

Снижение чувствительности сердца после ишемии к изменению внеклеточной концентрации ионов кальция

Реперфузия сердца після 30-хвилинної ішемії розчином, який містить 2 ммоль/л Ca^{2+} , призводить до незвичайного відновлення скоротливої функції і концентрації макроергічних сполук у тканині. Відновлення кровотоку після ішемії гіперкальцієвим (0,05 ммоль/л) середовищем супроводжується швидким підвищенням внутрішнього вмісту АТФ та фосфокреатину. Однак подальша перфузія серця середовищем, яке містить Ca^{2+} у фізіологічній концентрації, призводить до підвищення діастолічного тиску в лівому шлуночку, виходу міоглобіну у відтікаючий розчин. Одночасно спостерігалось суттєве зниження тканинного вмісту макроергічних сполук. Підвищення зовнішньоклітинної концентрації Ca^{2+} після перфузії ішемізованого серця гіперкальцієвим (0,05 ммоль/л) середовищем, який вміщує 200 ммоль/л хлориду натрію та макроергічні сполуки (або аденозин), не супроводжується пошкодженням кардіоміоцитів.

Введение

Проблема защиты сердца от реперфузионных повреждений еще далека от окончательного решения. В настоящее время предложено несколько методов, с помощью которых пытаются ограничить поступление Ca^{2+} в кардиомиоциты во время восстановления кровотока в сердце после ишемии. В частности, для этого используют β -адреноблокаторы, антагонисты кальция, гипотермию и пр. Предпринимаются попытки ослабить неконтролируемый вход Ca^{2+} в кардиомиоциты уменьшением концентрации Ca^{2+} во внеклеточной среде до 0,05 ммоль/л [7-10, 12]. Последний способ, на наш взгляд, заслуживает особого внимания вследствие возможности влиять на поток Ca^{2+} в короткий промежуток времени. Тем не менее, эффективность данного метода предупреждения реперфузионных осложнений достигается не во всех случаях. Так, исследователи отмечают, что снижение концентрации Ca^{2+} и последующая реперфузия раствором, содержащим физиологическую концентрацию Ca^{2+} , не только не ослабляет, но и усиливает повреждающее действие реперфузии [7, 9]. Причины таких осложнений до сих пор не установлены. В связи с этим целью нашего исследования было изучение состояния сердечной мышцы при реперфузии растворами, содержащими низкую концентрацию Ca^{2+} , а также разработка способов предупреждения нежелательных последствий, вызванных снижением концентрации Ca^{2+} во внеклеточной среде.

Методика

Опыты проводили на изолированном сердце крысы, перфузированном по методу Лангендорфа. Под эфирным наркозом вскрывали грудную клетку крысы, и в аорту со скоростью 10 мл/мин из расчета на 1 г подавали оксигенированный раствор (37°C). В состав исходного раствора входили (ммоль/л): NaCl —140; NaHCO_3 —2; KCl —3; NaH_2PO_4 —1; глюкоза—11; трис—ОН—2; CaCl_2 —2.

После 15 мин адаптации перфузию сердца полностью прекращали, создавая тотальную ишемию. В первой серии экспериментов реперфузию в течение 20 мин осуществляли исходным раствором (Ca^{2+} — 2 ммоль/л). Во

© В. В. АЛАБОВСКИЙ, А. А. ВИНОКУРОВ, 1992

второй серии реперфузию сердца в течение 10 мин проводили гипокальциевой средой (Ca^{2+} — 0,05 ммоль/л), а затем — исходным раствором. В остальных сериях состав раствора изменяли только во время реперфузии гипокальциевой средой, после чего следовала перфузия раствором с физиологической концентрацией кальция.

В конце экспериментов каждое сердце замораживали в жидком азоте и с помощью трихлоруксусной кислоты (6%) приготавливали тканевые экстракты. После нейтрализации КОН (при 0–4°C) до pH 7,45 определяли концентрацию АТФ и фосфокреатина по стандартным методикам [4,6].

Концентрацию миоглобина измеряли спектрофотометрически [1]. Давление в полости левого желудочка определяли с помощью электроманометра фирмы «Bentley lab. Europe» (Нидерланды), соединенного с самопишущим потенциометром Н30330-4. Полученные результаты обрабатывали статистически с применением критерия t Стьюдента. В работе обсуждаются только достоверные изменения ($P < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

Показано, что реперфузия сердца после 30 мин ишемии раствором, содержащим 2 ммоль/л Ca^{2+} , сопровождается незначительным восстановлением сократительной активности и концентрации макроэргических соединений по сравнению с исходным состоянием. Одновременно отмечается повышение диастолического давления в левом желудочке. Во второй серии экспериментов реперфузия сердца после 30 мин ишемии гиперкальциевой средой сопровождалась лучшим, чем в первой серии, восстановлением метаболизма миокарда (табл.1).

Т а б л и ц а 1. Внутриклеточное содержание (мкмоль/г) АТФ и фосфокреатина (ФК) в изолированном, тотально ишемизированном сердце крысы после его реперфузии различными по количественному и качественному составу растворами ($M \pm m$)

Реперфузионный раствор	АТФ	ФК
Гипокальциевый (0,05 ммоль/л) раствор без каких-либо добавок (контроль)	1520 $\pm$ 0,83	16,60 $\pm$ 1,10
С такими добавками:	16,30 $\pm$ 0,56	24,80 $\pm$ 0,90*
200 ммоль/л Na^+	16,60 $\pm$ 0,81	26,60 $\pm$ 2,20*
200 ммоль/л Na^+ и 100 мкмоль/л БК	18,44 $\pm$ 1,20	17,80 $\pm$ 1,40*
200 ммоль/л Na^+ и 100 мкмоль/л АТФ	21,80 $\pm$ 1,20*	20,80 $\pm$ 1,90*
200 ммоль/л Na^+ и 100 мкмоль/л аденозина	16,60 $\pm$ 0,92	17,60 $\pm$ 1,20
200 ммоль/л сахарозы		
Гипокальциевый раствор без каких-либо добавок (контроль)	6,22 $\pm$ 0,63	3,75 $\pm$ 0,40
С такими добавками:	8,44 $\pm$ 0,11	4,33 $\pm$ 0,18
2 ммоль/л Ca^{2+}	14,60 $\pm$ 0,92*	18,80 $\pm$ 1,90*
2 ммоль/л Ca^{2+} и 200 ммоль/л Na^+	16,40 $\pm$ 0,99*	19,12 $\pm$ 2,30*
2 ммоль/л Ca^{2+} , 200 ммоль/л Na^+ и 100 мкмоль/л БК	18,90 $\pm$ 0,98*	18,67 $\pm$ 2,40*
2 ммоль/л Ca^{2+} , 200 ммоль/л Na^+ и 100 мкмоль/л АТФ	18,44 $\pm$ 1,40*	23,44 $\pm$ 2,90*
2 ммоль/л Ca^{2+} , 200 ммоль/л Na^+ , и 100 мкмоль/л аденозина	4,45 $\pm$ 0,88*	1,22 $\pm$ 0,70*
120 ммоль/л сахарозы и 2 ммоль/л Ca^{2+}		

* $P < 0,05$ по сравнению с контролем.

и гипокальци-
ством. В ос-
перфузии ги-
ором с физио-

жидком азоте
вали тканевые
45 определяли
икам [4,6]. Дав-
чески [1]. Дав-
электромано-
ного с самопи-
обработывали
те обсуждают-

твором, содержа-
ановлением со-
соединений по-
тса повышение
серии экспери-
ментами средой
ним метаболиз-

фокреатина
его реперфузии
(M±m)

	ФК
--	----

0,83	16,60±1,10
0,56	24,80±0,90*
0,81	26,60±2,20*
1,20	17,80±1,40*
1,20*	20,80±1,90*
0,92	17,60±1,20
0,63	3,75±0,40
0,11	4,33±0,18
0,92*	18,80±1,90*
0,99*	19,12±2,30*
0,98*	18,67±2,40*
1,40*	23,44±2,90*
0,88*	1,22±0,70*

Последующая перфузия раствором, содержащим физиологическую концентрацию Ca^{2+} , приводит к существенному высвобождению в перфузат миоглобина, снижению содержания АТФ и фосфокреатина в миокарде (см.табл.1 и табл.2). Отмечалось также значительное повышение диастолического давления без восстановления сокращений (см.табл.2).

Т а б л и ц а 2. Содержание миоглобина в перфузате, диастолическое давление, ударный объем изолированного, тотально ишемизированного сердца крыс после его реперфузии различными по количественному и качественному составу растворами (M±m)

Реперфузионная среда	Концентрация миоглобина (максимальные значения), мкмоль/г	Диастолическое давление (максимальные значения), мм рт. ст.	Относительный ударный объем, % исходного
Биологический по содержанию Ca^{2+} (2 ммоль/л) раствор	2,05±0,22	110,85±15,50	25,50±5,20
Биологический по содержанию Ca^{2+} раствор (10 мин) и гипокальциевый (0,05 ммоль/л) раствор (10 мин)	2,80±0,11*	85,67±5,70	0
сез каких-либо добавок (контроль)			
С такими добавками:			
200 ммоль/л Na^+	0,46±0,03*	49,34±4,40*	33,30±4,90**
200 ммоль/л Na^+ и 100 мкмоль/л АТФ	0,156±0,01**	40,12±3,3*	38,80±5,88**
200 ммоль/л Na^+ и 100 мкмоль/л фосфокреатина	0,167±0,007**	38,33±3,2*	48,67±5,11**
200 ммоль/л Na^+ и 100 мкмоль/л аденозина	0,09±0,011**	35,40±3,8*	44,12±4,90**
120 ммоль/л сахарозы	3,12±0,09*	92,88±6,40	0

* $P<0,05$; ** $P<0,01$ по сравнению с контролем.

Таким образом, несмотря на улучшение состояния сердечной мышцы во время реперфузии гипокальциевой средой, последующая перфузия миокарда раствором, содержащим физиологическую концентрацию Ca^{2+} , вызывает повреждение кардиомиоцитов.

Предполагают, что реперфузия восстановлением прежней концентрации Ca^{2+} связана с развитием так называемого «кальциевого парадокса» [9]. Известно, что в интактном сердце, в отличие от ишемизированного, даже продолжительная перфузия раствором, содержащим 50 мкмоль Ca^{2+} , а затем средой, содержащей физиологическую концентрацию Ca^{2+} , не приводит к повреждению кардиомиоцитов. Считают, что такое повышение чувствительности сердца после ишемии связано с измененной способностью поддерживать градиент натрия. В проводимых в дальнейшем экспериментах мы поддерживали концентрацию натрия в гипокальциевой среде на уровне 200 ммоль/л, создавая тем самым высокий градиент натрия.

Полученные результаты показали, что повышение внескелеточной концентрации ионов натрия до 200 ммоль/л при реперфузии сердца гипокальциевой средой с последующей перфузией исходным раствором сопровождалось лучшим, чем в контроле, сохранением содержания АТФ и фосфокреатина. Отмечено, что в данной серии экспериментов концентрация миоглобина в перфузате и повышение диастолического давления были существенно меньше, чем во второй серии.

Ранее было показано, что в условиях «кальциевого парадокса» защитное действие гипернатриевой среды возрастает при наличии экзогенных макроэргических соединений и их предшественников [1]. Как показали результаты проведенных нами экспериментов, совместное использование высокой концентрации натрия (200 ммоль/л) и фосфокреатина (100 ммоль/л) более чем на 95% уменьшало выход миоглобина в перфузат при перфузии раствором, содержащим физиологическую концентрацию Ca^{2+} , после реперфузии ишемизированного сердца гипокальциевой средой. Аналогичные результаты были получены при совместном применении АТФ или аденозина и гипернатриевой среды. Важно отметить, что в данных сериях экспериментов реперфузия сердца после ишемии сопровождалась более быстрым, чем в контроле, восстановлением тканевого содержания АТФ и фосфокреатина (см. табл. 1).

Известно, что перфузия сердца гипокальциевой средой (Ca^{2+} — 50 ммоль/л) с последующим восстановлением физиологической концентрации Ca^{2+} не приводит к повреждению кардиомиоцитов [3,5,9]. Однако реперфузия ишемизированного сердца гипокальциевой средой, а затем — раствором, содержащим физиологическую концентрацию Ca^{2+} , приводит к развитию «кальциевого парадокса». Такое повышение чувствительности постишемического сердца связывают с измененной способностью сарколеммы поддерживать градиент натрия.

Повышение градиента натрия увеличением его внесклеточной концентрации до 200 ммоль/л во время реперфузии сердца гипокальциевой средой улучшало восстановление миокарда после ишемии. Полученный результат, вероятно, не связан с повышением осмотичности раствора. Так, добавление к гипокальциевой среде 120 ммоль/л сахарозы не только не ослабляло, но и усиливало развитие повреждений в постишемическом сердце при восстановлении прежней концентрации Ca^{2+} (см. табл. 1,2). Предполагается, что защитное действие высокой внесклеточной концентрации натрия связано с усилением конкуренции между натрием и кальцием на внешней стороне Na—Ca-обменника и активированием Na, K-АТФазы [2,11]. Экзогенные макроэргические соединения и их предшественники обладают способностью стимулировать Na, K-АТФазу, что позволяет поддерживать градиент натрия на высоком уровне, ослабляя поступление Ca^{2+} посредством Na—Ca-обмена.

Таким образом, результаты проведенных нами экспериментов показали высокую чувствительность ишемизированного сердца к изменению внесклеточной концентрации Ca^{2+} . Установлено, что реперфузия ишемического сердца гипокальциевой средой, а затем — раствором, содержащим физиологическую концентрацию Ca^{2+} , в отличие от интактного сердца, вызывает развитие повреждений, аналогичных «кальциевому парадоксу». Повышение градиента натрия и добавление макроэргических соединений улучшают метаболизм миокарда при реперфузии ишемического сердца гипокальциевой средой. Кроме того, данный способ позволяет защитить миокард во время замены гипокальциевой среды на раствор, содержащий физиологическую концентрацию кальция. Этот методический прием может быть полезен в тех случаях, когда возникает необходимость изменения концентрации Ca^{2+} при реперфузии сердца после ишемии.

V.V. Alabovsky, A.A. Vinokurov

DECREASE OF POSTISCHEMIC HEART SUSCEPTIBILITY TO CHANGES IN CONCENTRATION OF EXTRACELLULAR CALCIUM

Reperfusion of the heart 30 min. after ischemia causes slight recovery of contractility and content of macroergic compounds in the myocardium tissue. Recovery of perfusion by the hypercalcium medium (0,05 mol/l) improves metabolism of the myocardium 30 min after ischemia. However, further perfusion by solution with physiological content of Ca^{2+} is followed by the development

парадокса» за-
личии экзосен-
[1]. Как показало
использова-
окреатина (100
в перфузат при
ентрацию Ca^{2+} ,
й средой. Ана-
именении АТФ
го в данных се-
овоуждалась бо-
держания АТФ
дой (Ca^{2+} — 50
и концентрации
днако реперфу-
атом — раство-
иводит к разви-
ельности пости-
ью сарколеммы
точной концен-
кальциевой сре-
Полученный ре-
раствора. Так,
ы не только не
емическом сер-
абл.1,2). Предпо-
нцентрации на-
и кальцием на
К-АТФазы [2,11].
ники обладают
ет поддерживать
е Ca^{2+} посредст-

иментов показа-
изменению вне-
ия ишемического
ержащим физио-
сердца, вызывает
ксу». Повышение
ений улучшают
ца гипокальцие-
гить миокард во
аций физиологи-
может быть по-
нения concentra-

ontractility and content
by the hypercalcium
er ischemia. However,
ed by the development

урн. 1992. Т. 38, № 4

of the myocardium contracture, essential decrease in extracellular concentration of ATP and phosphocreatine. An increase in the extracellular sodium concentration and addition of macroergic compounds (ATP, phosphocreatine) adenosine, when reperfusing the heart by hypocalcium solution, improve the postischemic state of the myocardium and protect it from injuries during the following recovery of physiological Ca^{2+} content in the extracellular medium.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алабовский В.В., Винокуров А.А., Кобрин В.И., Олейников О.Д. Предупреждение искусственным увеличением трансмембранного градиента натрия реперфузионных повреждений сердца при «кальциевом парадоксе» и постишемической реперфузии // Бизиол. журн. -1991. -37, 3.-С.25-30.
2. Кужман М.И., Алабовский В.В., Олейников О.Д. Предупреждение фибрилляции желудочков путем активирования Na,K-ATPase в эксперименте // Вестн. АМН СССР. -1984. -8.-С.35-41.
3. Alto L.E., Dhalla N.S. Myocardial cations content during induction of calcium paradox // Amer. J. Physiol. -1979. -237.-P.11713-11719.
4. Bergmeyer H.O. Methods in enzymological analysis. -London, 1963. -P.534.
5. Chapman R.A., Tunstall J. The Calcium paradox in the heart // Progr. Biophys. Mol. Biol. -1987. -50.-P.67-96.
6. Eggleston P., Elsdon S.R., Gough N. Estimation of creatine, and diacetyl // Biochem. J. -1943. -37.-P.526-529.
7. Ferrari R., Albertini A., Curello S. et al. Myocardial recovery during postischemic reperfusion: effect of nifedipine, calcium and magnesium // J. Mol. Cell. Cardiol. -1986. -18.-P.487-498.
8. Follete D.M., Fey K., Buckberg G.D. et al. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. -1981. -82.-P.221-238.
9. Kirkels J.H., Ruigrok T.J.C., Van Echeld C.J.A. et al. Low calcium reperfusion and enhanced susceptibility of postischemic heart to the calcium paradox // Circ. Res. -1989. -64.-P.1158-1164.
10. Nayler W.G. The role of the calcium in the ischemic myocardium // Amer. J. Physiol. -1981. -102.-P.262-270.
11. Mijra Y., Kimura J. Na-Ca exchange current. Dependence of internal Ca^{2+} and Na^{+} . Competitive binding of external Na and Ca // J. Gen. Physiol. -1989. -93, №6.-P.1129-1147.
12. Pool-Wilson P.A., Harding D.H., Bourdillon P.D.V. et al. Calcium out control // J. Mol. and Cell. Cardiol. -1984. -16, №1.-P.175-187.

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

Материал поступил
в редакцию 21.11.91.

УДК 612.172

С. Б. Дудка, С. Г. Казьмин

Топологічні особливості реактивності міокарда щурів на норадреналін, ацетилхолін та зміну частоти електростимуляції

В опытах на препаратах миокарда правого и левого предсердий, а также на-
пиллярных мышц желудочка сердца крыс получены зависящие от дозы эф-
фекты норадреналина (10^{-7} — $3 \cdot 10^{-6}$ моль/л), ацетилхолина (10^{-8} — $3 \cdot 10^{-6}$
моль/л) и увеличения частоты стимуляции (от 0,2 до 2,0 Гц). Наблюдались
три типа топологических различий реактивности миокарда крыс: между
предсердиями и желудочками, между правыми и левыми отделами сердца и
между правым предсердием и другими камерами сердца. Предсердно-желудоч-
ковые различия наиболее отчетливо проявлялись в реакциях на ацетилхолин
(предсердия более реактивны). Межпредсердные и межжелудочковые различия
наиболее выражены в реакциях на норадреналин (более реактивен миокард
правых отделов сердца). Выраженность реакций препаратов правого предсер-
дия на все три тестовых воздействия значительно превышает таковую ре-
акций миокарда других отделов сердца. Характер топологических различий
хроноинотропии позволяет предположить, что инотропные эффекты изме-
нения частоты сокращений сердца у крыс могут компенсировать в некото-
рой мере региональную неоднородность прямых инотропных холин- и адре-
нергических регуляторных эффектов.

© С. Б. ДУДКА, С. Г. КАЗЬМИН, 1992

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