

УДК 612.17

Частотно-зависимое блокирование натриевого тока мембраны изолированных кардиомиоцитов крыс кальциевым антагонистом верапамилом

В. И. Пидопличко, А. Н. Верхратский

Верапамил является одним из наиболее распространенных представителей группы фармакологических веществ, вызывающих избирательное подавление функционирования потенциалуправляемых кальциевых каналов мембраны возбудимых клеток. В настоящее время подобные фармакологические средства (так называемые кальциевые антагонисты) широко применяются в клинической кардиологии для лечения многих видов нарушения ритма сердца. Исследования на уровне одиночных клеток миокарда [10, 12, 13] показали, что верапамил и его производные в микромолярных концентрациях значительно снижают способность кальциевых каналов к открытию при деполяризации и, как следствие, уменьшают вклад кальциевого тока в электрогенез сердечной клетки. В то же время существуют данные о возможном влиянии верапамила и на другой компонент мембранной проводимости кардиомиоцитов, а именно на быстрый натриевый ток, обеспечивающий фазу нарастания потенциала действия сердечной клетки [3]. В настоящей работе приводятся результаты прямых измерений подавления быстрого натриевого тока мембраны изолированных кардиомиоцитов под действием микромолярных концентраций верапамила.

Методика

Эксперименты проводили на ферментативно изолированных клетках желудочка сердца 1-месячных крыс. Одиночные кардиомиоциты исследовали в условиях внутриклеточной перфузии и фиксации потенциала на мембране [8, 11]. Состав растворов (ммоль/л) следующий: внеклеточный раствор NaCl —150, CaCl_2 —3,6, HEPES/NaOH —10, pH —7,4; внутриклеточный раствор— TRIS(HF) —150, NaF —10, pH —7,2. Использование ионов фтора в качестве основного внутриклеточного аниона позволяет подавлять функционирование кальциевых потенциалуправляемых каналов [9] и исследовать быстрый натриевый ток в неосложненном виде. Все измерения проводили при температуре 22—24 °C. Верапамил («Sigma», США) разводили в деионизированной воде для получения исходного раствора концентрацией 10^{-3} моль/л. Рабочие растворы готовили непосредственно в процессе эксперимента.

Результаты и их обсуждение

После замены цитоплазмы изолированных кардиомиоцитов искусственным солевым раствором в ответ на деполяризующее смещение мембранного потенциала (от уровня поддерживаемого потенциала, составляющего 120 мВ) регистрировали входящий ионный ток. Этот ионный ток обладал следующими свойствами: значение порога активации тока было близко к —65 мВ, а максимума вольт-амперной характеристики — к —35 мВ; кинетика инактивации регистрируемого тока имела двухэкспоненциальный характер, постоянные времени инактивации различались примерно в 4,5 раза; регистрируемый ионный ток полностью подавлялся тетродотоксином (10^{-4} моль/л); значение потенциала ре-

версии регистрируемого тока составляло $+60$ мВ, т. е. было близко к значению теоретически рассчитанного равновесного потенциала для ионов натрия (при $[Na_0] = 145$ ммоль/л и $[Na_i] = 10$ ммоль/л и $E_{Na} = +66$ мВ). Перечисленные характеристики регистрируемого ионного тока позволяют определить его как входящий натриевый ток [1, 2, 4].

При исследовании действия верапамила на быстрый натриевый ток мембраны изолированных кардиомиоцитов обнаружено, что этот

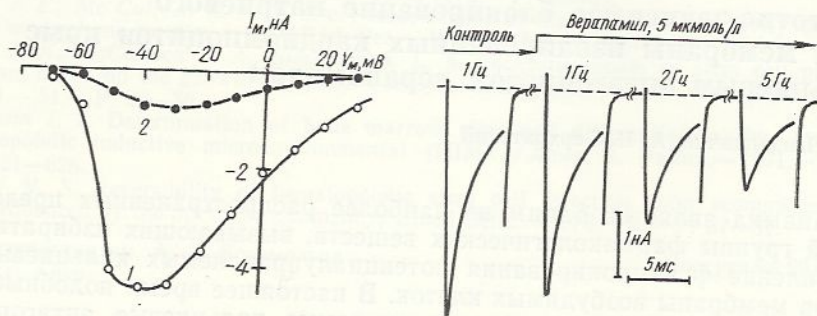


Рис. 1. Вольт-амперные характеристики быстрого натриевого тока мембраны изолированного кардиомиоцита крысы до (1) и после (2) действия верапамила (50 мкмоль/л). Частота подачи тестирующих деполяризаций составляет 0,5 Гц; поддерживаемый потенциал -120 мВ.

Рис. 2. Усиление подавления быстрого натриевого тока мембраны изолированного кардиомиоцита крысы верапамилем при повышении частоты тестирующих деполяризаций. Поддерживаемый потенциал -120 мВ; тестирующий потенциал -20 мВ.

кальциевый антагонист достаточно эффективно подавляет быстрый натриевый ток. Уменьшение амплитуды быстрого натриевого тока зависит от частоты подачи тестирующих деполяризаций (явление так называемой частотно- или стимул-зависимой блокады: «use-dependent» блок — в англоязычной литературе). Частотно-зависимый блок натриевых каналов характерен, например, для местных анестетиков [7]. При частоте стимуляции 0,5 Гц 90 % подавление амплитуды быстрого натриевого тока происходит при концентрации верапамила в наружном растворе около 50 мкмоль/л (рис. 1), повышение частоты подачи тестирующих деполяризаций увеличивает эффективность блокады натриевого тока (рис. 2). Зависимость действия верапамила от частоты тестирующих деполяризаций позволяет предположить, что в основе подавления быстрого натриевого тока лежит взаимодействие этого агента с натриевыми каналами, находящимися либо в открытом, либо в инактивированном состоянии.

Необходимо отметить, что за последние 5—6 лет появились сообщения о блокаде быстрого натриевого тока мембраны клеток сердца многими кальциевыми антагонистами (галлопамилем [5], нитрендипином [14], дилтиаземом [6]). Эта блокада развивается в микромолярном диапазоне концентраций кальциевых антагонистов, т. е. при терапевтических концентрациях этих агентов. Полученные результаты, свидетельствующие о чувствительности быстрого натриевого тока мембраны клеток сердца к блокаторам кальциевых каналов, требуют пересмотра механизмов антиаритмического действия последних, а именно выяснения того, связана ли антиаритмическая активность кальциевых антагонистов с подавлением функционирования кальциевых каналов или она является следствием блокады каналов быстрого натриевого тока.