

ДЕЙСТВИЕ ГИПОНАТРИЕМИИ И ФРЕНОЛОНА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ ИЗОЛИРОВАННОЙ МЫШЦЫ СЕРДЦА

Сокращение и расслабление сердечной мышцы обеспечивается циклическим увеличением и уменьшением концентрации свободного Ca^{2+} в миоплазме. В системе внутриклеточного транспорта Ca^{2+} видная роль, по-видимому, принадлежит кальмодулину — белку, обладающему высоким сродством к Ca^{2+} и способному потенцировать действие Ca^{2+} на другие внутриклеточные белки [5, 11, 13]. В частности, для сердечной мышцы доказана стимуляция кальмодулином транспорта Ca^{2+} в саркоплазматический ретикулум [7]. Изучение роли кальмодулина в механизмах саморегуляции миокарда сдерживалось в основном отсутствием специфических ингибиторов. В последнее время были найдены вещества, обладающие более высокой специфичностью по сравнению с ранее использованными хлорпромазином или трифторперазином. Одним из них является френолон [1].

Мы изучали действие френолона на определяемые изменением концентрации Ca^{2+} в миоплазме инотропные эффекты частоты и ритма сокращений в контрольных условиях и при нарушении транспорта Ca^{2+} под влиянием гипонатриемии.

Методика

Эксперименты проведены на изолированных папиллярных мышцах правого желудочка морских свинок, которые имели расчетную площадь поперечного сечения $0,73 \pm 0,50 \text{ мм}^2$, растягивающая нагрузка составляла $(0,15 \pm 0,01) \text{ г/мм}^2$. Мышцы сокращались под влиянием электрической стимуляции в растворе Кребса, насыщенном 95 % O_2 и 5 % CO_2 , pH 7,3—7,4 при 29 °C. Сигнал укорочения, получаемый от фотоэлектрического датчика и его первую производную записывали на двухканальном регистраторе «Gould Brush». Детали методики изложены ранее [4]. В I серии на восьми мышцах изучали эффект френолона (5—10 мкмоль/л) при его добавлении к обычному перфузату, во II (пять опытов) — к гипонатриевому раствору, в котором концентрация Na^+ была уменьшена в четыре раза путем эквивалентной замены холинхлоридом, а в III (шесть опытов) — к гипонатриевому раствору с более низкой (до 25 ммоль/л) концентрацией NaCl. Во всех опытах мышцы работали при частоте 1 Гц. При такой же частоте осуществляли стимуляцию парными импульсами, нанося экстрасистолический стимул через 500 мс после основного. Общее число стимулов в единицу времени оставалось постоянным. Частоту сокращений изменяли в диапазоне 0,5—2,5 Гц, причем в I серии — постепенным увеличением частоты через 0,5 Гц, в двух других сериях — одномоментным переключением частоты стимуляции с 0,5 до 1 или 2 Гц. Данные ($M \pm m$) обработаны статистически с применением парного критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Для нормальной сердечной мышцы млекопитающих характерно усиление сокращений по мере увеличения их частоты вплоть до уровня, близкого к естественному. В этом случае сильно возрастают скорость сокращения и в большей мере скорость расслабления [4]. При увеличении частоты от 0,5 до 2,0 Гц разница между скоростью расслабления и скоростью сокращения возрастала с 0,21 до 0,83 мышечной длины (м. д.) в секунду (табл. 1). Добавление в перфузат френолона (5—10 мкмоль/л) не влияло на скорость сокращения при любой частоте, но достоверно снижало скорость расслабления на 0,3—0,4 м. д./с. Относительный ингибирующий эффект френолона был наибольшим при низкой частоте, когда скорость сокращения и, вероятно, концентрация Ca^{2+} в миоплазме были наименьшими. Это наблюдение хорошо согласуется с фактом относительно большего влияния экзоген-

ного кальмодулина на скорость поглощения Ca^{2+} ретикуломом именно в диапазоне низких концентраций Ca^{2+} [7]. При более высокой частоте относительный ингибирующий эффект френолона уменьшается, вероятно, из-за того, что в этих условиях в связи с укорочением потенциала действия возрастает роль сарколеммы при удалении Ca^{2+} из миоплазмы.

Действительно, гипонатриемия, облегчающая вход и затрудняющая удаление Ca^{2+} из клеток [12], сопровождалась снижением максимальной частоты, воспроизводимой всеми мышцами, с 3 до 2 Гц и уменьшением скорости сокращения при частоте 2 Гц по сравнению с контрольной серией (см. табл. 1), депрессией скорости расслабления. Эти изменения вероятно, обусловлены меньшим накоплением Na^+ внутри клеток при высокой частоте, которое в нормальных условиях является ведущим фактором развития положительного инотроп-

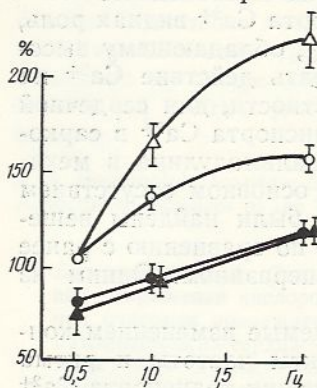


Рис. 1. Влияние френолона (5 мкмоль/л) в условиях гипонатриемии на максимальный прирост скорости сокращения (кружочки) и расслабления (треугольники) при увеличении частоты сокращений по сравнению с уровнем показателей при частоте 0,5 Гц в контрольных опытах, принятых за 100 %.

Светлые символы — контроль, темные — добавление френолона.

ного эффекта [6, 8]. При низкой частоте сокращений амплитуда и скорость сокращения под влиянием гипонатриемии возрастали более чем вдвое (см. табл. 1), и возникали медленные низкоамплитудные колебания длины мышцы, которые рассматриваются как следствие перегрузки саркоплазматического ретикулума ионами Ca^{2+} [2, 10]. Френолон, как и в контрольных опытах, значительно снижал скорость расслабления.

При высокой частоте сокращений (2—3 Гц) в условиях гипонатриемии показатели сократительной функции, в отличие от первой серии, не были стабильными. После кратковременного положительного инотропного эффекта развивалось устойчивое расслабление сократительной функции мышцы (см. табл. 1). Под влиянием гипонатриемии (особенно — глубокой) преимущественная активация снижена исчезала, а та небольшая активация, которая наблюдалась в начальный период высокой частоты, совершенно подавлялась френолоном (рис. 1).

При стимуляции парными импульсами потенциация регулярного сокращения в контрольной серии проявлялась уже в самом начале и

Таблица 1. Влияние френолона на скорости сокращения и расслабления папиллярных мышц при различной концентрации Na^+ и частоте стимуляции

Серия опыта	Частота 0,5 Гц		Частота 2 Гц	
	СкС	СкР	СкС	СкР
Контроль: Na^+ (143 ммоль/л)	$0,22 \pm 0,02$	$0,43 \pm 0,08$	$1,05 \pm 0,05$	$1,88 \pm 0,08$
Контроль+френолон	$0,14 \pm 0,03^*$	$0,23 \pm 0,05^*$	$0,98 \pm 0,04$	$1,58 \pm 0,08^*$
Na (55 ммоль/л)	$0,58 \pm 0,12$	$0,76 \pm 0,17$	$0,95 \pm 0,22$	$1,15 \pm 0,23$
Na (55 ммоль/л)+френолон	$0,65 \pm 0,12$	$0,68 \pm 0,19$	$0,99 \pm 0,22$	$1,23 \pm 0,21$
Na (25 ммоль/л)	$0,53 \pm 0,09$	$0,50 \pm 0,09$	$0,60 \pm 0,09$	$0,59 \pm 0,06$
Na (25 ммоль/л)+френолон	$0,40 \pm 0,10$	$0,29 \pm 0,04^*$	$0,41 \pm 0,08^*$	$0,36 \pm 0,10^*$

Примечание. СкС—скорость сокращения, СкР—скорость расслабления, в единицах мышечной длины за секунду ($M \pm m$). * $P < 0,05$ по сравнению со значениями, полученными при отсутствии френолона

немного возрастала через 6—8 сокращений. В гипонатриевом растворе (55 ммоль/л) прирост амплитуды наблюдался только для первых сокращений, а в стабильный период потенциация регулярных сокращений отсутствовала, и параметры экстрасистолического сокращения приближались к параметрам регулярного (рис. 2).

Еще более выраженные изменения наблюдались при более глубокой гипонатриемии (25 ммоль/л), когда показатели первого сокращения при парной стимуляции уже были достоверно ниже по сравнению с показателями регулярного сокращения при частоте 1 Гц (табл. 2). Ускоренная реституция экстрасистолического сокращения, как и сниженная потенциация регулярного сокращения, характерны также для

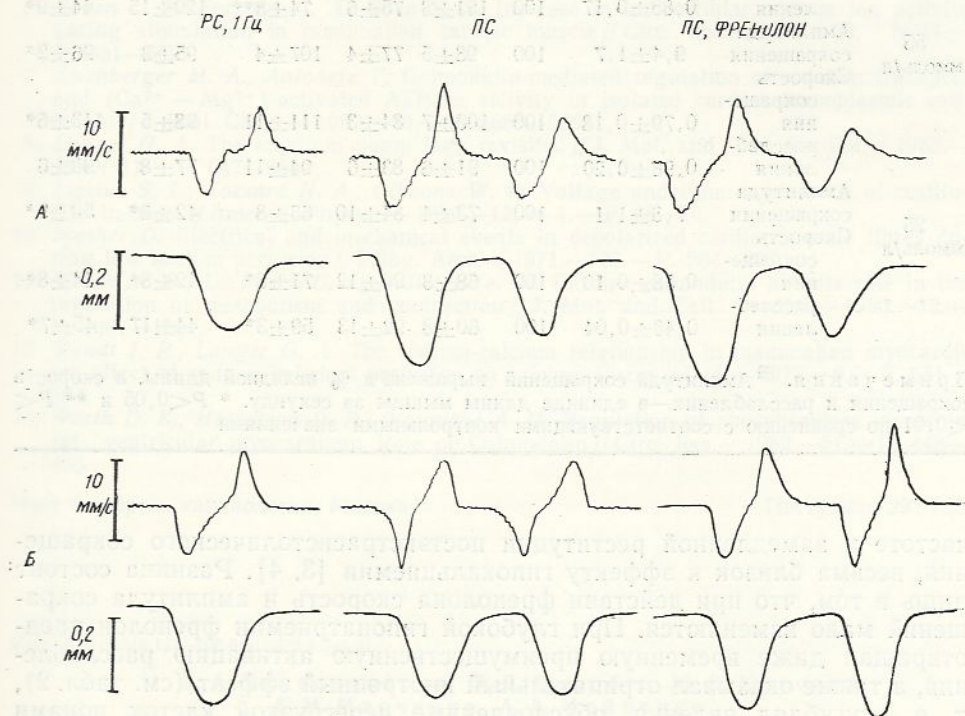


Рис. 2. Изменение параметров регулярных и экстрасистолических сокращений при стимуляции парными импульсами:

А — в контроле (РС) и при действии френолона (ПС, френолон); Б — при гипонатриемии (ПС) и при гипонатриемии+френолоне (ПС, френолон) по сравнению с регулярными сокращениями в контроле (РС) при частоте 1 Гц.

гиперкальциемии [3] и объясняются повышенной мобилизацией Ca^{2+} из внутриклеточных запасов [9] при экстрасистолическом возбуждении.

При добавлении френолона к обычному раствору потенциация основного сокращения сохранялась, но расслабление потенцированного сокращения замедлялось и скорость экстрасистолического сокращения и расслабления снижалась на 27—31 % (табл. 2). Такое сочетание характерно также для действия повышенной механической нагрузки на мышцу [3] и согласуется с представлением об уменьшении фракции Ca^{2+} , выделяемой из саркоплазматического ретикулума при преждевременном возбуждении. Обратный эффект — повышение амплитуды и скорости экстрасистолического сокращения — наблюдался при добавлении френолона к гипонатриевому (55 ммоль/л) раствору (см. рис. 2).

Противоположный эффект френолона при гипонатриемии, вероятно, обусловлен функциональной перегрузкой ретикулума и относительным возрастанием связывания Ca^{2+} на сарколемме.

В целом эффект френолона в обычном растворе, проявляющийся в виде преимущественной депрессии скорости расслабления при любой

Таблица 2. Действие френолона на сократительную функцию папиллярных мышц при парной стимуляции в условиях различной концентрации Na^+ , %

Концентрация Na^+	Показатель функции	Контроль $\ominus$ (абсолютные значения при частоте сокращения в 1 Гц)	Контроль			Френолон		
			PC	ПС 1	ПС 2	PC	ПС 1	ПС 2
143 ммоль/л	Амплитуда сокращения	6,6 $\pm$ 1,1	100	145 $\pm$ 7	86 $\pm$ 9	92 $\pm$ 8	131 $\pm$ 10	63 $\pm$ 8
	Скорость сокращения	0,50 $\pm$ 0,06	100	146 $\pm$ 10	84 $\pm$ 7	93 $\pm$ 4	127 $\pm$ 8	57 $\pm$ 4*
	расслабления	0,88 $\pm$ 0,17	100	151 $\pm$ 8	75 $\pm$ 6	74 $\pm$ 8**	120 $\pm$ 15	44 $\pm$ 9*
55 ммоль/л	Амплитуда сокращения	9,4 $\pm$ 1,7	100	98 $\pm$ 5	77 $\pm$ 4	107 $\pm$ 4	95 $\pm$ 3	96 $\pm$ 2*
	Скорость сокращения	0,79 $\pm$ 0,18	100	100 $\pm$ 7	84 $\pm$ 3	111 $\pm$ 11	98 $\pm$ 5	113 $\pm$ 6*
	расслабления	0,98 $\pm$ 0,20	100	91 $\pm$ 6	83 $\pm$ 6	94 $\pm$ 11	77 $\pm$ 8	98 $\pm$ 6
25 ммоль/л	Амплитуда сокращения	7,8 $\pm$ 1,1	100	73 $\pm$ 4	84 $\pm$ 10	65 $\pm$ 8	42 $\pm$ 8*	50 $\pm$ 9*
	Скорость сокращения	0,58 $\pm$ 0,10	100	68 $\pm$ 3	90 $\pm$ 12	71 $\pm$ 8*	42 $\pm$ 8*	44 $\pm$ 8*
	расслабления	0,48 $\pm$ 0,04	100	60 $\pm$ 8	92 $\pm$ 13	59 $\pm$ 3*	44 $\pm$ 17	45 $\pm$ 7*

Примечания. $\ominus$ Амплитуда сокращений выражена в % исходной длины, а скорость сокращения и расслабления—в единице длины мышцы за секунду. * $P < 0,05$ и ** $P < 0,01$ по сравнению с соответствующими контрольными значениями

частоте и замедленной релаксации постэкстрасистолического сокращения, весьма близок к эффекту гипокальциемии [3, 4]. Разница состоит лишь в том, что при действии френолона скорость и амплитуда сокращений мало изменяются. При глубокой гипонатриемии френолон предотвращал даже временную преимущественную активацию расслабления, а также оказывал отрицательный инотропный эффект (см. табл. 2), т. е. усугублял явления, обусловленные перегрузкой клеток ионами Ca^{2+} . Эти результаты согласуются с представлением об ингибировании френолоном транспорта Ca^{2+} в саркоплазматический ретикулум миокардиальных клеток.

V. I. Kapelko, M. S. Gorina

EFFECT OF LOW SODIUM PERFUSION AND PHRENOLON ON THE CONTRACTILE FUNCTION OF THE ISOLATED CARDIAC MUSCLE

Calmodulin inhibitor, phrenolon, ($5 \cdot 10 \cdot 10^{-6}$ M) did not change the isotonic contractile velocity of isolated guinea-pig papillary muscles at any frequency within the range of 0.5-2.5 Hz, but significantly decreased the relaxation velocity. The relative effect was more pronounced at lower frequencies. In low sodium solution (25 mM) phrenolon completely abolished transient higher rise in relaxation vs. contraction velocity during the increase in frequency of contractions. The depressive action of phrenolon on myocardial relaxation was combined with slowing of the contractile restitution during paired pulse stimulation in the control solution. The opposite effect (accelerated restitution) was observed in low sodium solution. The results are consistent with participation of calmodulin in relaxation process.

Institute of Experimental Cardiology of the All-Union Cardiological Research Centre, Academy of Medical Sciences of the USSR

1. Балденков Г. Н., Меньшиков М. Ю., Феоктистов И. А., Ткачук В. А. Действие нейротропных соединений на кальмодулин- и тропонин С-зависимые процессы // Биохимия.— 1985.— № 8.— С. 16—21.
2. Богданов К. Ю., Захаров С. И., Розенштраух Л. В. Изменение возбудимости клеточной мембраны во время осцилляции тонуса папиллярной мышцы морской свинки // Физиол. журн. СССР.— 1980.— 66, № 6.— С. 859—865.
3. Капелько В. И., Горина М. С. Реституция сократимости в изотоническом и изометрическом режимах работы сердечной мышцы // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1983.— № 3.— С. 3—5.
4. Капелько В. И., Горина М. С. Катионная регуляция сокращения и расслабления миокарда при увеличении частоты сокращений // Бюл. ВКНЦ.— 1984.— № 1.— С. 26—31.
5. Cheung W. J. Calmodulin: an overview // Fed. Proc.— 1982.— 65, N 7.— P. 2258—2264.
6. Cohen C. J., Fozzard H. A., Sheu S. S. Increase in intracellular sodium ion activity during stimulation in mammalian cardiac muscle // Circ. Res.— 1982.— 50, N 11.— P. 651—662.
7. Kirchberger M. A., Antonetz T. Calmodulin-mediated regulation of calcium transport and $(Ca^{2+} - Mg^{2+})$ -activated ATPase activity in isolated cardiac sarcoplasmic reticulum // J. Biol. Chem.— 1982.— 10.— P. 5685—5691.
8. Langer G. A. The «Sodium pump lag» revisited // J. Mol. and Cell. Cardiol.— 1983.— 15, N 11.— P. 647—651.
9. Lipsius S. L., Fozzard H. A., Gibbons W. R. Voltage and time dependence of restitution in heart // Amer. J. Physiol.— 1982.— 12, N 1.— P. 68—76.
10. Masher D. Electrical and mechanical events in depolarized cardiac muscle fibres during low sodium perfusion // Pflug. Arch.— 1971.— 323.— P. 284—296.
11. Walsh M. P., Le Peuch C. J., Vallet B. et al. Cardiac calmodulin and its role in the regulation of metabolism and contraction // J. Mol. and Cell. Cardiol.— 1980.— 12.— P. 1091—1101.
12. Wendt I. R., Langer G. A. The sodium-calcium relationship in mammalian myocardium effect of sodium deficient perfusion on calcium fluxes // Ibid.— 1977.— 9.— P. 551—564.
13. Werth D. K., Hathaway D. R., Watanabe A. M. Regulation of phosphorylase kinase in rat ventricular myocardium: Role of Calmodulin // Circ. Res.— 1982.— 51.— P. 448—456.

Ин-т эксперим. кардиологии, Москва

Поступила 29.07.85

УДК 612.17:616.127—005.8:615.373.3:546.41

Г. А. Чередниченко, З. Д. Воробец, М. Д. Курский,
Г. И. Марченко, А. А. Мойбенко

О НЕКОТОРЫХ МЕМБРАННЫХ МЕХАНИЗМАХ НАРУШЕНИЙ ФУНКЦИИ СЕРДЦА ИММУННОГО ГЕНЕЗА

В настоящее время все большее внимание патофизиологов и клиницистов привлекают иммуноаллергические аспекты заболеваний сердечно-сосудистой системы. При различных заболеваниях сердца показаны появление в крови антикардиальных антител и их фиксация на тканях миокарда, а также высказаны предположения о патогенном действии иммунных факторов на сердце [2, 4, 6]. В экспериментальных исследованиях установлено, что под влиянием антикардиальных антител и сенсibilизированных лимфоцитов наблюдаются существенные нарушения коронарного кровообращения и сократительной функции миокарда, которые рассматриваются как следствие повреждающего действия иммунных факторов на мембраны кардиомиоцитов, что приводит, как предполагают, к нарушению ионного транспорта в сарколемме мышечных клеток сердца [8]. Вместе с тем доказательства этого положения в определенной мере являются косвенными и основаны на результатах морфологических [9] и электрофизиологических [13] исследований.

В связи с этим в настоящей работе проведено исследование изменений показателей ионного транспорта (интенсивности $Na^+ - Ca^{2+}$ -обмена и активности Na^+ , K^+ -АТФазы) в препаратах везикул сарколеммы кардиомиоцитов при иммунном повреждении сердца.