

ратуры — спектрофотометра «Spekol» — для измерения внутриклеточной концентрации Ca^{2+} и трансмембранного потенциала клеток, находящихся в суспензии относительно невысокой плотности.

THE CONCANAVALIN A EFFECT ON THE INTRACELLULAR CONCENTRATION OF CALCIUM IONS AND TRANSMEMBRANE POTENTIAL IN THE RABBIT LYMPHOCYTES

E. D. Nalivaiko, S. L. Mironov

Cytoplasmic Ca^{2+} concentration and transmembrane potential of lymphocytes from the rabbit periphery blood are measured using fluorescent probes Quin-2 and RH-160. The measurement procedure employing the spectrophotometer «Spekol» is described in detail. It is shown that concanavalin A induces a transient increase in $[\text{Ca}]_i$ which follows the transient membrane depolarization. The relative contribution of extracellular and intracellular Ca^{2+} sources to the development of this mitogen-induced increase in $[\text{Ca}]_i$ is estimated.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

1. Иммунологические методы / Под ред. Х. Фримеля, Р. Брока. — М.: Мир, 1979. — 323 с.
2. Карнауков А. В. Люминесцентный спектральный анализ клетки. — М.: Наука, 1978. — 205 с.
3. Костюк П. Г., Тепикин А. В., Белан П. В., Миронов С. Л. Механизмы изменения концентрации Са в цитоплазме нейронов виноградной улитки с участием внутриклеточных Са депо // Биол. мембраны. — 1987. — 4, № 9. — С. 932—936.
4. Grinstein S., Cohen S. Cytoplasmic Ca and intracellular pH in lymphocytes // J. Gen. Physiol. — 1987. — 89, N 2. — P. 185—214.
5. Grinvald A., Hildesheim R., Farber I., Anglistter L. Improved fluorescence probes for the measurement of rapid changes in membrane potential // Biophys. J. — 1982. — 39, N 2. — P. 301—308.
6. Kuno M., Goronzy J., Weyand C., Gardner P. Single-channel and whole-cell recordings of mitogen-regulated inward currents in human cloned helper T-lymphocytes // Nature. — 1986. — 323, N 6085. — P. 269—273.
7. McKinnon D. Changes in the expression of potassium channels during mouse T-cell development // J. Exp. Med. — 1986. — 164, N 6. — P. 1846—1861.
8. Ransom J., Harris L., Campier J. Anti-Ig induces release of inositol 1,4,5-triphosphate, which mediates release of intracellular Ca stored in B-lymphocytes // J. Immunol. — 1986. — 137, N 2. — P. 708—714.
9. Prasad K., Severini A., Kaplan J. Sodium ion influx in proliferating lymphocytes an early component of mitogenic signal // Arch. Biochem. Biophys. — 1987. — 252, N 2. — P. 515—525.
10. Nebrega A., Malonado M., Das Reis G. Analysis of isolated and combined effects of calcium ionophore and phorbol ester on T-lymphocyte activation // Clin. Exp. Immunol. — 1986. — 45, N 3. — P. 559—569.
11. Tsien R., Pozzan T., Rink T. Ca homeostasis in intact lymphocytes // J. Cell Biol. — 1982. — 94, N 1. — P. 325—334.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 09.02.88

УДК 612.127—014.1:612.67

Влияние различных концентраций ионов кальция и частоты стимуляции папиллярной мышцы сердца взрослых и старых крыс на ее сократительную способность

Д. А. Ефимов

В ряде работ показана зависимость сократительной функции сердечной мышцы от концентрации Ca^{2+} , соотношения концентрации Ca^{2+} и Na^+ во внеклеточной среде [2, 10, 11]. При этом сила и скорость сокращения изолированных папиллярных мышц возрастают по мере увеличения концентрации Ca^{2+} в миоплазме [8, 9]. Имеются данные о воз-

растных изменениях Ca^{2+} -аккумулирующей способности саркоплазматического ретикулума [3], что, возможно, является одной из причин снижения сократительной способности миокарда при старении. По мнению Фролькиса и соавт. [4], при старении изменяется кальциевый механизм регуляции сократительного акта, что приводит к изменению электромеханического сопряжения и снижению сократительной способности кардиоцитов. Один из путей выяснения данного вопроса — исследование сократительной способности папиллярной мышцы сердца у крыс разного возраста при различной концентрации Ca^{2+} в перфузате.

Для миокарда крысы характерна отрицательная хроноинотропная связь, т.е. зависимость сократительной способности сердца от частоты сокращения. Это проявляется в том, что по мере учащения сокращения развивается утомление, снижается сократительная способность, при переходе на более редкий ритм наступает плавное постепенное восстановление [3]. В ряде работ показано, что данный эффект связан с недостаточной мощностью миокарда, недостатком креатинфосфата и нарушением транспорта Na^+ и Ca^{2+} [5, 6]. При исследовании возрастных особенностей скоростно-силовых показателей сердечной мышцы интересно было выяснить влияние различной частоты стимуляции на развиваемое напряжение, скорость сокращения и расслабления изолированной папиллярной мышцы у взрослых и старых крыс. В аналогичных опытах на изолированных мышцах сердца морских свинок [2, 7] показана зависимость силы сокращения, скорости укорочения и расслабления от частоты стимуляции и концентрации Ca^{2+} .

В данной работе изучено влияние различных концентраций Ca^{2+} и частоты стимуляции на силу и скорость сокращения и расслабления изолированной папиллярной мышцы сердца взрослых и старых крыс.

Методика

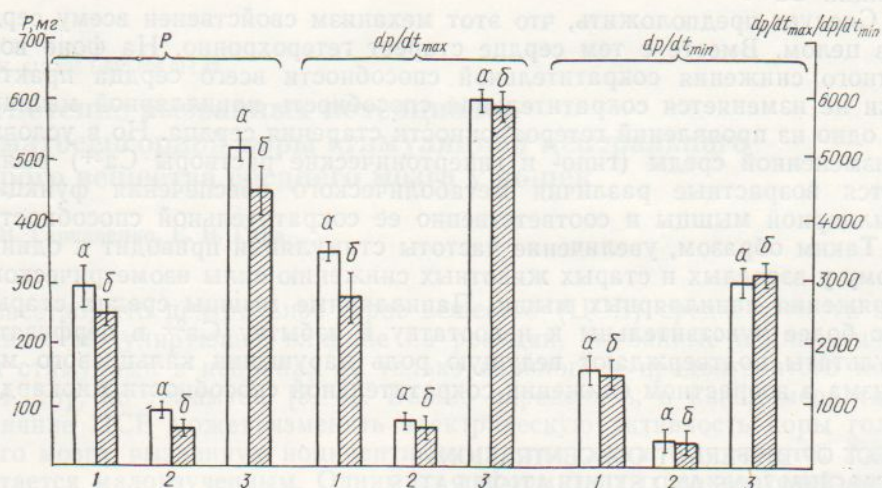
Опыты проводили на изолированных папиллярных мышцах белых крыс-самцов линии Вистар в возрасте 8 и 26 мес. Выделенную папиллярную мышцу помещали в перфузионную камеру с проточным раствором Тироде (pH 7,35) следующего состава (ммоль/л): NaCl — 118,4; KCl — 2,7; NaHCO_3 — 25; NaHPO_4 — 1,2; MgCl — 1,2; CaCl_2 — 1,8; глюкоза — 10. Раствор оксигенировали карбогеном. Сокращение мышцы вызывали действием импульсов тока, пропускаемого через хлорируемые серебряные электроды, помещенные в ванночку, подключенные к электростимулятору и расположенные вдоль мышцы на расстоянии 5 мм. Контроль температуры в ванночке и режим автоматического регулирования температуры в микротермостатах осуществляли с помощью электротермометров. Преобразованные в электрический сигнал механические усилия мышцы через механотрон поступали в измерительный блок и далее на стрелочный индикатор и регистрирующий прибор. Исследование проводили при частоте стимуляции 1—3—1—5—1 Гц в течение 10 мин и при изменении концентрации Ca^{2+} в перфузионном растворе (2,0; 0,5; 5,5 ммоль/л). Достоверность различий оценивали по методу Вилконсона — Манна — Уитни.

Результаты и их обсуждение

Результаты экспериментов с различной частотой стимуляции папиллярной мышцы показали, что при изменении частоты стимуляции (1—3—1—5—1 Гц) скоростно-силовые показатели у взрослых и старых крыс изменяются одинаково. У старых животных с увеличением частоты стимуляции отмечается тенденция к менее выраженному снижению силы изометрического сокращения и уменьшению индекса сокращения и расслабления. При этом снижение $dp/dt_{\min}$ значительно более выражено, чем $dp/dt_{\max}$ (таблица). Учитывая тот факт, что индекс расслабления — скоростной параметр, его уменьшение свидетельствует о снижении сократительной способности миокарда.

Влияние различных концентраций Ca^{2+} на показатели сократительной способности папиллярной мышцы взрослых и старых крыс приведены на рисунке. Как видно из этого рисунка, полоска миокарда ста-

рых животных оказалась более чувствительной к недостатку и избытку Ca^{2+} . Это касается прежде всего силы сокращения (P) и косвенно свидетельствует о том, что в миокарде старых животных существует какая-то дефектность транспорта Ca^{2+} . Это позволяет предполагать, что уже в исходном состоянии концентрация Ca^{2+} с возрастом увеличивается. Изменение концентрации Ca^{2+} в перфузате в большей мере сказывается на сократительной способности миокарда старых крыс [4]. Снижение мощностей сарколеммных механизмов транспорта кальция и прежде всего механизмов его активного удаления во внеклеточную среду сопровождается снижением исходной сократительной спо-



Влияние различных концентраций Ca^{2+} на сократительную способность папиллярной мышцы у взрослых (α) и старых (δ) крыс:

1 — 2,0 ммоль/л; 2 — 0,5 ммоль/л; 3 — 5,5 ммоль/л.

собности сердечной мышцы [4]. Это во многом связано с тем, что при старении изменяется ряд звеньев в метаболизме и транспорте Ca^{2+} из внеклеточной среды в клетку, изменяются скорость и освобождение Ca^{2+} саркоплазматическим ретикуломом, снижается активность Са-АТФазы. При исследовании АТФ-зависимого транспорта Ca^{2+} в мембранной фракции митохондрий кардиомиоцитов у зрелых и старых крыс Герасимович и Милютин [1] выявили увеличение с возрастом сродства митохондриальных мембран к Ca^{2+} . Кроме того, определенное значе-

Сократительная способность папиллярной мышцы сердца у взрослых и старых крыс в зависимости от частоты раздражения¹

Частота раздражения	Сила сокращения через				Скорость сокращения через				Скорость расслабления че ре			
	0,5 мин	5,0 мин	7,5 мин	10,0 мин	0,5 мин	5,0 мин	7,5 мин	10,0 мин	0,5 мин	5,0 мин	7,5 мин	10,0 мин
Взрослые животные (12)												
3 Гц	63	40	37	34	102	74	71	72	102	56	52	50
1 Гц	48	67	72	77	63	78	81	97	59	74	80	84
5 Гц	54	22	22	18	93	58	51	43	82	42	36	37
1 Гц	30	53	59	70	46	74	83	100	37	71	82	97
Старые животные (10)												
3 Гц	100	73	66	61	134	97	93	79	99	71	65	54
1 Гц	62	87	94	100	72	93	97	102	53	84	87	92
5 Гц	68	34	31	29	125	67	63	56	84	37	34	34
1 Гц	34	65	75	81	46	81	97	103	31	68	89	94

¹ Все показатели представлены в % значений, зарегистрированных при исходной частоте 1 Гц, принятой за 100 %.

ние может иметь то, что уменьшение удельной площади сарколеммы при старении сказывается на числе Ca^{2+} -каналов.

Для выяснения причины характерного для сердца крыс явления снижения развиваемого напряжения с увеличением частоты стимуляции исследователи внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} с помощью акворина при сокращении изолированной папиллярной мышцы 6- и 24-месячных крыс [12]. Если у взрослых крыс повышение концентрации Ca^{2+} в перфузате снимало эффект снижения напряжения в ответ на возрастание частоты стимуляции, то у старых крыс добавление Ca^{2+} не изменяло ответную реакцию. Авторы объясняют это снижением с возрастом функции саркоплазматического ретикулула в отношении аккумуляции Ca^{2+} .

Следует предположить, что этот механизм свойственен всему сердцу в целом. Вместе с тем сердце стареет гетерохронно. На фоне возрастного снижения сократительной способности всего сердца практически не изменяется сократительная способность папиллярной мышцы. Это одно из проявлений гетерохронности старения сердца. Но в условиях измененной среды (гипо- и гипертонические растворы Ca^{2+}) выявляются возрастные различия метаболического обеспечения функции папиллярной мышцы и соответственно ее сократительной способности.

Таким образом, увеличение частоты стимуляции приводит к одинаковому у взрослых и старых животных снижению силы изометрического напряжения папиллярных мышц. Папиллярные мышцы сердца старых крыс более чувствительны к недостатку и избытку Ca^{2+} в перфузате. Результаты подтверждают ведущую роль нарушения кальциевого механизма в возрастном снижении сократительной способности миокарда.

EFFECT OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF CALCIUM IONS AND STIMULATION RATES ON THE HEART PAPILLARY MUSCLE CONTRACTILITY IN RATS

D. A. Efimov

The effect of various stimulation rates (1-3-5-1 Hz) against the background of different Ca^{2+} concentrations (2.0; 0.5; 5.5 mmol/l) in the perfusion fluid on the contractility and relaxation of the isolated papillary heart muscle has been studied in the experiment on adult and old rats. The results obtained indicate the importance of calcium-dependent mechanisms in the decrease of myocardial contractility with ageing. Heart papillary muscles of old rats are more sensitive to Ca^{2+} lack and excess in the perfusion fluid. No significant age-related differences are observed in myocardial isometric tension and contraction to relaxation index responses to the increased stimulation rate.

Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Kiev

1. Герасимович Н. В., Милютин А. А. Ca^{2+} -транспортирующая функция митохондрий кардиомиоцитов животных разного возраста // Всесоюз. симпоз. «Молекулярные механизмы регуляции энергетического обмена». — Пушино, 1986. — С. 50.
2. Капелько В. И., Горина М. С. Саморегуляция сократительной функции миокарда при изменении концентрации активирующего катиона // Физиол. журн. СССР, 1986. — 72, № 3. — С. 357—362.
3. Лобанюк Л. М., Шилов В. В., Кирилюк А. П. Влияние кальция на зависимость сила — частота и потенциацию покоем в миокарде зрелых и старых крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1986. — № 3. — С. 261—263.
4. Фролькис В. В., Безруков В. В., Шевчук В. Г. Кровообращение и старение. — Л.: Наука, 1984. — 216 с.
5. Лангер Г. А., Филипсон В. Д., Берс Д. М. Метаболизм миокарда. — М.: Медицина, 1981. — 468 с.
6. Фуркало Н. К., Братусь В. В., Фролькис Р. А. Коронарная недостаточность, кровообращение, функция и метаболизм миокарда. — Киев: Здоров'я, 1986. — 184 с.
7. Chappell S., Henderson A., Lewis M. Characterization of the mechanical behavior of isolated papillary muscle preparations of the ferret // J. Pharmacol. Meth. — 1986. — 15, N 1. — P. 35—39.
8. Daniels M., Noble M. J. M. Velocity of sarcomere shortening in rat cardiac muscle: relationship to horse sarcomere length calcium and time // J. Physiol. — 1984. — 355, N 4. — P. 367—381.
9. Donald M. A., Noble M., Keurs H. The dependence of force and velocity on calci-