается с развитием эмбриона и замедлением пролиферации клеток. Высокая активность пентозо-фосфатного пути обусловлена быстрым синтезом нуклеотидов и потребностью в предшественниках рибозы во время экспоненциального роста [73].

Переход к обмену, свойственному ранним эмбриональным формам, определяется также и рядом других признаков: уменьшается калиевая проницаемость мембран культивируемых клеток, что вызывает частичную деполяризацию и стимулирует автоматия клеток [68]; происходит снижение специфической активности натрий-калиевой АТФазы, а также нарушение структуры и дезориентация миофибрилл [27, 55, 56, 64, 68, 76]. Некоторые считают [11], что методика культивирования извлекает более незрелые клеточные формы, поскольку они обладают способностью к более быстрому росту.

Морфологически в культуре сердечных клеток различают два типа клеток: М-клетки (миобластоподобные) и Ф-клетки (фибробластоподобные) [12, 19, 23, 29, 31, 32, 44]. Клетки типа М обладают плотной цитоплазмой с множеством саркосом, плотным, круглым, эксцентрично расположенным ядром, содержащим одно, реже — два ядрышка. Форма их неправильная, часто с несколькими отростками (рис. 1). Цитоплазма фибробластоподобных клеток светлая, прозрачная, с малым количеством внутриклеточных включений. Ядро овальной формы, с двумя-тремя ядрышками, светлое, расположено в центре клетки. Этот тип клеток отличается, обычно, полигональной или округлой формой [44].

В течение 24 ч от начала культивирования почти все клетки прикрепляются к поверхности стекла. Первыми прикрепляются и распластываются по стеклу фибробластоподобные клетки [12, 31, 57]. Это свойство Ф-клеток используют для получения обогащенных культур с преобладанием М- или Ф-клеток [12, 31]. Толщина клеточного моно-слоя в культуре составляет 5 мкм [41].

Уже в первые сутки от начала культивирования М-клетки спонтанно пульсируют с частотой 30—130 сокращений в минуту [19, 41]. На вторые сутки клетки увеличиваются в размерах, у них появляются протоплазматические отростки, с помощью которых клетки вступают в контакт друг с другом, и сокращения их при этом синхронизируются. Образуются различные по величине группы клеток — кластеры, клетки которых сокращаются в одном ритме [20, 41, 42]. На третьи — шестые сутки культивирования размеры кластеров увеличиваются, и устанавливаются контакты между ними. Обычно отдельные кластеры контактируют между собой посредством М-клеток, однако, синхронные сокращения близлежащих кластеров отмечаются и тогда, когда между ними располагаются Ф-клетки [19]. Описанный вид роста и взаимодействия миокардиальных клеток характерен для плотной культуры *dense culture* [19]. В так называемой редкой культуре *sparse culture* [19] сердечные клетки располагаются изолированно или группами, каждая из которых может сокращаться в своем ритме. Пульсации клеток в каждой группе синхронизированы [19].

При микроэлектродных исследованиях электрофизиологических характеристик мембран культивируемых сердечных клеток оказалось, что они близки, хотя и не вполне идентичны, наблюдаемым у клеток в интактном сердце. Для сравнения приводим в сокращенном виде таблицу, полученную [41] при исследовании миокардиальных клеток в плотной культуре.

При исследовании изолированных миокардиальных клеток регистрировали низкие по величине потенциалы покоя и потенциалы действия [42, 54]. Такие результаты считали следствием необратимого повреждения мембраны и выхода части внутриклеточного содержимого при введении микроэлектрода в клетку [20]. Другой точки зрения придерживаются авторы [54], которые полагают, что низкие потенциалы покоя свойственны изолированным сердечным клеткам в культуре, и причиной этого является низкая калиевая проницаемость их мембран.

Более низкая проницаемость, в свою очередь, связана, по-видимому, с отсутствием функциональных связей между контактирующими клетками, устанавливающихся в более плотной культуре [54].

Рис. 1. Культура сердечных клеток новорожденных крысят.

М — миобластоподобные клетки, Ф — фибробластоподобные. Ок. 10. Ув. $\times 200$.



Таблица 1
Сравнительная характеристика электрофизиологических свойств сердечных клеток куриного эмбриона, культивируемых в виде монослоя, и клеток интактного желудочка.
[По 41] (В сокращении)

Исследуемые параметры	Культура клеток желудочка	Клетки интактного желудочка
Возраст эмбриона (срок инкубации)	6—8 дней	5—17 дней
Сопротивление микроэлектрода	20—60 МОм	20—60 МОм
Потенциал покоя	$59,0 \pm 1,2$ мВ (40—84 мВ)	$72,0 \pm 2,5$ мВ (55—94 мВ)
Потенциал действия	$71,2 \pm 1,5$ мВ (40—108 мВ)	$91,7 \pm 3,2$ мВ (64—130 мВ)
Скорость повышения пика	1—5 В/с	5—12 В/с
Длительность потенциала действия	150—500 мс	130—600 мс
Наличие плато	Иногда	Есть
Скорость пульсаций	30—130 имп/мин	10—60 имп/мин при 28°C 100—155 имп/мин при 37°C
Следовый положительный потенциал	0—10 мВ	0—16 мВ

Большое значение придается совершенствованию методических приемов при исследовании клеток культуры. Так, при усовершенствовании методики культивирования сердечных клеток и применении высокоомных электродов у определенной части изолированных миокардиальных клеток в культуре были зарегистрированы высокие по величине потенциалы покоя и спонтанные потенциалы действия [20].

Адренергическая стимуляция и культура сердечных клеток. Использование культивируемых сердечных клеток представляется весьма перспективным при изучении действия катехоламинов на сердечную мышцу.

По поводу влияния катехоламинов на электрическую активность культивируемых сердечных клеток существуют значительные расхождения во мнениях. Высказывается мнение [33, 71], что как изолированные клетки, так и растущие в виде монослоя, нечувствительны к воздействию адренергических веществ, причем, отсутствие эффектов от применения катехоламинов наблюдалось как в культуре клеток эмбрионального сердца цыпленка (восьмой день инкубации), так и в культуре клеток, полученных из сердец шестидневных цыплят [71]. Авторы объясняли отрицательные результаты своих экспериментов тем, что трипсин разрушал белковую структуру β -рецептора, в связи с чем клетки теряли способность реагировать на адренергическую стимуляцию [33, 71]. Действительно, есть данные о том, что этот фермент в определенных концентрациях может вызывать необратимые изменения в мембранах клеток [13, 18, 58], но в ряде исследований, проведенных на культурах первично трипсинизированных сердечных клеток, как визуально, так и с помощью электроннооптических методов контроля за сократительной активностью были обнаружены положительные хроно- и инотропные реакции культивируемых клеток на стимуляцию катехоламинами, что свидетельствует о наличии в этих клетках β -адренергических рецепторов [13, 17, 21, 22—24, 30, 35, 39, 67, 75—77]. Об устойчивости β -рецепторов миокардиальных клеток к воздействию повреждающих факторов свидетельствуют результаты экспериментов [77] с замораживанием и длительным хранением суспензии сердечных клеток, полученной трипсинизацией сердец куриного эмбриона. Суспензию предварительно охлаждали до -50 или -70°C и сохраняли в жидком азоте в течение трех месяцев, после чего отогревали и культивировали по обычной методике [77]. Несмотря на жесткие условия эксперимента, клетки такой культуры в полной мере сохраняли способность ответа на стимуляцию катехоламинами: адреналин, в частности, в концентрации $1 \cdot 10^{-7}$ моль увеличивал частоту сокращений в тех же пределах, что и у клеток интактной культуры.

На культуре изолированных сердечных клеток были проведены эксперименты по идентификации β -адренорецепторов [40]. Насыщение участков присоединения достигалось при концентрации $2 \cdot 10^{-9}$ моль ^3H -норадреналина, что, по расчетам авторов, соответствовало $\sim 2,75 \cdot 10^6$ участкам присоединения для катехоламинов на одну клетку. Эти же авторы придерживаются мнения, что места присоединения локализованы на наружной поверхности клеточной мембраны, поскольку норадреналин, связанный ковалентно с агарозой через боковую цепь в 30А, успешно конкурировал с ^3H -норадреналином в захвате участков присоединения.

Минимальная пороговая концентрация катехоламинов, составляющая $5 \cdot 10^{-8}$ — $1 \cdot 10^{-7}$ моль, начинает действовать уже [39, 67]. Действие катехоламинов на клетки [24]. Описаны катехоламины в культуре клеток, что во все сроки культивирования, выше, чем к норадреналину.



Рис. 2. Влияние норадреналина на электрическую активность клеток.

А — спонтанная электрическая активность клеток; В — изменение электрической активности клеток. Отмечается учащение генерации потенциалов действия.

Кроме того, количество культуральной среды возрастает, что адреналин увеличивает количество сердечных клеток.

Как и в интактном миокарде, в культуре клеток дихлоризопроterenолом [30, 35] [35]. Применение норадреналина [76]. Некоторые β -адренергические агенты оказывают отрицательный эффект на сокращения клеток, что в концентрации 100 мкг/мл вообще прекращает сокращения.

В наших экспериментах хронотропные реакции в культуре клеток адреналина и норадреналина этих стимулирующих агентов с учащением сокращений (инотропный эффект). При последующем воздействии норадреналина.

В ряде опытов катехоламины вызывают сокращения, каким-то причинам способ совпадают с данными других авторов о восстановлении пульсации самостоятельности.

Данные, полученные в культуре сердечных клеток, свидетельствуют о активации этих рецепторов активности клеток. На рис. 2, А — кардиальной клетки, находясь в синхронной регистрации и рисунка видно, что через 3 мин наблюдается ускорение генерации потенциалов действия (на рис. 2, Б). Одновременно с учащением сокращений частота генерации потенциалов действия приближается к исходным значениям. В результате наблюдаются изменения электрической активности клеток в культуре.

В последние годы в культуре миокардиальных клеток в

Таблица 1
Свойства сердечных клеток куриного
интактного желудочка.

Параметры клеток желудочка	Клетки интактного желудочка
Возраст	5—17 дней
Длина	20—60 мОм
Ширина	72,0±2,5 мВ (55—94 мВ)
Высота	91,7±3,2 мВ (64—130 мВ)
Скорость	5—12 В/с
Длительность	130—600 мс
Частота	Есть
Частота имп/мин	10—60 имп/мин при 28°C 100—155 имп/мин при 37°C
Потенциал	0—16 мВ

тодических приемов при ис-
и методики культивирования
у определенной части изоли-
стрированы высокие по вели-
[20].

леток. Использование культи-
активным при изучении дейст-

о активность культивируемых
во мнениях. Высказывается
ствующие в виде монослоя, не-
причем, отсутствие эффектов
клеток эмбрионального серд-
клеток, полученных из сердец
ные результаты своих экспе-
у β-рецептора, в связи с чем
ю стимуляцию [33, 71]. Дей-
ленных концентрациях может
3, 18, 58], но в ряде исследо-
ванных сердечных клеток, как
в контроле за сократительной
инотропные реакции культи-
детельствует о наличии в этих
[30, 35, 39, 67, 75—77]. Об ус-
действию повреждающих факто-
замораживанием и длительным
психизацией сердец куриного
0 или -70°C и сохраняли в
ли и культивировали по обык-
мента, клетки такой культуры
цию катехоламинами: адрена-
ал частоту сокращений в тех

и проведены эксперименты по
исток присоединения достига-
го, по расчетам авторов, соот-
оламинов на одну клетку. Эти
ения локализованы на наруж-
еналин, связанный ковалентно
ровал с ³H-норадреналином в

Минимальная пороговая концентрация адреналина, вызывающая учащение сокра-
щений клеток, составляет $2 \cdot 10^{-9}$ моль [76]. Норадреналин наиболее эффективен в кон-
центрациях $5 \cdot 10^{-8}$ — $1 \cdot 10^{-6}$ моль [23], изопротеренол — $1 \cdot 10^{-9}$ — $1 \cdot 10^{-5}$ моль [13] и
начинает действовать уже через 20—30 с после введения его в культуральную среду
[39, 67]. Действие катехоламинов длится 20—30 мин и может быть прервано отмыва-
ниями клеток [24]. Описано [39] учащение сокращений клеток в культуре при введении
катехоламинов в культуральную среду в концентрации $1 \cdot 10^{-4}$ г/мл, при этом обнару-
жено, что во все сроки культивирования процент клеток, чувствительных к адреналину
выше, чем к норадреналину.

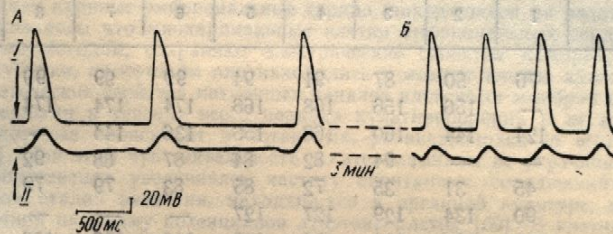


Рис. 2. Влияние норадреналина на электрическую и сократительную активность сердеч-
ной клетки в кластере.

А — спонтанная электрическая (I) и сократительная (II) активность миокардиальной клетки. Б —
изменения электрической и сократительной активности той же клетки при воздействии норадрена-
лина. Отмечается учащение генерации потенциалов действия и учащение сокращений, увеличение
амплитуды потенциалов действия и уменьшение их длительности.

Кроме того, количество сокращающихся клеток после введения катехоламинов в
культуральную среду возрастает на 30%. Другие авторы [23, 25] также указывают на
то, что адреналин увеличивает процент спонтанно сокращающихся изолированных сер-
дечных клеток.

Как и в интактном миокарде, стимулирующему действию катехоламинов на куль-
тивируемые сердечные клетки препятствует применение β-блокирующих препаратов:
дихлоризопротеренола [30, 76], неталида [30], пропранолола [24, 39, 53], MJ-1999 [39],
KL 255 [35]. Применение α-блокаторов (феноксизбензамина) оказывается неэффектив-
ным [76]. Некоторые β-блокаторы не оказывают существенного влияния на частоту
сокращений культивируемых клеток, как, например, MJ-1999 [39]. Однако пропранолол
оказывает отрицательный хронотропный эффект [13, 17, 24, 39, 53], в концентрации
100 мкг/мл вообще прекращает сокращения клеток в культуре [24].

В наших экспериментах культивируемые сердечные клетки давали выраженные
хронотропные реакции в ответ на введение в культуральную среду катехоламинов —
адреналина и норадреналина. Было обнаружено, что оптимальной действующей дозой
этих стимулирующих агентов является концентрация 2 — $3 \cdot 10^{-8}$ моль. Одновременно
с учащением сокращений клеток наблюдалось усиление сокращений (положительный
инотропный эффект). Применение пропранолола предотвращало развитие реакции на
последующее воздействие катехоламинами.

В ряде опытов катехоламины возобновляли пульсации клеток, утративших по
каким-то причинам способность к сокращению. В этом отношении наши наблюдения
совпадают с данными других авторов [22, 53], которые также отметили способность
катехоламинов восстанавливать в монослойной культуре сокращения клеток, прекратив-
ших пульсации самостоятельно или в результате воздействия резерпина [53].

Данные, полученные в наших опытах, позволяют сделать вывод о наличии у куль-
тивируемых сердечных клеток функционально способных β-адренорецепторов и о том, что
активация этих рецепторов приводит к изменениям электрической и сократительной
активности клеток. На рис. 2 представлена запись динамики электрической и сократительной
активности клеток, находящейся в кластере, на воздействие норадреналина, а также
синхронная регистрация изменений сократительной активности этой же клетки. Из
рисунка видно, что через 3 мин после введения норадреналина ($2 \cdot 10^{-6}$ моль) развива-
ется ускорение генерации спонтанных потенциалов действия, увеличивается амплитуда
потенциала действия (на 13—15 мВ), сокращается его длительность (от 275 до 225 мс;
рис. 2, Б). Одновременно регистрируется ускорение спонтанных сокращений клетки.
Через 8—10 мин частота генерации пиков и частота сокращений постепенно снижается,
приближаясь к исходным значениям. В табл. 2 приведены цифровые данные, характе-
ризующие изменение электрической активности культивируемых клеток при введении
в культуральную среду норадреналина.

В последние годы появились сообщения о том, что катионные каналы мембран
миокардиальных клеток в культуре претерпевают существенные изменения [46, 54, 63,

Таблица 2
Динамика электрических реакций миокардиальных клеток, находящихся в кластере, на воздействие норадреналина

Частота генерации спонтанных потенциалов действия до применения норадреналина	Динамика изменений частоты генерации потенциалов действия после введения норадреналина									
	Время регистрации, в мин									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
76	76	80	87	91	94	99	99	99	94	86
150	—	156	156	168	168	174	174	174	174	174
120	124	144	160	168	156	136	144	—	148	148
54	—	—	94	82	84	87	88	92	90	90
48	45	31	35	72	85	83	79	79	—	—
61	90	134	129	127	127	—	—	—	—	—
80	100	100	104	104	108	112	108	108	—	—
68	80	84	78	72	—	—	—	—	—	—
52	60	69	68	68	68	68	68	68	68	68

64, 69], которые могут определять характер ответа сердечных клеток в культуре на воздействие катехоламинов и других фармакологических агентов.

Перед рассмотрением вопроса об изменениях ионной проницаемости мембран культивируемых клеток сердца представляется целесообразным изложить в общих чертах динамику формирования электрофизиологических свойств мембран сердечных клеток в период эмбрионального развития.

Считают [66, 68, 69], что процесс формирования электрических свойств мембран эмбриональных сердечных клеток цыпленка можно представить в виде трех периодов: первый — ранний (второй — четвертый день инкубации), когда в мембранах клеток функционируют только медленные катионные каналы и отсутствует быстрая натриевая проводимость; второй — переходный период (пятый—седьмой день), во время которого сосуществуют как медленные, так и образующиеся быстрые натриевые каналы; третий — период зрелых сердечных клеток (8—17 день), в мембранах которых завершилось формирование быстрых натриевых каналов. Потенциалы действия в эмбриональных сердцах, находящихся на первом — раннем этапе развития, не блокируются ни тетродотоксином, ни ионами марганца [69]. В сердцах переходного периода тетродотоксин только снижает скорость повышения пика до 5—15 В/с [66, 68]. В клетках зрелых эмбриональных сердец наблюдается полное угнетение потенциалов действия в присутствии тетродотоксина [64, 65, 68].

Если в зрелых эмбриональных миокардиальных клетках инактивировать быстрый натриевый ток, то при воздействии катехоламинами можно зарегистрировать потенциалы действия в виде медленных ответов, которые имеют более высокий порог активации и овершут в форме плато [63, 64]. Величина и длительность медленного ответа зависят от концентрации вещества, вызывающего такой ответ [63, 64]. Наиболее эффективным препаратом является изопроterenол, действие которого наблюдается уже в концентрации $1 \cdot 10^{-8}$ моль. За ним, в порядке убывающей эффективности, следуют адреналин, норадреналин, дофамин и ДОФА. Вызванные катехоламинами медленные ответы блокируются ионами лантана или марганца и зависят от внеклеточной концентрации ионов кальция, поэтому их невозможно получить в бескальциевом перфузате [64].

Медленные ответы, полученные также в сердечных клетках морской свинки [62], подтверждают данные о том, что катехоламины способны усиливать медленный входящий ток [51, 52, 78].

Полагают, что катехоламины, воздействуя на β -адренорецепторы сердечных клеток, активируют фермент аденилатциклазу, который «встроен» в мембрану клетки и функционально связан с макромолекулой β -адренорецептора. Аденилатциклаза, в свою очередь, стимулирует синтез циклического 3,5-аденозинмонофосфата, что приводит к увеличению его внутриклеточного содержания. Циклический АМФ активирует фермент протеинкиназу, который катализирует процессы фосфорилирования различных белков. Система аденилатциклазы — протеинкиназы может регулировать функционирование медленных катионных каналов [62]. При фосфорилировании мембранного протеина протеинкиназой и АТФ происходит электростатическое отталкивание между фиксированным отрицательным зарядом на внутренней поверхности мембраны сердечной клет-

ки и фосфорилированной гр способным к потенциал-зави

Пороговый потенциалная кривая начинается при каналы пропускают ионы п лития. Ионы марганца и м Д-600 блокируют медленный

Стремясь создать для которые были бы максима среду помещали куриные эм тия [69]. Оказалось, что м мых органичным методом, со периоду инкубации, на кото 66, 69]. Кинетические свойст чески неизменными в течен изменений, которые происх сердцах [69]. При этом чувс но, что изопроterenол уве сердец ранних стадий разви метного влияния на форму щенных в органичную культу присутствии тетродотоксина но не изменяет его длительн культивируемых органичным блокируются ионами марганца

На основании данных, логических свойств миокарди ных и клеточных культурах монослойной культуре сердце мембран клеток и, прежде в уже существовавшие в инта натриевым каналам, т. е. кле терные для более ранних ст новообразованные медленные катионных каналов раннего з особый тип медленного натр действии тетродотоксина и н что они устойчивы к блокир собен угнетать не только мед натриевый ток [47, 63, 64]. вития верапамил блокирует клеток вызывает электромеха

Существует и другое м туры функционируют быстр логических свойств культиви потенциал покоя этих клето ствия составляет 20—30 мВ. гает 350 В/с, что само по себ Дополнительным подтвержде нент угнетается при диастоли порог активации быстрого н составляет —60, —70 мВ; пр натриевой проводимости, и п вируется медленный входящий

Таким образом, воздей нии методики не оказывает су сердечных клеток в культуре том, что сам процесс разделен некоторые изменения ионной Имеются данные [48] о том, очень быстро (возможно, и н может быть разрушение меж особые условия культивирова создаются при культивирова методике [50], когда сердце агрегаты (100—1000 мкм в ди

Электрофизиологическ блуемым у клеток интактно покоя исследуемых клеток, зн

Таблица 2

Потенциалы действия в кластере, мВ

Потенциалы действия после введения иона

акции, в мВ

6	7	8	9	10
99	99	99	94	86
174	174	174	174	174
136	144	—	148	148
87	88	92	90	90
83	79	79	—	—
—	—	—	—	—
112	108	108	—	—
—	—	—	—	—
68	68	68	68	68

Сердечных клеток в культуре на агентах.

Их проницаемости мембран культурным излохит в общих чертах та мембран сердечных клеток в

электрических свойств мембран поставить в виде трех периодов: (и), когда в мембранах клеток отсутствует быстрая натриевая (двой день), во время которого натриевые каналы; третий — анах которых завершилось форствия в эмбриональных сердцах, юкируются ни тетродотоксином, юда тетродотоксин только сни- клетках зрелых эмбриональных йствия в присутствии тетродо-

етках инактивировать быстрый кно зарегистрировать потенциа- более высокий порог активации ость медленного ответа зависят 63, 64]. Наиболее эффективным наблюдается уже в концентра- тивности, следуют адреналин, инами медленные ответы блоки- клеточной концентрации ионов- вом перфузате [64].

клетках морской свинки [62], ны усиливать медленный входя-

ренорецепторы сердечных кле- строен в мембрану клетки и тора. Аденилатциклаза, в свою (монофосфата, что приводит к жий АМФ активирует фермент илирования различных белков. егулировать функционирование овании мембранного протенина отталкивание между фиксиро- сти мембраны сердечной клет-

ки и фосфорилированной группой белка, что приводит к открытию канала и делает его способным к потенциал-зависимой активации.

Пороговый потенциал медленного тока составляет -35 мВ [51], а инактивационная кривая начинается при -45 мВ и заканчивается при -20 мВ [51, 52]. Медленные каналы пропускают ионы натрия, бария, стронция и кальция и не пропускают ионы лития. Ионы марганца и магния, а также органические соединения — верапамил и Д-600 блокируют медленный ток [78].

Стремясь создать для культивируемых миокардиальных клеток условия развития, которые были бы максимально приближены к существующим *in ovo*, в питательную среду помещали куриные эмбриональные сердца, находящиеся на разных сроках развития [69]. Оказалось, что миокардиальные клетки эмбриональных сердец, культивируемых органным методом, сохраняют электрические свойства мембран, присущие тому периоду инкубации, на котором они находились в момент начала культивирования [65, 66, 69]. Кинетические свойства катионных каналов клеточных мембран остаются практически неизменными в течение всего периода культивирования и не претерпевают тех изменений, которые происходят в интактных, развивающихся *in situ* эмбриональных сердцах [69]. При этом чувствительность к катехоламинам не утрачивается. Обнаружено, что изопроterenол увеличивает частоту спонтанных сокращений эмбриональных сердец ранних стадий развития, находящихся в органный культуре, не оказывая заметного влияния на форму потенциалов действия клеток [69]. В клетках сердец, помещенных в органный культуру в переходном периоде, добавление изопроterenола в присутствии тетродотоксина вызывает увеличение крутизны подъема медленного ответа, но не изменяет его длительности [69]. В сердцах зрелых эмбрионов (15—17 дневных), культивируемых органным методом, катехоламины вызывают медленные ответы, которые блокируются ионами марганца [69].

На основании данных, представленных в ряде работ по изучению электрофизиологических свойств миокардиальных клеток в интактных эмбриональных сердцах, органных и клеточных культурах [47—49, 63—66, 68—71], выдвинута гипотеза о том, что в монослойной культуре сердечных клеток происходят изменения ионной проводимости мембран клеток и, прежде всего, натриевой проводимости. Быстрые натриевые каналы, уже существовавшие в интактном эмбриональном сердце, уступают место медленным натриевым каналам, т. е. клетки в монослойной культуре приобретают свойства, характерные для более ранних стадий развития эмбриона (2—5 дней инкубации). Однако, новообразованные медленные натриевые каналы не повторяют всех свойств медленных катионных каналов раннего эмбрионального сердца, а представляют собой, по-видимому, особый тип медленного натриевого канала [47]. Эти каналы нечувствительны к воздействию тетродотоксина и ионов марганца, однако, основное отличие их состоит в том, что они устойчивы к блокирующему действию верапамила, который, как известно, способен угнетать не только медленный входящий кальциевый ток [36, 37], но и медленный натриевый ток [47, 63, 64]. В интактных эмбриональных сердцах ранних стадий развития верапамил блокирует потенциалы действия [47, 63], а в культуре сердечных клеток вызывает электромеханическое разобщение [34].

Существует и другое мнение о том, что в сердечных клетках монослойной культуры функционируют быстрые натриевые каналы [10]. При изучении электрофизиологических свойств культивированных клеток новорожденных крысят, обнаружено, что потенциал покоя этих клеток составляет -50 , -80 мВ, и овершут потенциала действия составляет 20 — 30 мВ. При этом максимальная скорость повышения пика достигает 350 В/с, что само по себе указывает на наличие быстрой натриевой проводимости. Дополнительным подтверждением этому служит тот факт, что быстрый пиковый компонент угнетается при диастолической поляризации не более -50 мВ [10]. Как известно, порог активации быстрого натриевого тока в мембранах интактных сердечных клеток составляет -60 , -70 мВ; при деполяризации мембраны происходит угнетение быстрой натриевой проводимости, и при достижении потенциала мембраны -40 , -30 мВ активируется медленный входящий ток [78].

Таким образом, воздействие на ткани миокарда трипсином при строгом соблюдении методики не оказывает существенного влияния на электрофизиологические свойства сердечных клеток в культуре, однако, нельзя полностью отбросить предположение о том, что сам процесс разделения сердечной ткани на отдельные клетки может вызывать некоторые изменения ионной проводимости мембран изолированных сердечных клеток. Имеются данные [48] о том, что утрата чувствительности к тетродотоксину наступает очень быстро (возможно, и немедленно) после получения суспензии. Причиной этого может быть разрушение межклеточных связей, для восстановления которых требуются особые условия культивирования [48]. Полагают, что наиболее благоприятные условия создаются при культивировании первично трипсинизированных сердечных клеток по методике [50], когда сердечные клетки предварительно организуются в сферические агрегаты (100 — 1000 мкм в диаметре) и в таком виде культивируются на стекле.

Электрофизиологические свойства клеток, находящихся в агрегатах, близки к наблюдаемым у клеток интактного сердца. Об этом свидетельствуют высокие потенциалы покоя исследуемых клеток, значительная внутриклеточная концентрация ионов калия,

большая скорость повышения пика и высокая возбудимость [14, 49, 60]. Быстрый пиковый компонент потенциала действия угнетается тетродотоксином, а добавление в перфузионную среду магния вызывает сокращение и постепенное исчезновение плато с одновременным ослаблением и прекращением сокращений, что указывает на присутствие в мембранах клеток как быстрых натриевых, так и медленных магниевых чувствительных каналов, ответственных за медленный входящий ток, который, по крайней мере частично, несут ионы кальция [14].

В сферических агрегатах, на фоне блокады быстрых натриевых каналов тетродотоксином, катехоламины вызывают медленно развивающиеся ответы сердечных клеток, которые полностью блокируются магнием, D-600 или пропранололом. Эти медленные ответы очень сходны с теми ответами, которые регистрируют в клетках интактного сердца (желудочка) [49].

Таким образом, культивируемые миокардиальные клетки представляют собой перспективную биологическую модель, обладающую рядом преимуществ по сравнению с другими объектами. Эти преимущества могут существенно облегчить разрешение многих проблем физиологии, биофизики и биохимии миокарда. Можно надеяться, что культура сердечных клеток будет находить все более широкое применение при изучении интимных механизмов влияния катехоламинов на сердечные клетки, поскольку в вопросе о действии адренергической стимуляции на функциональные свойства сердечной мышцы существуют многие неясности и противоречия.

Литература

1. Веселовский М. С. Деякі морфологічні та функціональні особливості трипсинізованих клітин новонароджених щурят. — Фізіол. журн. АН УРСР, 1975, 21, № 3, с. 389—393.
2. Геворкян Р. А., Манукян Г. А. Культура эмбрионального миокарда как модель для изучения действия кардиоактивных препаратов. — Актуальные вопросы кардиологии, Каунас, 1975, с. 51—52.
3. Гуревич М. И., Веселовский Н. С. Изучение электрической активности одиночных сердечных клеток в суспензии. — Проблемы общей и клинической физиологии сердечно-сосудистой системы. Киев: Наукова думка, 1976, с. 65—76.
4. Карапетян А. Е., Геворкян Р. А., Львов И. В., Манукян Г. А. Установка для фотоэлектрической регистрации амплитуды сокращения клеток и эксплантатов куриного эмбриона. — Бюл. эксперим. биол. и мед., 1969, 68, № 9, с. 124—125.
5. Косицкий Г. И. Современные проблемы общей физиологии сердца. — Общая физиология сердца. — М.: Медицина, 1972. — 142 с.
6. Паршинцев В. В. Аритмия, вызванная одиночным электрическим ударом в культуре клеток сердца. — Биофизика, 1973, 18, № 6, с. 1122—1124.
7. Новые методы культуры животных тканей. — М.: Мир, 1976. — 255 с.
8. Пол Дж. Культура клеток и тканей. — М.: Медгиз, 1963. — 342 с.
9. Acosta D., Wenzel D., Wheatley J. W. Beating duration of cultured rat heart cells as affected by drugs and other factors. — Pharm. Res. Commun., 1974, 6, N 3, p. 263—271.
10. Athias P., Frelin C., Padieu P., Klepping J. Intracellular bioelectric properties of rat myocardial cells. — Proc. Int. Union Physiol. Sci., Actes Du Congres, 1977, 13, p. 36, Abs. 90.
11. Barry W. H., Pitzen R., Protas R., Harrison D. C. Inotropic effects of different Ca^{++} concentrations on the embryonic chick ventricle. — Circul. Res., 1975, 36, № 6, p. 727—734.
12. Blondel B., Roijen J., Cheneval J. P. Heart cells in culture: a simple method for increasing the proportion of myoblasts. — Experientia, 1971, 27, N 3, p. 356—358.
13. Boder G. B., Johnson I. S. Comparative effects of some cardioactive agents on automaticity of cultured heart cells. — J. Mol. and Cell. Cardiol., 1972, 4, p. 453—463.
14. deBruijne J., Jongasma H. J. Sensitivity of cultured neonatal rat heart cells to TTX and manganese. — Proc. Int. Union Physiol. Sci., Actes du Congres, 1977, 13, p. 168, Abs. 486.
15. Burrows [цит. по 84].
16. Cavanaugh M. W. Pulsation, migration and division in dissociated chick embryo heart cells in vitro. — J. Exp. Zool., 1955, 128, p. 573—589.
17. Chang T. D., Cumming G. R. Chronotropic responses of human heart tissue culture. — Circul. Res., 1972, 30, p. 628—633.
18. Dalen H., Todd P. W. Surface morphology of trypsinised human cells in vitro. — Exp. Cell. Res., 1971, 66, p. 353—361.
19. DeHaan R. L. Regulation of spontaneous activity and growth of embryonic heart cells in tissue culture. — Develop. Biol., 1967, 16, p. 216—249.
20. DeHaan R. L., Gottlieb S. H. The electrical activity of embryonic chick heart cells

- isolated in tissue culture 1968, 52, p. 643—665.
21. Ertel R. J., Clarke D. E. Embryonic myocardial cells in culture. — J. Cell. Biol., 1974, 38, p. 73—80.
22. Goshima K. Initiation of contact with beating cells. — Res., 1974, 84, p. 223—234.
23. Goshima K. Beating of myocardial cells in culture. — J. Cell. Biol., 1974, 38, p. 202—223.
24. Goshima K. Antagonistic effect of D-600 on the beating rate of cultured myocardial cells. — J. Cell. Biol., 1976, 8, p. 713—725.
25. Halle W. Die Zelle in vitro und Medizin. — Biol. Rdsch., 1976, 29, p. 1—10.
26. Halle W. Die in vitro Kultivierung von Myokardzellen. — Funktion und Struktur. — Biol. Rdsch., 1976, 29, p. 11—20.
27. Halle W., Wollenberger A. Diffusion of Ca^{++} in a defined medium. — Z. Naturforsch., 1976, 31a, p. 120—127.
28. Harary I. Studies on the organization of the heart in vitro. — J. Cell. Biol., 1974, 38, p. 120—127.
29. Harary I., Farley B. In vitro organization of the heart. — Exp. Cell. Res., 1974, 84, p. 223—234.
30. Harrison D., Kleiger R. E. Tissue culture. — Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1973, 42, p. 72—81.
31. Hyde A., Blondel B., Mathier L. Homo- and hetero- morphological study. — Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1974, 42, p. 72—81.
32. Kasten F. H. Mammalian myocardial cells in culture. — J. Cell. Biol., 1973, 18, p. 25—49.
33. Kaufmann R., Tritthart H. Verhalten isolierter embryonaler Myokardzellen. — Pflüg. Arch., 1972, 342, p. 25—49.
34. Kaufmann R., Tritthart H. uncoupling on in vitro cultured myocardial cells. — Pflüg. Arch., 1972, 342, p. 25—49.
35. Kaumann A. J., Wittman J. and a competitive antagonist. — Naunyn — Schmiedeberg's Arch. Pharm., 1972, 342, p. 25—49.
36. Kohlhardt M., Bauer B., Knauf J. A. Transmembrane Ca^{++} currents and the voltage clamp technique. — Pflüg. Arch., 1972, 342, p. 25—49.
37. Kohlhardt M., Bauer B., Knauf J. A. Transmembrane Ca^{++} channels in myocardial cells. — Pflüg. Arch., 1972, 342, p. 25—49.
38. Kossitsky G. I., Kuznetsov V. I. Nervous regulation of the heart. — J. Cell. Biol., 1977, 13, p. 404, Abs. 1192.
39. LeDouarin G., Suignard G. des cardiomyoblastes embryonnaires. — J. Cell. Biol., 1974, N 23, p. 2943—2949.
40. Lefkowitz R. J., O'Hara D. cultured myocardial cells. — J. Cell. Biol., 1974, N 23, p. 2943—2949.
41. Lehmkuhl D., Sperelakis N. cells. — Amer. J. Physiol., 1974, 226, p. 1—10.
42. Lehmkuhl D., Sperelakis N. cells. — J. Cell and Comp. Physiol., 1974, 123, p. 1—10.
43. Lutembacher K. Les Systèmes de Conduction du Cœur. — Mall. du Coeur, 1953, 46, p. 1—10.
44. Mark G. E., Strasser F. F. rat heart ventricle cells. — J. Cell. Biol., 1974, N 23, p. 2943—2949.
45. Masse M. J. O., Harary I. J. Cell. Biol., 1974, 63, N 2, p. 1—10.
46. McDonald T. F., Sachs H. toxin in beating chick embryo heart. — J. Cell. Biol., 1976, p. 1248—1250.
47. McLean M. J., Shigenobu K. slow Na^{+} channels as distinguished from fast channels. — J. Cell. Biol., 1976, p. 379—382.

ть [14, 49, 60]. Быстрый пикосекундным, а добавление в перфузионное исчезновение плато с одного указывает на присутствие лентных магний-чувствительных рий, по крайней мере частично,

х натриевых каналов тетродотоксина ответы сердечных клеток, ропранололом. Эти медленные ридуют в клетках интактного

летки представляют собой пер-преимуществ по сравнению с но облегчить разрешение мно-а. Можно надеяться, что куль-кое применение при изучении ые клетки, поскольку в вопросе ые свойства сердечной мышцы

нальные особенности трипсинизо-ри. АН УРСР, 1975, 21, № 3,

ного миокарда как модель для уальные вопросы кардиологии,

ической активности одиночных клинической физиологии сер-76, с. 65—76.

сян Г. А. Установка для фото-еток и эксплантатов куриного 9, с. 124—125.

логии сердца.—Общая физио-

электрическим ударом в культуре 4.

р. 1976.—255 с.

963.—342 с.

n of cultured rat heart cells as mmmun., 1974, 6, N 3, p. 263—

lar bioelectric properties of rat es Du Congres, 1977, 13, p. 36,

tropic effects of different Ca^{++} al. Res., 1975, 36, № 6, p. 727—

a culture: a simple metod for 971, 27, N 3, p. 356—358.

ne cardioactive agents on auto- diol., 1972, 4, p. 453—463.

neonatal rat heart cells to TTX is du Congres, 1977, 13, p. 168,

dissociated chick embryo heart

of human heart tissue culture.—

sed human cells in vitro.—Exp.

growth of embryonic heart cells

of embryonic chick heart cells

- isolated in tissue culture singly or in interconnected cell sheets.—J. Gen. Physiol., 1968, 52, p. 643—665.
21. Ertel R. J., Clarke D. E., Chao J. C., Franke F. R. Autonomic receptor mechanisms in embryonic myocardial cell cultures.—J. Pharmacol. and Exp. Ther., 1971, 178, p. 73—80.
22. Goshima K. Initiation of beating in quiescent myocardial cells by norepinephrine, by contact with beating cells and by electrical stimulation of adjacent cells.—Exp. Cell. Res., 1974, 84, p. 223—234.
23. Goshima K. Beating of myocardial cells in vitro.—J. Takeda Res. Lab., 1975, 34, N 2, p. 202—223.
24. Goshima K. Antagonistic influences of dibutyryl cyclic AMP and dibutyryl cyclic GMP on the beating rate of cultured mouse myocardial cells.—J. Mol. and Cell. Cardiol., 1976, 8, p. 713—725.
25. Halle W. Die Zelle in vitro als Modell in der experimentellen Zellbiologie, Biologie und Medizin.—Biol. Rdsch., 1972, 10, N 4, p. 217—230.
26. Halle W. Die in vitro kultivierte Muskelzelle als Modell für Untersuchungen der Function und Structur.—Biol. Rundsch., 1971, 9, N 2, p. 103—104.
27. Halle W., Wollenberger A. Die Differenzierung isolierter Herzzellen in einem chemisch definierten Nährmedium.—Z. Zellforsch., 1968, 2, p. 292—314.
28. Harary I. Studies on individual heart cells.—Circul. Res., 1964, 14—15, suppl. 2, p. 120—127.
29. Harary I., Farley B. In vitro studies on single beating rat heart cells: 1. Growth and organisation.—Exp. Cell. Res., 1963, 29, p. 451—465.
30. Harrison D., Kleiger R. E., Merigan T. C. Action of isoproterenol on heart cells in tissue culture.—Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med., 1969, 31, p. 283—311.
31. Hyde A., Blondel B., Matter A., Forssman W. G., Cheneval L. P., Filloux B., Girardier L. Homo- and heterocellular junctions in cell cultures: an electrophysiological and morphological study.—Progress in Brain Research, 1969, 31, p. 283—311.
32. Kasfen F. H. Mammalian myocardial cells.—Tissue Cult. Meth. and Appl., N. Y., 1973, p. 72—81.
33. Kaufmann R., Tritthart H., Rodenroth S., Rost B. Das mechanische und elektrische Verhalten isolierter embryonaler Herzmuskelzellen in Zellkulturen.—Pflüg. Arch., 1969, 311, N 1, p. 25—49.
34. Kaufmann R., Tritthart H., Rost B., Fleckenstein A. Complete excitation-contraction uncoupling on in vitro cultured embryonic chicken heart cells by isoptin (verapamil, iproveratril).—Pflüg. Arch., 1970, 316, R12.
35. Kaumann A. J., Wittman R. Apparent equilibrium constant between β -adrenoceptors and a competitive antagonist on cultured pacemaker cells of mammalian heart.—Naunyn — Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 1975, 287, N 1, p. 23—32.
36. Kohlhardt M., Bauer B., Krause H., Fleckenstein A. New selective inhibitors of the transmembrane Ca^{++} conductivity in mammalian myocardial fibres. Studies with the voltage clamp technique.—Experientia, 1972, 28, p. 288—289.
37. Kohlhardt M., Bauer B., Krause H., Fleckenstein A. Differentiation of transmembrane Na^{+} and Ca^{++} channels in mammalian cardiac fibers by the use of specific inhibitors.—Pflüg. Arch., 1972, 335, p. 209—322.
38. Kossitsky G. I., Kuznetsova T. E., Djakonova I. N., Kobrin V. I., Klevtsov V. A. Nervous regulation of the heart.—Proc. Int. Union Physiol. Sci., Actes du Congres, 1977, 13, p. 404, Abs. 1192.
39. LeDouarin G., Suignard G., Khaskyie A., Renaud D. Sensibilité aux catécholamines des cardiomyoblastes embryonnaires de poulet isolés en culture in vitro. C. R. Acad. Sci., 1974, N 23, p. 2943—2945.
40. Lefkowitz R. J., O'Hara D. S., Warshaw J. Binding of catecholamines to receptors in cultured myocardial cells.—Nature (New Biology), 1973, 224, p. 79—80.
41. Lehmkuhl D., Sperelakis N. Transmembrane potentials of trypsin-dispersed chick heart cells.—Amer. J. Physiol., 1963, 205, N 6, p. 1213—1220.
42. Lehmkuhl D., Sperelakis N. Electronic spread of current in cultured chick heart cells.—J. Cell and Comp. Physiol., 1965, 66, N 1, p. 119—134.
43. Lutembacher K. Les Systoles fractionnaires a grande frequence et le flutter.—Arch. Mall. du Coeur, 1953, 46, p. 385—392.
44. Mark G. E., Strasser F. F. Pacemaker activity and mitosis in cultures of new-borne rat heart ventricle cells.—Exp. Cell. Res., 1966, 44, p. 217—233.
45. Masse M. J. O., Harary I. Developmental process of rat heart cells in culture.—J. Cell. Biol., 1974, 63, N 2, p. 209a.
46. McDonald T. F., Sachs H. G., DeHaan R. L. Development of sensitivity to tetrodotoxin in beating chick embryonic hearts, single cells and aggregates.—Science, 1972, 176, p. 1248—1250.
47. McLean M. J., Shigenobu K., Sperelakis N. Two pharmacological types of cardiac slow Na^{+} channels as distinguished by verapamil.—Eur. J. Pharmacol., 1974, 26, N 2, p. 379—382.

48. McLean M. J., Sperelakis N. Rapid loss of sensitivity to tetrodotoxin by chick ventricular myocardial cells after separation from the heart.—*Exp. Cell Res.*, 1974, 86, p. 351—364.
49. McLean M. J., Sperelakis N. Retention of fully differentiated electrophysiological properties of chick embryonic heart cells in culture.—*Dev. Biol.*, 1976, 50, p. 134—141.
50. Moscona A. A. Rotation-mediated histogenetic aggregation of dissociated cells. A quantifiable approach to excitable tissues.—*Physiol. Rev.*, 1966, 46, p. 1—50.
51. New W., Trautwein W. Inward membrane currents in mammalian myocardium.—*Pflüg. Arch.*, 1972, 334, p. 1—23.
52. New W., Trautwein W. The ionic nature of slow inward current and its relation to contraction.—*Pflüg. Arch.*, 1972, 334, p. 24—28.
53. Noda C., Yugari Y. Effect of catecholamines in restoring the beating of cultured rat heart cells treated with reserpine.—*Jap. J. Pharmacol.*, 1973, 23, p. 839—846.
54. Pappano A. J., Sperelakis N. Low K^+ conductance and low resting potentials of isolated single cultured heart cells.—*Amer. J. Physiol.*, 1969, 217, № 4, p. 1076—1082.
55. Pappano A. J., Sperelakis N. Spontaneous contractions of cultured heart cells in high K^+ media.—*Exp. Cell Res.*, 1969, 54, p. 58—68.
56. Périssel B., Pinson A., Padieu P., Malet P., Jaffrey J. J. Culture primaire de cellules myocardiques de rat nouveau-né: quelques aspects ultrastructuraux particuliers.—*Bull. Assoc. Anat.*, 1974, 58, N 162, p. 639—648.
57. Polinger I. The separation of cell types in embryonic heart cell culture.—*Exp. Cell Res.*, 1970, 63, N 1, p. 78—82.
58. Poste G. Tissue dissociation with proteolytic enzymes.—*Exp. Cell Res.*, 1971, 65, p. 359—369.
59. Renaud J. F., Sperelakis N., LeDourarin G. Catecholamine elevation of cyclic AMP levels of cultured and noncultured chick embryonic hearts.—*Proc. Int. Union Physiol. Sci.*, Actes du Congrès, 1977, 13, p. 625, Abs. 1854.
60. Sachs H. G., DeHaan R. L. Embryonic myocardial cell aggregates. Volume and pulsation rates.—*Devel. Biol.*, 1973, 30, p. 233—240.
61. Schanne O. F., Deslauriers Y., Ruiz-Ceretti E., Payet M. D. Selectivity of the slow channel for calcium ions in clusters of cultured ventricle cells from neonatal rats.—*Proc. Int. Union Physiol. Sci.*, Actes du Congrès, 1977, 13, p. 665, Abs. 1975.
62. Schneider J. A., Sperelakis N. Slow Ca^{++} and Na^+ responses induced by isoproterenol and methylxanthines in isolated perfused guinea pig hearts exposed to elevated K^+ .—*J. Mol. and Cell. Cardiol.*, 1975, 7, p. 249—273.
63. Shigenobu K., Schneider J. A., Sperelakis N. Verapamil blockade of slow Na^+ and Ca^{++} responses in myocardial cells.—*J. Pharm. and Exp. Ther.*, 1974, 190, p. 280—288.
64. Shigenobu K., Sperelakis N. Calcium-current channels induced by catecholamines in chick embryonic hearts whose fast sodium channels are blocked by tetrodotoxin or elevated potassium.—*Circul. Res.*, 1972, 31, p. 932—952.
65. Shigenobu K., Sperelakis N. Failure of development of fast Na^+ channels during organ culture of young embryonic chick hearts.—*Dev. Biol.*, 1974, 39, p. 326—330.
66. Shindler R. Use of cell culture in pharmacology.—*Ann. Rev. Physiol.*, 1969, 29, p. 393—406.
67. Sinclair A. J., Miller H. A., Harrison D. S. Electrooptical monitoring technique for heart cells in tissue culture.—*J. Appl. Physiol.*, 1970, 29, p. 747—749.
68. Sperelakis N., Shigenobu K. Changes in membrane properties of chick embryonic hearts during development.—*J. Gen. Physiol.*, 1972, 60, p. 430—453.
69. Sperelakis N., Shigenobu K. Organ-cultured chick embryonic hearts of various ages. 1. Electrophysiology.—*J. Mol. and Cell. Cardiol.*, 1974, 6, p. 449—471.
70. Sperelakis N., Lehmkuhl D. Effect of current on transmembrane potentials of cultured chick heart cells.—*J. Gen. Physiol.*, 1964, 47, p. 895—927.
71. Sperelakis N., Lehmkuhl D. Insensitivity of cultured chick heart cells to autonomic agents and tetrodotoxin.—*Am. J. Physiol.*, 1965, 209, N 4, p. 693—698.
72. Vermimmen K., Auclair M. C. Caractéristique des potentiels transmembranaires des cardiomyoblasts de Rat nouveau-né cultivés depuis une semaine.—*C. R. Acad. Sci.*, 1976, 282, N 19, p. 1749—1752.
73. Warshaw S. F., Rosenthal M. D. Changes in glucose oxidation during growth of embryonic heart cells in culture.—*J. Cell Biol.*, 1972, 52, p. 283—291.
74. Witkowski J. A., Brighton W. D. Influence of serum on attachment of tissue cells to glass surfaces.—*Exp. Cell Res.*, 1972, 70, N 2, p. 41—48.
75. Wollenberger A., Halle W. Einfluß von Reserpine und DCL-isoproterenol auf die durch Adrenaline und Digitoxin hervorgerufenen Wirkungen an Culturen spontan schlagender isolierter Zellen des embryonalen Hühn-herzen.—*Monatsber. Dtsch. Acad. Wiss. Berlin*, 1963, 5, N 1, p. 38—42.
76. Wollenberger A. Rhythmic and arrhythmic contractile activity of single myocardial cells cultured in vitro.—*Circul. Res.*, 1964, 14—15, suppl. 2, p. 184—201.

77. Wollenberger A., Halle W. Cultivation of beating hearts. 1967, 54, N 7, p. 1—10.
78. Zipes D. P., Besch H. J. physiology.—*Circulation*

Отдел физиологии кр
Института физиологии им.
АН УССР, К

УДК 612.17

ИНДЕКС

Обеспечение основной
ного объема крови в единичном
циональным состоянием са
функциональным состоянии
сократительного аппарата, т
выражающаяся в его насосн
миофибрилл. Вместе с тем
объем притекающей к сердцу
аорте и легочной артерии (с
чивает конечно-диастолическ
фибрилл и возрастанию с
минутного объема в соотве
противления выбросу крови
миофибрилл при возрастани
сердечного выброса. Степень
ми влияниями, определяется
нения сердца в диастоле и
сердечный выброс при сни
будет значительно меньшим,
ность к преодолению сосуди
ной мышцы.

Сократимость миокарда
сердца (насосной функции),
на нервные и гуморальные р
рования сердца, с помощью
ного не только у одного и
количественной меры сокра
единицах оценить функцион
значение для физиологии и п

Сократимость миокарда
тельным расположением фи
обмена, количеством кальция
цитов и ионных насосов и п
миофибрилл. Видимо, оценк
данных, характеризующих с
нии со сведениями о размер
не могут быть получены для
методах исследования. Поэто
мышцы используют в основн

Существует ряд методи
зуя данные, характеризующи
ем желудочка и давление на
боту или мощность, можно
дочка [40, 41] (рис. 1).

Функциональные кривые
карда в диастолу (величина
сивностью сокращения в сист
По мере увеличения притока