

5. Brown A. Cardiac Reflexes // Handbook of Physiol. Sect. 2 The Cardiovascular System / Eds. by Berne R., Sperelakis N., Geiger S. — Washington, 1979. — P. 677-689.
6. Coleridge H., Coleridge J. Cardiovascular afferents involved in regulation of peripheral vessels // Annu. Rev. Physiol. — 1980. — 42, N2. — P. 413-427.
7. Donald D., Shepherd J. Reflexes from the heart and lungs: a physiological curiosities or important regulatory mechanisms // Cardiovasc. Res. — 1978. — 12, N8. — P. 449-469.
8. Ferrario C. Neurobiology of arterial and cardiac sensory afferents // Fed. Proc. — 1987. — 46, N1. — P. 9-11.
9. Gillis R., Quest J. Neural action of digitalis // Annu. Rev. Med. — 1978. — 29, N1. — P. 73-79.
10. Inoue H., Skale B., Zipes D. Effects of ischemia on cardiac afferent sympathetic and vagal reflexes in dog // Amer. J. Physiol. — 1988. — 255, Pt. 2. — P. 26-35.
11. Kloner R., Braunwald E. Observation on experimental myocardial ischemia // Cardiovasc. Res. — 1980. — 4, N7. — P. 371-395.
12. Kunze D., Orlea C. The influence of calcium and potassium on atrial receptors discharge // Arterial baroreceptors and hypertension/Eds. Sleight P. — New York: Oxford University Press, 1980. — P. 88-90.
13. Malliani A. Cardiovascular sympathetic afferent fibers // Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. — 1982. — 94. — P. 11-72.
14. Mark A. Sensitization of cardiac vagal afferent reflexes at the sensory receptors level: an overview // Fed. Proc. — 1987. — 46, N1. — P. 36-40a.
15. Moibenko A., Pavlyuchenko V. Cardiogenic afferent influences on circulation // Proc. Satellite Symp. JUPS. — Rostock, Germany, 1987.
16. Moibenko A., Sagach V., Popovich L. Immune injury to heart muscle. // Sov. Med. Rev. Cardiol. — 1989. — 2. — P. 169-202.
17. Needleman P., Key S., Denny S. et al. Mechanism and modification of bradykinin-induced coronary vasodilatation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1975. — 72. — P. 2060-2063.
18. Paratt J., Wainwright C., Coker S., Zeitlin J. Eicosanoids and cardiac arrhythmias // Biomed. et biochem. acta — 1988. — 47, N10. — P. 13-18.
19. Staszewska-Barczak J. Prostanoids and cardiac reflexes of sympathetic and vagal origin // Amer. J. Cardiol. — 1983. — 52. — 36A-45A.
20. Verberne A., Lewis S., Jarrot B. Bezold-Jarish reflex is inhibited by excitotoxin-induced destruction of vagal primary afferent neurons // Eur. J. Pharmacol. — 1987. — 139, N3. — P. 365-367.
21. Yagi R. Lipid peroxides and human diseases // Chem. Phys. Lipids. — 1987. — 45. — P. 337-351.

Ін-т фізіології ім. О.О. Богомольця
АІІ України, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 09.04.92

УДК 615.36.38/39:616.12

В. В. Алабовський, А. А. Винокуров

Предупреждение развития контрактуры миокарда при «кальциевом парадоксе» воздействием на Na—Ca-обмен

В экспериментах на изолированном за Лангендорфом серці щурів вивчали захисну дію високого трансмембранного градієнта натрію та макроергетичних сполук за умов «кальцієвого парадокса». Встановлено, що висока зовнішньоклітинна концентрація натрію ефективно зменшує швидкість розвитку контрактури міокарда під час реперфузії серця розчином, який містить кальцій, після 10 хв перфузії безкальцієвим середовищем. Нуклеотиди (АТФ, ГТФ, ЦТА або УТФ), їх попередники (аденозин або рибоза) у концентрації 100 мкмоль/л значно підвищували захисну дію високого градієнта натрію. Фосфокреатин (100 мкмоль/л) підвищував швидкість розвитку контрактури при «кальцієвому парадоксі». За умов високого градієнта натрію фосфокреатин ефективно (більш ніж на 75—90%) зменшував швидкість розвитку та максимальне значення контрактури міокарда при «кальцієвому парадоксі».

© В. В. АЛАБОВСКИЙ, А. А. ВИНОКУРОВ

ISSN 0201-8489. Физиол. журн. 1992. Т. 38, № 4

Введение

Реперфузия изолированного сердца Са-содержащим раствором после непродолжительной перфузии бескальциевой среды приводит к повреждению кардиомиоцитов, выходу из них внутриклеточных веществ, формированию контрактуры миокарда [8,14,19]. Установлено, что в основе этих нарушений лежит неконтролируемое поступление Ca^{2+} внутрь клеток [4,13,14,17,19]. Однако применение даже очень высоких концентраций верапамила (1–2 мг/л) или других блокаторов медленных каналов не привело к ожидаемым результатам [6,14]. В ходе последующих исследований возникло предположение, что важную роль в поступлении Ca^{2+} играет система Na—Са-обмена сарколеммы кардиомиоцитов [7,8,18]. Снижение трансмембранного градиента натрия и значительное уменьшение активности Na, К-АТФазы способствовали поступлению Ca^{2+} в клетки при восстановлении его прежней концентрации в растворе [7–10, 13, 14]. Формирующаяся в результате увеличения внутриклеточной концентрации Ca^{2+} и уменьшения уровня АТФ контрактура миофибрилл могла вызывать повреждение сарколеммы кардиомиоцитов [11].

Таким образом, предупреждение развития контрактуры при «кальциевом парадоксе» имеет важное значение для ослабления повреждающего действия Ca^{2+} на миокард. Однако в литературе нет сведений о возможности предупреждения контрактуры миокарда при «кальциевом парадоксе», возникшем в результате воздействия на Na—Са-ионообменную систему кардиомиоцитов. Поэтому целью настоящего исследования явилось изучение возможности уменьшения скорости развития контрактуры миокарда созданием высокого градиента натрия. Для более эффективного поддержания на высоком уровне градиента натрия нами были использованы экзогенные макроэргические соединения, поскольку ранее была обнаружена способность АТФ активировать Na, К-АТФазу и усиливать поглощение K^{+} изолированным сердцем [2].

Методика

Эксперименты проводили на изолированном перфузированном по Лангендорфу сердце крыс линии Вистар массой 200–220 г. Под легким эфирным наркозом вскрывали грудную клетку, сердце помещали в охлажденный перфузионный раствор. Аорту канюлировали, и сердце перфузировали оксигенированным (100% O_2 , 37°C) раствором со скоростью 10 мл/мин на 1 г. Исходный раствор содержал (ммоль): NaCl — 140; NaHCO_3 — 2; NaH_2PO_4 — 0,5; KCl — 3; CaCl_2 — 2; глюкозу — 11; трис—ОН — 2 (pH 7,4). После 15 мин адаптации сердце перфузировали бескальциевой средой, содержащей 0,5 ммоль/л ЭДТА, а затем вновь возвращали к перфузии исходным Са-содержащим раствором. Давление в левом желудочке измеряли в изоволюмическом режиме с помощью латексного баллончика, соединенного с электроманометром фирмы «Bentley lab. Europe» (Нидерланды) и потенциометром Н3030/4 (отечественное производство). В период адаптации сердца диастолическое давление в левом желудочке устанавливали на уровне 12–15 мм.рт.ст. Полученные результаты обрабатывали методом вариационной статистики с применением критерия t Стьюдента. В работе обсуждаются только достоверные изменения ($P < 0,005$).

Результаты и их обсуждение

Проведенные эксперименты показали, что перфузия сердца бескальциевой средой, содержащей 0,5 ммоль ЭДТА, сопровождалась остановкой сердеч-

ной деятельности в период диастолы. Последующее восстановление прежней концентрации Ca^{2+} приводило к быстрому (до 30 с) увеличению диастолического давления без развития сокращений миокарда и формирования характерной для «кальциевого парадокса» контрактуры миокарда (таблица; рисунок, а).

Т а б л и ц а 1. Влияние высокой внеклеточной концентрации натрия, макроэргических соединений и их предшественников на параметры контрактуры миокарда при «кальциевом парадоксе» ($M \pm m$)

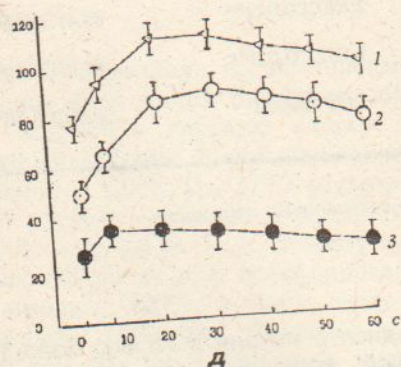
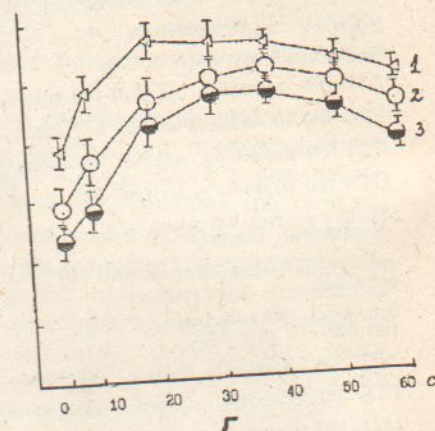
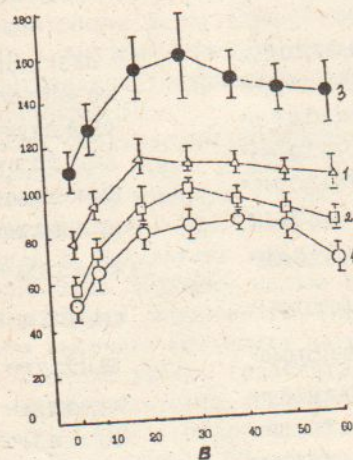
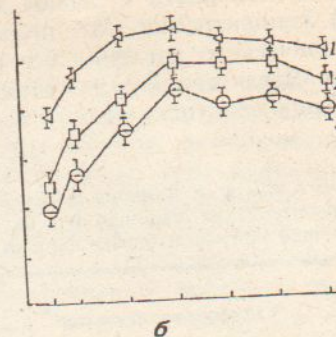
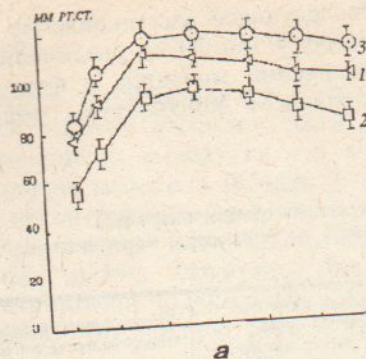
Перфузионный раствор	Скорость развития контрактуры (максимальные значения), мм рт. ст. / с	Диастолическое давление (максимальные значения), мм рт. ст.
Исходный Са-содержащий раствор (контроль)	$4,018 \pm 0,059$	$112,09 \pm 1,76$
Бескальциевый раствор, содержащий:		
сахарозу 120 ммоль/л	$4,150 \pm 0,067$	$118,51 \pm 2,11$
натрий 200 ммоль/л	$3,507 \pm 0,039^*$	$100,30 \pm 2,07^{**}$
АТФ 100 мкмоль/л, натрий 140 ммоль/л	$3,268 \pm 0,040^*$	$93,80 \pm 0,98^{**}$
УТФ 100 мкмоль/л, натрий 140 ммоль/л	$3,580 \pm 0,049^*$	$102,51 \pm 2,21^{**}$
ГТФ 100 мкмоль/л, натрий 140 ммоль/л	$3,660 \pm 0,042^*$	$104,42 \pm 0,80^{**}$
ЦТФ 100 мкмоль/л, натрий 140 ммоль/л	$3,641 \pm 0,051^*$	$103,81 \pm 0,78^{**}$
фосфокреатин 100 мкмоль/л, натрий 140 ммоль/л	$5,933 \pm 0,098^*$	$159,11 \pm 3,88^{**}$
рибозу 100 мкмоль/л, натрий 140 ммоль/л	$3,460 \pm 0,044^*$	$104,33 \pm 1,12^{**}$
аденозин 100 мкмоль/л, натрий 140 ммоль/л	$3,020 \pm 0,040^*$	$88,11 \pm 1,27^{**}$
АТФ 100 мкмоль/л, натрий 200 ммоль/л	$3,158 \pm 0,033^{**}$	$94,33 \pm 0,88^{**}$
ГТФ 100 мкмоль/л, натрий 200 ммоль/л	$3,178 \pm 0,019^{**}$	$95,83 \pm 0,54^{**}$
ЦТФ 100 мкмоль/л, натрий 200 ммоль/л	$3,044 \pm 0,036^{**}$	$91,72 \pm 0,81^{**}$
УТФ 100 мкмоль/л, натрий 200 ммоль/л	$3,071 \pm 0,031^{**}$	$92,29 \pm 1,10^{**}$
фосфокреатин 100 мкмоль/л, натрий 200 ммоль/л	$2,880 \pm 0,049^{**}$	$84,41 \pm 1,43^{**}$
рибозу 100 мкмоль/л, натрий 200 ммоль/л	$2,962 \pm 0,041^{**}$	$88,19 \pm 1,21^{**}$
аденозин 100 мкмоль/л, натрий 200 ммоль/л	$1,159 \pm 0,022^{**}$	$38,99 \pm 0,56^{**}$

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ — достоверность различий по сравнению с контролем.

Увеличение трансмембранного градиента натрия в период бескальциевой перфузии (давлением внеклеточной концентрации натрия до 200 ммоль/л) сопровождалось уменьшением скорости развития контрактуры миокарда. Макроэргические соединения (АТФ, ГТФ, ЦТФ или УТФ) в концентрации 100 мкмоль/л также уменьшали скорость развития контрактуры миокарда и максимальное значение диастолического давления. Нуклеотиды усиливали положительное действие гипернатриевой среды при «кальциевом парадоксе» (см. таблицу; для АТФ — рисунок, б).

Другое макроэргическое соединение — фосфокреатин — не только не уменьшало, но даже увеличивало скорость развития и максимальное значение диастолического давления (см. таблицу, рисунок в).

В условиях высокого трансмембранного градиента натрия фосфокреатин эффективно уменьшил скорость развития контрактуры миокарда при «кальциевом парадоксе».



Динамика давления крови (мм рт.ст.) в левом желудочке сердца, изолированного и предварительно адаптированного к перфузии оксигенированной кальцической средой, в зависимости от продолжительности (с) его пребывания в оксигенированном перфузионном растворе (1) или разных реперфузионных растворах после 10-минутной перфузии бескальциевой средой: а — внеклеточный натрий (до 200 ммоль/л, 2), сахараза (120 ммоль/л, 3); б — АТБ (2), АТБ в сочетании с внеклеточным натрием (200 ммоль/л, 3); в — внеклеточный натрий (200 ммоль/л, 2), фосфокреатин (3), фосфокреатин в сочетании с внеклеточным натрием (200 ммоль/л, 4); г — рибоза (100 мкмоль/л, 2), рибоза в сочетании с внеклеточным натрием (200 ммоль/л, 3); д — аденозин (ммоль/л, 2), аденозин в сочетании с внеклеточным натрием (200 ммоль/л, 3)

Развитие контрактуры миокарда при «кальциевом парадоксе» тесно связано со значительным поступлением Ca^{2+} в клетки, накоплением его в митохондриях, приводящим к разобщению окисления и фосфорилирования, снижению количества АТФ в кардиомиоцитах [10, 11, 14]. Высокая внеклеточная концентрация натрия ослабляет развитие контрактуры миокарда, вероятно, вследствие усиления конкуренции между Na^+ и Ca^{2+} на внешней стороне Na—Ca-обменника и активированием Na, K-АТФазы [2, 15, 16].

Макроэргические соединения — АТФ, ГТФ, УТФ или ЦТФ — усиливали защитное действие гипернатрисвой среды активированием Na, K-АТФазы сарколеммы [2].

Известно, что экзогенные нуклеотиды гидролизуются на сарколемме с помощью эктоферментов [12], поэтому продукты распада могли бы оказывать не меньший эффект на сердце, чем нуклеотиды. Установлено, что добавление к бескальциевой среде аденозина или рибозы (100 ммоль/л) ослабляло развитие контрактуры миокарда при «кальциевом парадоксе». Положительное действие этих соединений также усиливалось в условиях высокого трансмембранного градиента натрия (см. таблицу, рисунок, 2).

Можно предположить, что защитное действие высокого градиента натрия в наших экспериментах связано с повышением осмотического давления внесклеточной среды. Показано, что повышение осмотического давления бескальциевой среды добавлением сахарозы (120 ммоль/л) не привело к ослаблению контрактуры миокарда при реперфузии сердца Са-содержащим раствором. В данной серии опытов наблюдалось даже возрастание скорости развития и максимального значения контрактуры миокарда (см. рисунок, 2). Таким образом, механизм ослабления контрактуры миокарда при «кальциевом парадоксе» высокой внесклеточной концентрацией натрия не связан с увеличением осмотического давления раствора. Эти результаты хорошо согласуются с развиваемой Чарпан и соавт. [7—9] гипотезой о тесной связи нарушений при «кальциевом парадоксе» со снижением градиента натрия после удаления ионов кальция из внесклеточной среды [18].

Фосфокреатин (100 мкмоль/л), в отличие от нуклеотидов, увеличивал скорость развития контрактуры миокарда, возможно, вследствие способности проникать через измененную бескальциевую среду сарколемму [5]. В ходе креатинкиназной реакции фосфокреатин мог превращаться в АТФ и тем самым стимулировать Са-аккумулирующую способность митохондрий, что приводило к разобщению окисления и фосфорилирования, повреждению кардиомиоцитов. Эти результаты совпадают с данными, полученными при исследовании влияния более значительных концентраций фосфокреатина — 10 ммоль/л [1,3].

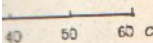
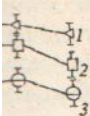
В условиях искусственно высокого трансмембранного градиента натрия фосфокреатин эффективно ослаблял развитие контрактуры миокарда при «кальциевом парадоксе». Возможно, что в этих условиях фосфокреатин мог максимально реализовать свое защитное действие на миокард. Высокая внесклеточная концентрация натрия могла препятствовать несоразмерному повреждению кардиомиоцитов при «кальциевом парадоксе», создавая благоприятные условия для осуществления фосфокреатином защитного действия.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о возможности предупреждения развития контрактуры миокарда при «кальциевом парадоксе» воздействием на Na—Са-обменную систему. Одним из таких способов является искусственное повышение градиента натрия, защитное действие которого существенно усиливалось при наличии экзогенных макроэргических соединений и их предшественников — активаторов Na, K-АТФазы.

V.V. Alabovskiy, A.A. Vinokurov

PREVENTION OF THE MYOCARDIUM CONTRACTURE DEVELOPMENT DURING «CALCIUM PARADOX» BY MEANS OF EFFECT ON THE NA—CA EXCHANGE

The effect of artificial high sodium gradient on the rate of the myocardium contracture development during «calcium paradox» was studied in the experiments on the isolated heart of Langerdorf-perfused rats. It is stated that artificial creation of a high sodium gradient decreases



м. рт.ст.) в ле-
дированного и
го к перфузии
средой, в зави-
и (с) его пребы-
фузионном рас-
зюнных раство-
й перфузии
склеточный на-
сахароза (120
ТБ в сочетании
0 ммоль/л, 3);
200 ммоль/л, 2),
тин в сочетании
ммоль/л, 4); 2—
за в сочетании с
ммоль/л, 3); 2—
ин в сочетании с
ммоль/л, 3)

парадокс» тесно
плением его в
орилирования,
асокая внескле-
уры миокарда,
a²⁺ на внешней
азы [2, 15, 16].

the rate of the myocardium contracture development. Exogenous nucleotides, activators of Na, K-ATPase, and their precursors intensified the protective action of the hypersodium medium. Phosphocreatine (100 mmol/l) had no protective effect during the «calcium paradox». However, under conditions of the high sodium gradient phosphocreatine efficiently prevented development of the contracture during the «calcium paradox». It is important to note that under analogous conditions creation of high osmosity of the solution adding 12 mmol/l of saccharose does not protect the heart from development of the myocardium contracture.

N.N. Burdenko Medical Institute,
Ministry of Public Health of Russian Federation, Voronezh.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Джавадов С.А., Преображенский А.И., Лакомкин В.Л. и др. Некоторые аспекты механизма защитного действия экзогенного фосфокреатина на ишемический миокард // Вестн. АМН СССР. 1986. №12. С. 58-67.
2. Кужман М.И., Алабовский В.В., Олейников О.Д. Предупреждение фибрилляции желудочков путем активирования Na, K-ATPase в эксперименте // Вест. АМН СССР. 1984. №8. С. 35-41.
3. Лакомкин В.Л., Джавадов С.А., Сакс В.А., Капелько В.И. Действие экзогенного фосфокреатина на перфузируемое сердце в условиях Ca-парадокса. Обмен Ca в физиологии и патологии сердечнососудистой системы: Томск, 1988. С. 131-132.
4. Alto L.E., Dhalla N.S. Myocardial cations content during induction of calcium paradox // Amer. J. Physiol. 1979. 237. P. 11713-11719.
5. Ashrat M. Correlative studies on sarcolemmal ultrastructure, permeability and loss of intracellular enzymes in the isolated heart perfused with calcium-free medium // Amer. J. Pathol. 1979. 97. P. 411-432.
6. Baker J.E., Hearse D.J. Slow calcium channel blockers and the calcium paradox: comparative studies with seven drugs // J. Mol. Cell. Cardiol. 1983. 13. P. 473.
7. Chapman R.A., Rodrigo G.S., Tunstall J. Intracellular sodium and the calcium paradox // Amer. J. Physiol. 1984. 247. P. 11874-11879.
8. Chapman R.A., Fozzard H.A., Friedlander I.R. et al. Effect of Ca/Mg removal on a (Na), a (K) and tension in cardiac Purkinje fibres // Amer. J. Physiol. 1986. 251. P. C920-C927.
9. Chapman R.A., Tunstall J. The Calcium paradox in the heart // Progr. Biophys. Mol. Biol. 50. P. 67-96.
10. Dhalla N.S., Singh J.N., McNamara D. Energy production and utilization in contractile failure due to intracellular calcium overload // Myocardial injury. Proc. 4-th annual meet. amer. soc. intern. soc. heart. research. 1983. P. 305-316.
11. Ganote C.E., Nayler W.G. Contracture and the calcium paradox // J. Mol. and Cell. Cardiol. 1985. 17. P. 733-745.
12. Gordon J.L. Extracellular ATP: effects, sources and fates // Biochem. J. 1986. 233. P. 309-319.
13. Goshima K., Wakabayashi S., Masuda A. Ionic mechanisms of morphological changes of cultured myocardial cells on successive incubation in media without and with Ca // J. Mol. and Cell. Cardiol. 1980. 12. P. 1135.
14. Grinwald P.M., Nayler W.G. Calcium entry in calcium paradox // Ibid. 1981. 12. P. 811-817.
15. Muir Y., Kimura J. Na—Ca Exchange current. Dependence of internal Ca and Na. Competitive binding of external Na and Ca // J. Gen. Physiol. 1989. 93. №6. P. 1129-1147.
16. Nakanishi T., Jarmakani J. Effects of external sodium on mechanical function in the newborn rabbits // Develop. Pharmacol. and Therap. 1981. 2. P. 188-200.
17. Nayler W.G. The role of the calcium in the ischemic myocardium // Amer. J. Physiol. 1981. 102. P. 262-270.
18. Tunstall J., Busselen P., Rodrigo G.S. et al. Pathways for the movements of ions during calcium-free perfusion and induction of calcium paradox // J. Mol. and Cell. Cardiol. 1986. 18. P. 241-254.
19. Zimmerman A.N.E., Hulsman W.S. Paradoxical influence of calcium ions on permeability of the cell membranes of the isolated rat heart // Nature. 1966. 211. P. 646-647.

Воронежский мед. ин-т им. И.И. урденко
М-ва здравоохранения Российской Федерации

Материал поступил
в редакцию 21.11.91