

USE-DEPENDENT BLOCKING OF SODIUM CURRENT IN THE MEMBRANE OF SINGLE RAT CARDIOMYOCYTES BY CALCIUM ANTAGONIST

V. I. Pidoplichko, A. N. Verkh ratsky

Use-dependent blocking of sodium current in the membrane of single rat cardiomyocytes by verapamil (in the concentration range of 5-50 $\mu\text{mol/l}$) has been observed. The data obtained suggest that verapamil binding with sodium channels which are in the open or inactivated state underlies suppression of sodium current.

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

1. *Верхратский А. Н., Пидопличко В. И.* Ионные токи в мембране одиночных клеток сердца // *Успехи физиол. наук.*— 1987.— 18, № 1.— С. 23—43.
2. *Верхратский А. Н., Пидопличко В. И.* Двухкомпонентность натриевого тока в мембране изолированных кардиомиоцитов // *Физиол. журн.*— 1987.— 33, № 4.— С. 44—48.
3. *Bayer R., Kallusche D., Kaufmann R., Mannhold R.* Inotropic and electrophysiological actions of verapamil and D600 in mammalian myocardium. III. Effects of the optical isomers on transmembrane action potentials // *Naunin Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*— 1975.— 290, N 1.— P. 81—97.
4. *Brown A. M., Lee K. S., Powell T.* Sodium current in single rat heart muscle cells // *J. Physiol. (London).*— 1981.— 318.— P. 479—500.
5. *Bustamante J. O.* Block of sodium currents by the calcium antagonist D600 in human heart cells segments // *Pflügers Arch.*— 1985.— 403, N 3.— P. 225—228.
6. *Hauswirth O., Samkova M., Josel B., Schäfer K., Männe F.* Effects of diltiazem on action potentials and $\dot{V}_{\text{max}}$ in voltage clamped cardiac Purkinje fibres // *Proc. Int. Union Physiol. Sci.*— 1986.— 16.— P. 91.
7. *Hondeghem L. C., Katzung B. G.* Antiarrhythmic agents: the modulated receptor mechanism of action of sodium and calcium blocking drugs // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*— 1984.— 24.— P. 387—423.
8. *Kostyuk P. G., Krishtal O. A., Pidoplichko V. I.* Intracellular perfusion // *J. Neurosci. Meth.*— 1981.— 4, N 3.— P. 201—210.
9. *Kostyuk P. G., Krishtal O. A., Pidoplichko V. I.* Effects of internal fluoride and phosphate on membrane currents during intracellular dialysis of nerve cells // *Nature.*— 1975.— 257, N 5528.— P. 691—693.
10. *Pelzer D., Cavalie A., Trautwein W.* Modulation of the gating properties of single calcium channels in cardiac cell membranes // *by D600 // INSERM.*— 1984.— 124.— P. 415—424.
11. *Pidoplichko V. I.* Two TTX-separable sodium inward currents in the membrane of isolated cardiomyocytes // *Gen. Physiol. Biophys.*— 1986.— 5, N 6.— P. 593—604.
12. *Trautwein W.* Calcium channels in the membrane of the cardiac myocyte: physiological and pharmacological control // *Triangle.*— 1985.— 24, N 2/3.— P. 101—114.
13. *Trautwein W., Pelzer D.* Voltage-dependent gating of single calcium channels in the cardiac cell membrane and its modulation by drugs // *Calcium and cell physiology.*— Berlin etc.: Springer—Verlag, 1985.— P. 53—93.
14. *Yatani A., Brown A. M.* The calcium channel blocker nitrendipine blocks sodium channels in neonatal rat cardiac myocytes // *Circulat. Res.*— 1985.— 56, N 5.— P. 868—875.

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

Поступила 26.05.88

УДК 612.133:612.461.6:546.33.019.08

Влияние натриуретического фактора, полученного из артериальной крови собак, на кардио- и гемодинамику в эксперименте

В. Н. Коновчук, А. В. Михальский, А. Е. Петрюк, Ю. И. Иванов

В различных лабораториях мира широким фронтом идут работы по выделению и химическому синтезу натриуретического гормона — важного регулятора водно-солевого обмена. Поскольку его химическая

структура остается неизвестной, то, чаще всего, гуморальные вещества, обладающие натриуретическим действием, называют натриуретическим фактором.

Целью нашей работы явилось исследование влияния эндогенного натриуретического фактора, полученного в нашей лаборатории из артериальной крови собак, в отличие от атриального натриуретического фактора [6—8], угнетающего Na^+ , K^+ -АТФазу и практически не изменяющего скорость клубочковой фильтрации, на показатели кардио- и гемодинамики.

Методика

Опыты проведены на 16 беспородных собаках обоего пола массой 9—14 кг. Для обездвиживания животных и снятия болевой афферентации исследования проводили под общей анестезией. В остром эксперименте животных наркотизировали внутривенным введением тиопентал-натрия ($25\text{—}30 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$). Последующее введение тиопентал-натрия осуществляли из расчета $0,15 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ в 0,85 %-ном растворе NaCl в объеме 0,5 % массы тела в час с помощью перистальтического насоса НР-1М. Показатели кардио- и гемодинамики исследовали до и после введения натриуретического фактора. В отдельной серии опытов было изучено влияние условий эксперимента (анестезии, фиксации животных на спине и др.) на кровообращение.

Натриуретический фактор получали разделением смеси пептидов плазмы артериальной крови собак, взятой у них после увеличения объема внеклеточной жидкости изотоническим раствором NaCl , из расчета 3 % массы тела. Гель-фильтрацией на колонке, заполненной сефадексом Г-25, выделяли фракцию (2-й и 3-й пики), содержащую натриуретический фактор, активность которого идентифицировали на биологических системах [3, 5]. Натриуретический фактор вводили в дозе $0,41 \text{ мкг} \cdot \text{кг}^{-1}$ (в пересчете на белок) массы тела, т. е. в той дозе, которая у всех опытных животных вызывала статистически достоверное увеличение натриуреза по отношению к его значению в контрольный период.

Состояние кардио- и гемодинамики оценивали по следующим показателям: ударному объему крови (УОК) и частоте сердечных сокращений (ЧСС) — методом тетраполярной реографии [1] на аппарате РИГ2-02 с записью реограммы на электрокардиографе ЭК4Т-02. Минутный объем крови (МОК), общее периферическое сопротивление сосудов (ОПСС), коэффициент насосной способности сердца (КНСС) и ударную работу левого желудочка (Ауд) определяли методикой расчетов [2, 4]. Центральное венозное давление (ЦВД) и среднее артериальное давление (САД) измеряли прямым методом — катетеризацией задней полой вены и аорты.

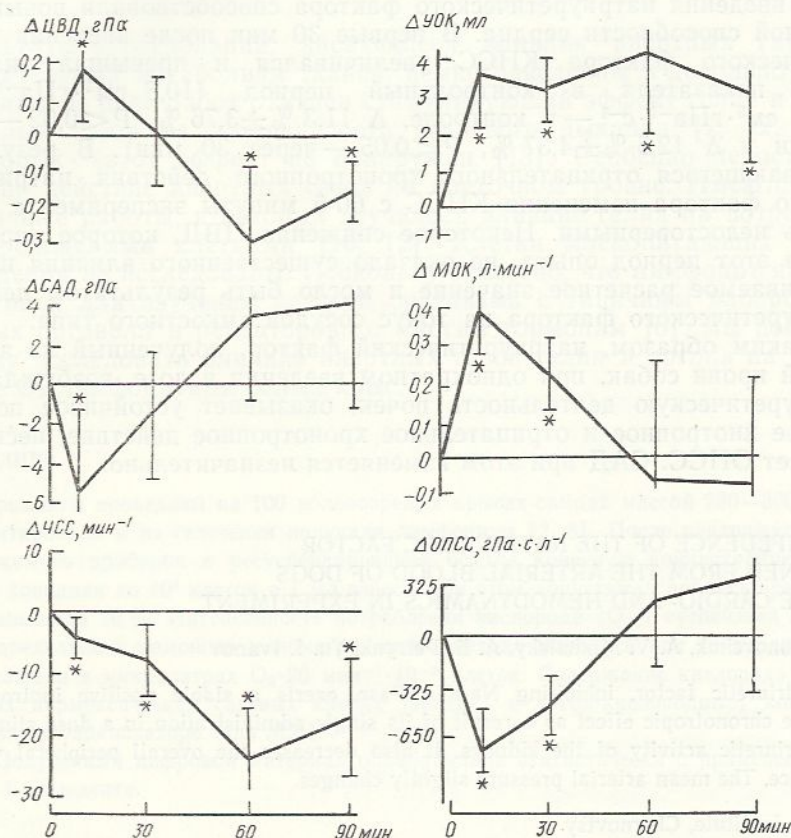
Показатели гемодинамики регистрировали в контрольный период и через 10, 30, 60, 90 мин после введения натриуретического фактора. Статистическую обработку производили разностным методом с применением критерия Стьюдента на микрокалькуляторах по программам.

Результаты и их обсуждение

Вначале было исследовано влияние операционной травмы, наркоза и других условий эксперимента на показатели кардио- и гемодинамики. Обнаружено, что в остром опыте, длительностью не более 3,5 ч, при общей кровопотере 3—4 % объема циркулирующей крови, дозированной подаче анестетика и изотонического раствора исследуемые показатели остаются стабильными. Поэтому в дальнейшем для изучения действия натриуретического фактора у экспериментальных животных мы выделили два периода: контрольный (первые 60 мин) и опытный (последующие 90 мин). После регистрации результатов контрольного периода (ЦВД — $3,7 \text{ гПа} \pm 0,17 \text{ гПа}$, САД — $112,9 \text{ гПа} \pm 6,76 \text{ гПа}$, ЧСС — $125 \text{ мин}^{-1} \pm 3,05 \text{ мин}^{-1}$, УОК — $19,1 \text{ мл} \pm 1,62 \text{ мл}$, МОК — $2,4 \text{ л} \cdot \text{мин}^{-1} \pm 0,15 \text{ л} \cdot \text{мин}^{-1}$, ОПСС — $3851 \text{ гПа} \cdot \text{с} \cdot \text{л}^{-1} \pm 196,6 \text{ гПа} \cdot \text{с} \cdot \text{л}^{-1}$) вводили натриуретический фактор и сравнивали изменения.

После однократного внутривенного введения натриуретического фактора у анестезированных собак увеличивается МОК. Так, спустя 10 мин после введения натриуретического фактора МОК возрастал на

17,8 % $\pm$ 3,49 % ($P < 0,02$) и сохранялся повышенным приблизительно в течение получаса эксперимента (рисунок). Наблюдаемая гемодинамическая реакция — следствие увеличения УОК, поскольку ЧСС при этом снижается. Систолический выброс на протяжении всего исследуемого периода был выше, чем до введения натриуретического фактора. Одновременно наблюдалось и урежение числа сердечных сокращений. После 30 мин эксперимента, несмотря на повышенный УОК (Δ 22,5 % $\pm$



Изменения параметров центральной гемодинамики после введения натриуретического фактора.

По горизонтали — время после введения натриуретического фактора, мин; по вертикали — изменения показателей гемодинамики после введения натриуретического фактора ($\Delta M \pm m$). Звездочкой обозначены статистически достоверные отличия.

$\pm 5,15$ %, $P < 0,01$ — через 60 мин; Δ 16,3 % $\pm$ 4,57 %, $P < 0,01$ — через 90 мин), в результате отрицательного хронотропного действия натриуретического фактора МОК снижался до исходного.

Вазоактивное действие натриуретического фактора, направленное на изменение тонуса резистивных и емкостных сосудов, можно оценить по состоянию ОПСС. Расчет последнего показал, что оно на 10-й и 30-й минутах эксперимента было ниже исходного значения на $18,3 \pm 1,48$ и $11,1 \pm 1,89$ % соответственно ($P < 0,001$). Поэтому в ранних изменениях системной гемодинамики (10-я минута) в ответ на введение натриуретического фактора отмечается некоторое снижение САД ($-5,1 \pm 1,61$ %, $P < 0,02$). Вместе с тем вследствие развития положительной динамики ОПСС снижение САД было кратковременным и не характерным для последующих периодов эксперимента (через 30, 60, 90 мин).

УОК и ОПСС посредством формирования среднего гемодинамического давления обуславливают внешнюю работу левого желудочка. Как показали расчеты, изменение систолического выброса, возникшее под влиянием инотропного действия натриуретического фактора, оказало

определяющее действие на производительную работу левого желудочка. В контрольный период производительная работа левого желудочка составляла $0,2 \text{ Дж} \pm 0,021 \text{ Дж}$. После введения натриуретического фактора она повышалась и в различные периоды эксперимента (через 10, 30, 60, 90 мин) была выше на $25\% \pm 6,21\%$ ($P < 0,01$), $24,3 \pm 7,12$ ($P < 0,02$), $33,9 \pm 9,70$ ($P < 0,01$), $29\% \pm 11,44\%$ ($P < 0,05$) соответственно.

Наблюдаемое снижение ОПСС и повышение сердечного выброса после введения натриуретического фактора способствовали повышению насосной способности сердца. В первые 30 мин после введения натриуретического фактора КНСС увеличивался и превышал значение этого показателя в контрольный период ($10,8 \text{ см}^3 \cdot \text{гПа}^{-1} \cdot \text{с}^{-1} \pm 0,53 \text{ см}^3 \cdot \text{гПа}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ — в контроле, $\Delta 11,3\% \pm 3,76\%$, $P < 0,02$ — через 10 мин и $\Delta 12,5\% \pm 4,37\%$, $P < 0,05$ — через 30 мин). В результате усиливающегося отрицательного хронотропного действия натриуретического фактора изменения КНСС с 60-й минуты эксперимента становились недостоверными. Некоторое снижение ЦВД, которое определялось в этот период опыта, не оказало существенного влияния на рассматриваемое расчетное значение и могло быть результатом действия натриуретического фактора на тонус сосудов емкостного типа.

Таким образом, натриуретический фактор, полученный из артериальной крови собак, при однократном введении в дозе, возбуждающей натриуретическую деятельность почек, оказывает устойчивое положительное инотропное и отрицательное хронотропное действие, несколько снижает ОПСС. САД при этом изменяется незначительно.

THE INFLUENCE OF THE NATRIURETIC FACTOR OBTAINED FROM THE ARTERIAL BLOOD OF DOGS ON THE CARDIO- AND HEMODYNAMICS IN EXPERIMENT

V. N. Konovchuk, A. V. Mikhalsky, A. E. Petryuk, Yu. I. Ivanov

The natriuretic factor, inhibiting Na-K-ATPase, exerts a stable positive inotropic and negative chronotropic effect as a result of its single administration in a dose stimulating the natriuretic activity of the kidneys. It also decreases the overall peripheral vascular resistance. The mean arterial pressure slightly changes.

Medical Institute, Chernovtsy

1. Белкания Г. С., Дарцилия В. А. Способ определения сердечного выброса у обезьян // Косм. биология и авиакосм. медицина. — 1983. — 17, № 4. — С. 75—78.
2. Брин В. Б., Зонис Б. Я. Физиология системного кровообращения. — Ростов н/Д: Изд-во Рост. ун-та, 1984. — 88 с.
3. Кучер В. И., Тереножкина Н. П., Гоженко А. И. Выделение из плазмы крови фракций, содержащих натриуретический гормон, и их тестирование в опытах *in vivo* и *in vitro* // Пробл. эндокринологии. — 1983. — 29, № 3. — С. 47—50.
4. Лиссова О. В., Палец Б. Л., Береговский Б. А. Регуляция кровообращения. Экспериментальные и математические исследования. — Киев: Наук. думка, 1977. — 157 с.
5. Тереножкина Н. П., Кучер В. И., Гоженко А. И., Иванов Ю. И. Влияние натриуретического фактора на транспорт электролитов и энергетический обмен в срезах коры почек // Физиол. журн. СССР. — 1987. — 73, № 8. — С. 1090—1093.
6. Cogan M. Atrial natriuretic factor can increase renal solute excretion primarily by raising glomerular filtration // Amer. J. Physiol. — 1986. — 250, N 4. — P. 710—714.
7. Mills I., Chakravarty B. Natriuretic and smooth muscle contracting activities isolated from human urine // Klin. Wochenschr. — 1987. — 65, N 8. — P. 60—65.
8. Sonnenberg H. On the physiological role of atrial natriuretic factor // Ibid. — P. 8—13.

Черновиц. мед. ин-т

М-ва здравоохранения УССР

Поступила 03.03.88