

ББК 52.5

Ф50

УДК 612.17+616.12-092

Издание рекомендовано для перевода

проф. Ю. Н. БЕЛЕНКОВЫМ — директором ВКНЦ АМН СССР

Физиология и патофизиология сердца: Пер. с англ./Под
Ф50 ред. Н. Сперелакиса: В 2-х т. Т. 2. — М.: Медицина, 1988,
624 с.: ил. — ISBN 5—225—0026—9

Во втором томе монографии рассмотрены вопросы коронарной циркуляции, в частности физиологии, биофизики и биохимии коронарных сосудов, патогенез гипертензии, свойства гладкомышечных клеток сосудов и др. Описаны метаболизм и энергетика мышц сосудов, вопросы контроля за коронарной циркуляцией. Показано влияние фармакологических (кардиоактивных) препаратов на сосудистую систему.

Для кардиологов, физиологов и патофизиологов.

Ф $\frac{410600000-334}{039(01)-88}$ 88—88

ББК 52.5

© by Martinus Nijhoff Publishing, Boston, 1984
© Перевод на русский язык. Издательство
«Медицина», Москва, 1988

ISBN 5—225—0026—9

ОГЛАВЛЕНИЕ

Глава 21. Обмен веществ и энергии в миокарде <i>Л. Х. Опи (L. H. Opie)</i>	7
Глава 22. Нейрогуморальная регуляция работы сердца <i>М. Н. Леви, П. Ю. Мартин (M. N. Levy, P. Y. Martin)</i>	64
Глава 23. Развитие постсинаптических рецепторов вегетативной нервной системы в сердце и их роль в регуляции работы сердца в ходе эмбрионального развития и в период половозрелости <i>А. Дж. Паппано (A. J. Pappano)</i>	91
Глава 24. Механизмы адренергической и холинергической регуляции сократимости миокарда <i>А. М. Ватанабе, Дж. П. Линдемманн (A. M. Watanabe, J. P. Lindemann)</i>	124
Глава 25. Гипертрофия миокарда и изменение электрической активности кардиомиоцитов <i>Р. Е. Тен Эйк, А. Л. Бассетт (R. E. Ten Eick, A. L. Bassett)</i>	168
Глава 26. Изменение электрических свойств мембраны миокардиальных клеток в процессе эмбриогенеза <i>Н. Сперелакис (N. Sperelakis)</i>	203
Глава 27. Старение сердца <i>Э. Дж. Лакатта (E. J. Lakatta)</i>	249
Глава 28. Влияние гормонов на работу сердца <i>Е. Моркин (E. Morikin)</i>	274
Глава 29. Кардиоплегия <i>Х. Ю. Бретшнейдер, М. М. Гебхард, К. Ю. Прюссе (H. J. Bretschneider, M. M. Gebhard, C. J. Preusse)</i>	291
Глава 30. Влияние ингаляционных наркотизирующих веществ на сердце <i>М. Г. Прапила, В. Прапилац (M. G. Pratila, V. Pratilas)</i>	307

Глава 31. Влияние токсических веществ на миокард	
<i>В. Дж. Ферранс (V. J. Ferrans)</i>	337
Глава 32. Гладкомышечные и другие периэндотелиальные клетки сосудов сердца млекопитающих	
<i>М. С. Форбс (M. S. Forbes)</i>	365
Глава 33. Патогенез атеросклероза коронарных сосудов	
<i>С. Д. Герц, А. Курган (S. D. Gertz, A. Kurgan)</i>	398
Глава 34. Электрофизиология гладких мышц сосудов	
<i>Н. Сперелакис (N. Sperelakis)</i>	428
Глава 35. Электромеханическое и фармакомеханическое сопряжение в гладкой мышце сосудов	
<i>Г. Дроогманс, Р. Гастелс (G. Droogmans, R. Gasteels)</i>	471
Глава 36. Изменения свойств мембраны гладкомышечных клеток сосудов при гипертензии	
<i>К. Хермсмейер (K. Hermsmeyer)</i>	488
Глава 37. Механические свойства, сократительные белки и регуляция сокращения гладких мышц сосудов	
<i>С. П. Дриска (S. P. Driska)</i>	500
Глава 38. Метаболизм и энергетика гладкой мышцы сосудов	
<i>Дж. В. Петерсон (J. W. Peterson)</i>	537
Глава 39. Регуляция коронарного кровообращения	
<i>Х. В. Спаркс, Р. Д. Уонглер, Д. Ф. ДеВитт (H. V. Sparks, R. D. Wangler, D. F. DeWitt)</i>	561
Глава 40. Спазм коронарных артерий	
<i>Ф. Д. Генри (Ph. D. Henry)</i>	593
Предметный указатель	618

Глава 21

ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ В МИОКАРДЕ

Л. Х. ОПИ (L. H. OPIE)

ВВЕДЕНИЕ

Цель энергетического метаболизма в миокарде состоит в обеспечении адекватного поступления макроэргических фосфатных соединений для восполнения непрерывного расхода АТФ во время сердечных сокращений, в процессе обмена ионов и в меньшей степени в ходе других энергозависимых процессов. Так как скорость обмена АТФ в миокарде очень высока, необходима соответствующая высокая скорость синтеза АТФ в митохондриях. Внутри митохондрий в ходе цикла лимонной кислоты (цикл Кребса) происходит расщепление ацетил-СоА, основного соединения цикла, до CO_2 и атомов водорода; последние в свою очередь отдают электроны, проходящие по цепи переноса электронов, где их энергия в ходе окислительного фосфорилирования превращается в энергию АТФ, а электроны соединяются с кислородом, и в результате образуется вода.

Ацетил-СоА является активированным двухуглеродным фрагментом, образующимся в результате расщепления одного из трех основных субстратов в миокарде: глюкозы, лактата (молочная кислота) или свободных жирных кислот. Строго говоря, субстратом называется химическое соединение, которое превращается в конечный продукт реакции в результате каталитической активности фермента. Для того чтобы вещество из некоторого источника энергии смогло превратиться в ацетил-СоА, необходима определенная последовательность каталитических реакций. Термином «субстрат» при исследовании метаболизма миокарда называют любое вещество, служащее источником энергии для кардиомиоцитов.

В этой главе обсуждаются метаболические пути распада основных субстратов до ацетил-СоА, а также вклад каждого субстрата в энергетический метаболизм миокардиальных клеток.

ГЛЮКОЗА

Значение глюкозы в метаболизме миокарда

Глюкоза относится к энергетическим веществам, особенно интересным с исторической и эволюционной точек зрения, хотя в настоящее время известно, что она является основным субстратом только при углеводной диете (табл. 21.1). Исторически интерес

Таблица 21.1. Влияние характера питания на состав субстратов окислительного метаболизма в сердце человека, выраженное в доле поглощения кислорода (%), идущей на окисление данных субстратов, при условии, что они полностью окисляются¹

Условия	Авторы ²	Глюкоза	Пируват	Лактат	Все углеводы	СЖК	ТГ	Кетоны	Аминокислоты	Дыхательный коэффициент ³
Глюкоза + инсулин «Прием пищи»	Gordon Cherkes [1]	—	—	—	—	нет	—	—	—	—
	Olson, Piatnek [2]	—	—	—	92	5	—	—	—	около 1,0
После еды ³ углеводы жиры	Goodale et al. [3]	68	4	28	100	—	—	—	—	0,94
	Carlson et al. [12]	10	—	10?	20?	30	50	—	—	—
Голодание (несколько часов) ⁴	Keul et al. [4]	31	2	28	61	34	—	5	0	—
		16	0	61	77	21	—	2	0	—
То же при физической нагрузке		21	2	36	59	36	—	3	0	—
После ночного голодания ⁵	Bing [4]	18	1	16	35	(67) ⁶	?	5	6	—
	Gordon et al. [5]	—	—	—	—	50	—	—	—	—
	Goodale et al. [6]	23	3	8	34	—	—	—	—	0,74
	Olson et al. [7]	—	—	—	30	58	—	—	—	—
	Harris et al. [8]	56	1	10	67	66	—	—	—	—
	Rudolph et al. [9]	15	1	13	29	70	—	9	—	—
	Willebrands [10]	30	0	8	38	58	—	—	—	—
	Lassers et al. [14]	22	1	8	31	53	14	—	—	—
Средние величины		27	1	11	38	59	14	7		

¹ СЖК — свободные жирные кислоты, ТГ — триглицериды, — — отсутствие данных.

² Ссылки 1—10 см. Опис [38]; 11, Lassers и соавт. [56]; 12, Carlson и соавт. Acta Med. Scand. 193; 233, 1973.

³ Добровольцы через 2—3 ч после легкого завтрака, содержащего нежирную пищу.

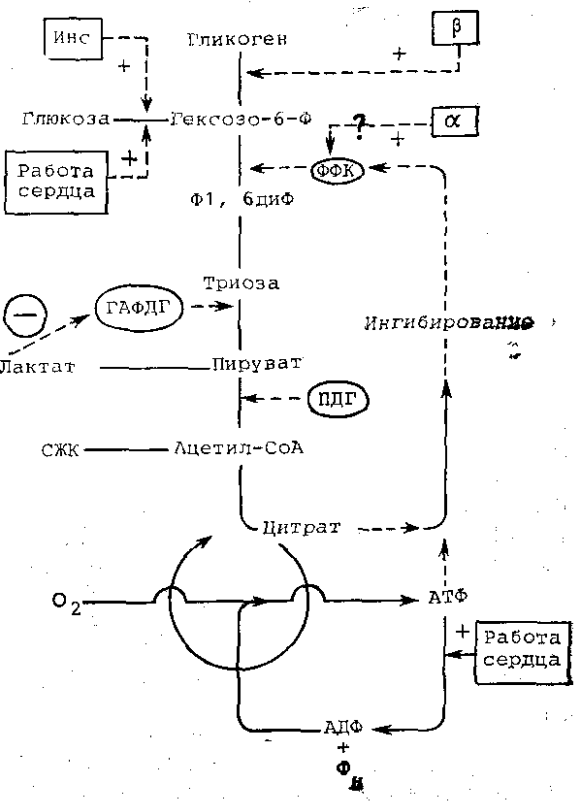
⁴ Добровольцы через 5—6 ч после легкого завтрака.

⁵ Точные условия не описаны; предполагается голодание в течение ночи.

⁶ Общее содержание жирных кислот, включая триглицериды.

Рис. 21.1. Общая схема регуляции гликолиза.

Подразумевается превращение глюкозо-6-фосфата (Г6Ф) в пируват (П): Инс — инсулин; β — стимуляция β -адренорецепторов; α — стимуляция α -адренорецепторов; ФФК — фосфофруктокиназа; Ф1,6диф — фруктозо-1,6-дифосфат; ГАФДГ — глицеральдегидфосфатдегидрогеназа. Исходное ингибирование гликолиза на уровне фосфофруктокиназы устраняется при увеличении совершаемой сердцем работы (через изменение отношения АТФ/АДФ и концентрации цитрата) или при аноксии или умеренной ишемии (аналогичные метаболические изменения). При глубокой ишемии, когда происходит накопление лактата в ткани, ингибируется глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, и скорость гликолиза снижается.



к метаболизму глюкозы датируется по крайней мере 1907 г., когда Locke и Rosenheim [1] обнаружили поглощение глюкозы препаратом изолированного сердца по Лангендорфу. В 1912 г. Knowlton и Starling [2] показали, что сердце собаки способно использовать сахар, и что панкреатомия (удаление поджелудочной железы) существенно ухудшает эту способность «потреблять сахар». Evans [3] в 1914 г. предположил, что путем окисления углеводов сердце получает лишь одну треть всей энергии. Cruickshank с соавт. высказали мысль о том, что оставшая часть энергетических потребностей миокарда удовлетворяется за счет «прямого сжигания» жира, скорее всего жирных кислот крови. Таким образом, эти исследователи выделили углеводы и жирные кислоты в качестве двух наиболее важных видов энергетических веществ для миокарда. С биохимической точки зрения, глюкоза интересна в связи с тем, что факторы, управляющие поглощением и использованием ее в ходе гликолиза или при синтезе гликогена, были всесторонне изучены, и в настоящее время известна интегральная схема управления этими процессами (рис. 21.1). С клинической точки зрения глюкоза интересна тем, что она, по-видимому, используется в процессе гликолиза для поддержания анаэробного метаболизма. Поэтому глюкоза входит в состав раствора, содер-

Жающего также инсулин и калий, который в настоящее время проходит испытания в качестве возможного терапевтического средства при остром инфаркте миокарда.

Регуляция поглощения глюкозы

Скорость поглощения глюкозы миокардиальными клетками из внеклеточного пространства обычно лимитируется скоростью транспорта глюкозы через клеточную мембрану [5]. Считается, что в процессе транспорта принимает участие специальный переносчик глюкозы [6—9]. Скорость поглощения глюкозы может повышаться под действием инсулина, при гипоксии и при увеличении совершаемой сердцем работы (см. рис. 21.1). При добавлении в среду инсулина происходит ускорение мембранного транспорта, механизм которого неизвестен. В этих условиях скорость трансмембранного транспорта превышает скорость следующей стадии метаболизма глюкозы (фосфорилирование глюкозы до глюкозо-6-фосфата), поэтому происходит накопление глюкозо-6-фосфата, и при достижении его определенного уровня скорость поглощения глюкозы через мембрану больше уже не возрастает. Увеличение скорости трансмембранного транспорта глюкозы происходит также при перфузии аноксическим раствором [4] и при увеличении работы, совершаемой сердцем [11]; в обоих случаях скорость поглощения глюкозы лимитируется скоростью трансмембранного транспорта [5, 11].

Пока еще плохо изучен механизм стимуляции транспорта глюкозы при гипоксии или увеличении работы, совершаемой сердцем. Это явление можно объяснить с помощью предположения, выдвинутого Randle и Smith [12], что «скорость поступления глюкозы... ограничивается... некоторым процессом, зависящим от концентрации макроэргических фосфатов». По-видимому, этот механизм отличается от того, благодаря которому происходит ускорение поглощения глюкозы под действием инсулина, так как в последнем случае не происходит изменение содержания макроэргических фосфатов.

Гликолиз

Под гликолизом понимают общий путь расщепления глюкозы и гликогена, в ходе которого в анаэробных условиях образуется лактат. В случае нормального окислительного метаболизма в результате гликолиза образуется пируват, который затем аэробно распадается в цикле лимонной кислоты (цикл Кребса). Превращение глюкозы или гликогена в пируват в этих условиях может быть названо аэробным гликолизом. Основная функция гликолиза состоит в синтезе АТФ, не зависящем от поступления кислорода. Это происходит и в том случае, когда конечной стадией гликолиза является аэробное превращение пирувата в ацетил-СоА, и тогда, когда происходит анаэробный гликолиз с синтезом анаэробного АТФ. В аэробных условиях основным источником АТФ является митохондриальный метаболизм, а скорость не зависящего от кис-

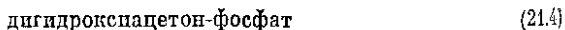
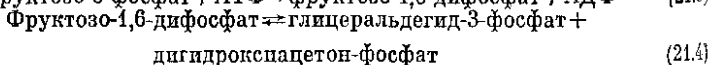
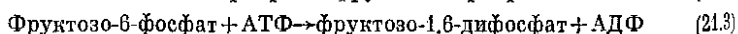
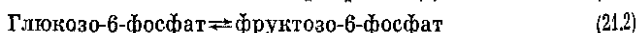
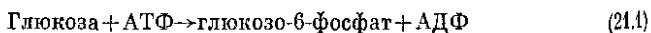
лорода синтеза АТФ не является критической. В анаэробных условиях, наоборот, единственным источником АТФ является гликолиз, который, следовательно, становится критической реакцией. В отсутствие кислорода скорость гликолиза может быть увеличена в несколько раз благодаря эффекту Пастера.

Эффект Пастера

Пастер [13] в 1876 г. в Париже открыл основные принципы реакции живых организмов на прекращение поступления кислорода. Он показал, что в отсутствие кислорода в одноклеточных микроорганизмах происходит увеличение скорости «ферментации». Под «ферментацией» он понимал те процессы, которые способны поддерживать жизнь в отсутствие кислорода. Используя современную терминологию, эффект Пастера можно сформулировать как увеличение скорости образования лактата в анаэробных условиях (рис. 21.2). Первое экспериментальное доказательство того, что эта гипотеза применима и к миокарду, получено Evans [3], который показал, что вентиляция сердечно-легочного препарата собаки газовой смесью с низким содержанием кислорода вызывает увеличение скорости поглощения глюкозы, а вместо поглощения лактата миокардом, происходящим в нормальных условиях, наблюдается выход лактата из миокардиальных клеток.

Активность фосфофруктокиназы

Значительно позже в работах Rendle с соавт. из Кембриджа и группы Morgan из Нашвилла (штат Теннесси) были выяснены биохимические механизмы, лежащие в основе этого явления. Эксперименты осуществлялись на изолированном перфузируемом сердце, и было показано, что в условиях аноксии повышение скорости гликолиза определяется последовательностью реакций, в которую входят ускорение транспорта глюкозы в клетку и увеличение активности фосфофруктокиназы, которая ограничивает скорость всего гликолиза (фосфофруктокиназа фосфорилирует фруктозо-6-фосфат до фруктозо-1,6-дифосфата). Фруктозо-6-фосфат в свою очередь получается в результате обратимой реакции из глюкозо-6-фосфата, общей точке процесса поглощения глюкозы и процесса распада гликогена. В упрощенной форме поглощение глюкозы можно описать следующей последовательностью реакций:



Эти реакции катализируются соответственно следующими ферментами: гексокиназой, гексофосфатизомеразой, как и фосфоглу-

Аноксия без ишемии

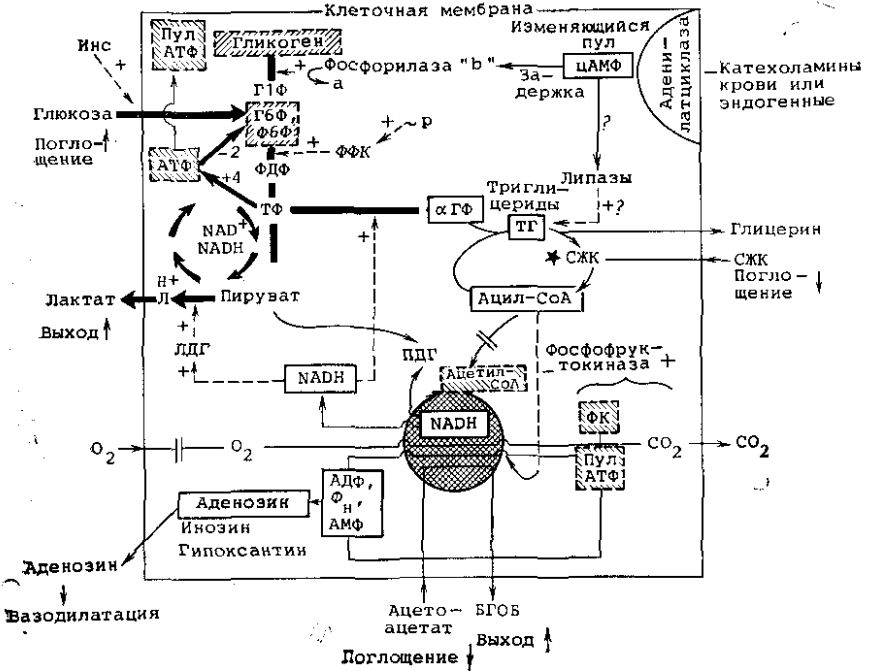


Рис. 21.2. Аноксия без ишемии.

Обратите внимание на ускорение путей анаэробного гликолиза, которые обозначены толстыми стрелками. Образующийся в ходе гликолитических реакций АТФ (-2 молекулы АТФ расходуются при гликолизе, +4 молекулы АТФ образуются при распаде одной молекулы глюкозы) может поступать в тот же самый пул АТФ, в который попадает АТФ, синтезируемый при окислительном фосфорилировании; с другой стороны, может существовать специальный пул АТФ, образуемого в ходе гликолиза, обладающий специальными функциями по отношению к клеточной мембране. При аноксии прекращается поглощение кислорода и не образуется CO₂ в результате дыхательных реакций, но CO₂ может выделяться из тканей в результате распада бикарбонатов при буферизации образующихся H⁺. Общее содержание АТФ и ФК уменьшается, а АДФ, АМФ и Ф_н возрастает. При аноксии в ткани усиливается образование аденозина, который, как считается, способствует компенсаторной вазодилатации. Количество H⁺, образующегося в ходе анаэробного гликолиза из-за распада АТФ, недостаточно, чтобы вызвать существенное закисление внутриклеточной среды (см. в тексте), и активность фосфофруктокиназы возрастает (ФФК+). Активность цикла лимонной кислоты существенно снижается вследствие прекращения поступления кислорода, ускорения образования NADH в митохондриях (на что указывает снижение поглощения ацетоацетата и выхода β-гидроксипирувата), ингибирования пируватдегидрогеназы (ПДГ) и уменьшения концентрации ацетил-СоА (АцСоА). Обратите внимание на угнетение метаболизма липидов и увеличение включения экзогенных ¹⁴C-СЖК в состав ¹⁴C-СЖК тканей, отмеченные *СЖК; пока еще нет достаточно надежных данных об изменении тканевого содержания СЖК. Также не выяснена пока роль цАМФ в стимуляции активности липазы и фосфорилазы. Гликолиз может происходить без участия активности фосфорилазы. Так как коронарный кровоток сохраняется, концентрация CO₂, H⁺ и лактата в ткани повышается в меньшей степени, чем при ишемии (см. рис. 21.3).

Обозначения на рис. 21.2 и 21.3: □ — увеличение тканевого содержания метаболита; фигуры с наклонной штриховкой — снижение тканевого содержания метаболита; X — отсутствие метаболита; → — метаболические пути; жирная стрелка — ускоряющиеся метаболические пути; пунктирная стрелка — факторы, влияющие на активность ферментов; кружок со сплошной штриховкой — реакции в составе цикла лимонной кислоты. Инс — действие инсулина; ФФК — фосфофруктокиназа; ТФ — триозофосфаты, включая дигидроксиацетонфосфат; ГФ — α-глицерофосфат; Л — лактат; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; ПДГ — пируватдегидрогеназа; цАМФ — циклический АМФ; ТГ — триглицериды; БГОБ — β-гидроксипируват; Г1Ф — глюкозо-1-фосфат; Г6Ф — глюкозо-6-фосфат; Ф6Ф — фруктозо-6-фосфат; ФДФ — фруктозо-1,6-дифосфат; СЖК — свободные жирные кислоты. (Займствовано с модификациями из работы [138].)

козоизомеразой, фосфофруктокиназой, альдолазой и триозофосфатизомеразой. Считается, что регуляция всей последовательности может осуществляться в реакциях 21.1 и 21.3.

Свидетельства в пользу регуляции на уровне фосфофруктокиназы можно кратко суммировать следующим образом. Во-первых, активность этого фермента является самой низкой среди всех других ферментов гликолиза. Во-вторых, отношение действующих масс веществ, участвующих в реакции, значительно отличается от кажущейся константы равновесия; следовательно, какой-то фактор препятствует достижению равновесия, и этим фактором, по-видимому, является активность фермента. В-третьих, поток субстрата (фруктозо-6-фосфата) через фермент может возрастать, даже когда его содержание в ткани падает при аноксии. В-четвертых, фермент был выделен в чистом виде, и было показано, что он обладает сложными аллостерическими свойствами, куда входит ингибирование АТФ (и, вероятно, фосфокреатином), лимонной кислотой и низким рН. С другой стороны, ингибирование снимается продуктами распада АТФ (такими, как АДФ, Ф_н и АМФ), снижением концентрации лимонной кислоты или под действием алкалоидов. Были найдены условия, в которых удалось воспроизвести все эти свойства, полученные *in vitro*, на целом перфузируемом сердце, что ясно указывает на регуляторную роль фосфофруктокиназы [14].

Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа

Уже давно было ясно, что регуляция гликолиза может в определенных условиях осуществляться не реакцией, катализируемой фосфофруктокиназой, а другими реакциями ниже по цепи гликолиза. Это происходит при таких экстремальных условиях, как глубокая тотальная ишемия [15] или резкий переход от нормальных условий к аноксии [16]. В настоящее время известно, что глицеральдегидфосфатдегидрогеназа (ГАФДГ) играет основную роль в ингибировании гликолиза при ишемии (рис. 21.3).

При глубокой ишемии происходит не ингибирование, а стимуляция гликолиза. В случае умеренной ишемии эффект Пастера приводит к ускорению поглощения глюкозы и увеличению интенсивности гликолиза, обусловленному стимуляцией поглощения глюкозы и активности фосфофруктокиназы; при глубокой ишемии активность фосфофруктокиназы ингибируется вследствие ацидоза, в то время как активность глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы ингибируется несколькими продуктами гликолиза [17, 18]. Молекулярные механизмы этих процессов пока не известны. Ферментативная активность грубого препарата фермента подавляется лактатом, однако лактат не способен ингибировать высокоочищенный фермент [18]. Ингибирующее действие лактата не зависит от рН, хотя протоны также ингибируют глицеральдегидфосфатдегидрогеназу [19]. Выраженное ингибирование наблюдается при высоких концентрациях NADH и АТФ [18].

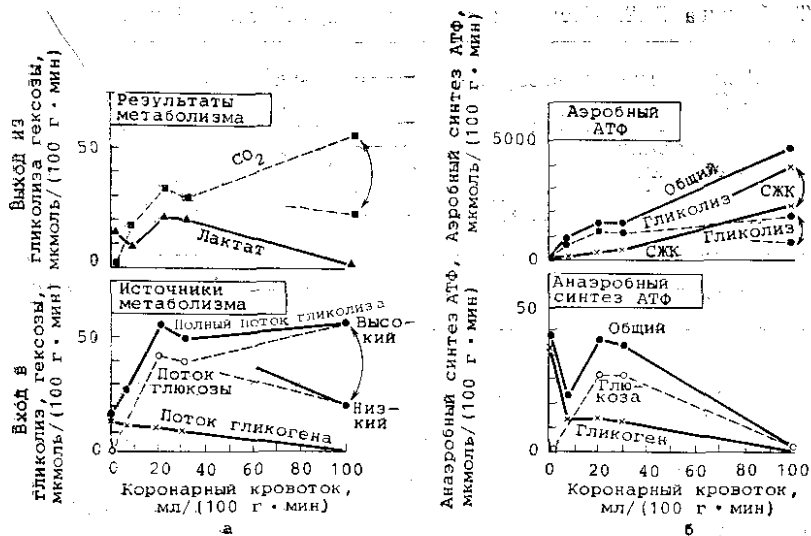
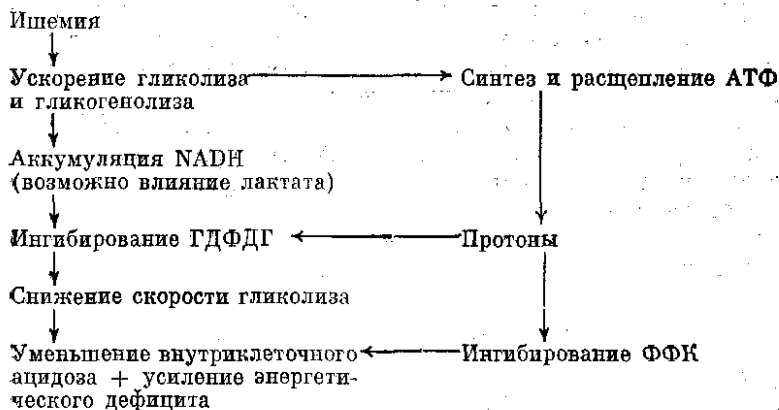


Рис. 21.4. Поток гликолиза (а) и синтез АТФ (б).

Схематически показаны источники субстратов гликолиза (глюкоза, гликоген и общий поток), конечные продукты гликолиза (образование лактата или CO_2), относительный вклад глюкозы и гликогена в анаэробный синтез АТФ, а также гликолиза и окисления эндогенных свободных жирных кислот (СЖК) в аэробный синтез АТФ. (Займствовано из работы [138], там же приведены более подробные расчеты.)

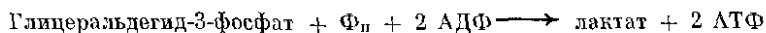
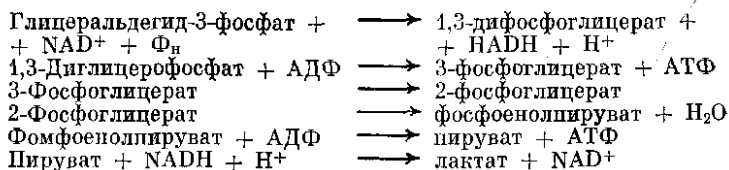
в результате расщепления АТФ (см. следующий раздел). Поэтому должен существовать некоторый механизм самозащиты, например:



Освобождение протонов при анаэробном гликолизе

В ходе анаэробного гликолиза происходит восстановление окисленного кофактора ($NADH + H^+ \rightarrow NADH_2$), образующегося в результате реакции, катализируемой глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой, до NAD за счет образования лактата. Суммарная

Таблица 21.2. Последовательность реакций анаэробного гликолиза



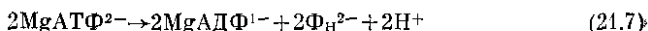
последовательность реакций дает на выходе две молекулы АТФ без использования кислорода (табл. 21.2).

Таким образом, при анаэробном гликолизе не образуется свободных протонов. Почему же тогда принято считать, что анаэробный гликолиз приводит к освобождению протонов и является источником ацидоза?

Gevers [21] подробно изучил этот вопрос. Если суммировать все отдельные реакции гликолиза с учетом зарядов и учесть образование комплекса АДФ и АТФ с ионами Mg²⁺, то получится следующее уравнение:



В анаэробных условиях расщепление синтезированного АТФ происходит таким образом, что образуются свободные протоны:



Эти уравнения являются приблизительными и зависят от ряда допущений, включая концентрацию свободных ионов Mg²⁺ в цитозоле и внутриклеточную рН (последняя влияет на заряд фосфата). Обычно в анаэробных условиях происходит не только образование лактата из пирувата, но и расщепление АТФ, образованного в результате гликолиза, до АДФ (уравнение 21.7), что приводит к освобождению неорганического фосфата и протонов. Таким образом, источником свободных протонов, образующихся в ходе анаэробного гликолиза, является АТФ, синтезируемый в цепи гликолитических реакций, а не лактат.

Метаболизм глюкозы: основные положения

1. Основную роль в регуляции скорости поглощения глюкозы миокардом играет скорость транспорта глюкозы через сарколемму с помощью стереоспецифического переносчика глюкозы.

2. Транспорт глюкозы ускоряется под действием инсулина, в условиях гипоксии и при повышении совершаемой сердцем работы. В этих же условиях возрастает поток веществ в последовательности гликолитических реакций благодаря повышению активности фосфофруктокиназы, ограничивающей суммарную скорость глико-

лиза. Действие инсулина осуществляется путем увеличения доставки субстрата (фруктозо-6-фосфат, образующийся после поглощения глюкозы клетками). В случае аноксии или увеличения совершаемой сердцем работы возрастает скорость расщепления макроэргических фосфатов и в результате снимается ингибирующее действие АТФ на фосфофруктокиназу.

3. В аэробных условиях (нормальная оксигенация) конечным продуктом гликолиза является пируват, который поступает в цикл лимонной кислоты (цикл Кребса) для дальнейшего аэробного метаболизма.

4. В анаэробных условиях конечным продуктом гликолиза является лактат. Скорости реакций анаэробного гликолиза не настолько высоки, чтобы обеспечить сокращающееся сердце необходимым количеством энергии, но достаточны, чтобы удовлетворить потребности сердца, остановленного повышением содержания ионов калия в растворе.

5. При умеренной ишемии скорость гликолиза возрастает.

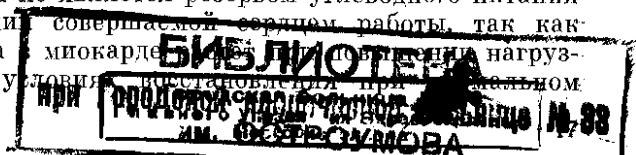
6. При глубокой ишемии происходит уменьшение кровотока в миокарде и снижение поступления с кровью кислорода, в результате чего в ткани накапливаются продукты гликолиза, и гликолиз ингибируется на уровне глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы. Одновременно происходит ингибирование фосфофруктокиназы и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы вследствие аккумуляции протонов (освобождаются при расщеплении АТФ, происходящем почти сразу после синтеза в ходе анаэробного гликолиза). Следовательно, при высокой степени ишемии происходит дальнейшее уменьшение способности гликолиза синтезировать макроэргические соединения, и дефицит энергии усиливается.

До сих пор неясен вопрос о роли поглощения глюкозы из крови в инициации гликолиза. Другим источником субстратов для гликолиза является распад гликогена.

ГЛИКОГЕН

Основные положения

Гликоген является полисахаридом, т. е. полимером, состоящим из большого количества молекул глюкозы, который хранится в цитоплазме миокардиальных клеток в виде крупных гранул. С химической точки зрения он похож на гликоген, содержащийся в других органах, например, в печени. И хотя часто его считают просто «запасом» углеводов, молекулы гликогена постоянно участвуют в обмене веществ из-за изменений скоростей синтеза и деградации. Физиологическая роль гликогена в сердце пока еще плохо понята, несмотря на то, что сложные химические сигналы, управляющие синтезом гликогена и его распадом, довольно хорошо изучены. Гликоген не является резервом углеводного питания сердца при увеличении совершаемой сердцем работы, так как содержание гликогена в миокарде не увеличивается при значительной нагрузке и уменьшается в условиях



питании. Эти изменения тканевого содержания гликогена могут быть связаны с изменением концентрации свободных жирных кислот в крови. Когда концентрация свободных жирных кислот в крови повышается, например при голодании, происходит ингибирование гликолиза, а содержание гликогена в миокарде остается высоким и еще больше возрастает в ответ на повышение тканевого содержания глюкозо-6-фосфата. В состоянии покоя и восстановления запасов субстратов концентрация свободных жирных кислот в крови низка, и содержание гликогена в миокарде снижается, несмотря на высокую скорость поглощения глюкозы и высокую активность инсулина, стимулирующего синтез гликогена. Одно из возможных объяснений этого явления заключается в том, что в состоянии покоя велики скорости не только синтеза, но и использования гликогена, поэтому общее содержание гликогена в миокарде становится низким. С другой стороны, при длительном увеличении нагрузки на сердце высокое содержание гликогена в миокарде, по-видимому, в основном объясняется низкой скоростью обмена гликогена.

Синтез гликогена

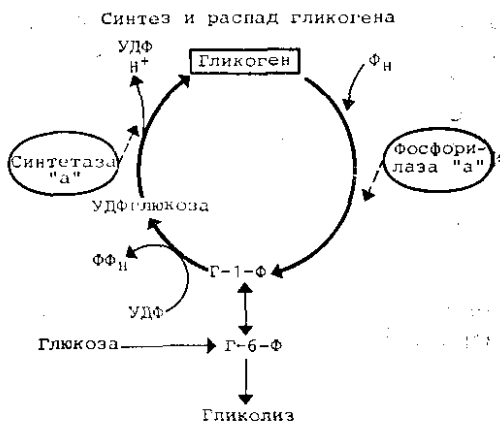
Пути синтеза гликогена отличаются от путей его использования, так как в этих реакциях принимают участие две различные ферментативные системы (рис. 21.5). К основным факторам, стимулирующим синтез гликогена, относятся высокий уровень инсулина и высокая концентрация свободных жирных кислот в крови. Синтез гликогена начинается с превращения глюкозо-6-фосфата в глюкозо-1-фосфат. Критической стадией синтеза гликогена является перенос глюкозо-1-фосфата на свободный конец существующей в клетке молекулы гликогена. Основным ферментом, регулирующим этот процесс, является гликогенсинтетаза (=гликогенсинтетаза=гликогентрансфераза), которая может находиться либо в более активной форме а, либо в менее активной форме б. Для синтеза гликогена необходимо присутствие макроэргического фосфата, но не АТФ, а уридинтрифосфата (УТФ), который синтезируется с использованием АТФ. Следовательно, синтез гликогена не может осуществляться в условиях дефицита энергии.

Стимуляция синтеза гликогена под действием инсулина обусловлена довольно сложным механизмом, который еще не до конца изучен. Инсулин увеличивает долю гликогенсинтетазы в форме а, вероятно, оказывая влияние на фосфатазу, которая переводит синтетазу из формы б в форму а. При экспериментальном диабете, вызванном высоким содержанием кетонов в крови, синтез гликогена замедляется по мере уменьшения активности фосфатазы синтетазы [22].

Кроме инсулина еще одним важным фактором, стимулирующим синтез гликогена, является высокое внутриклеточное содержание глюкозо-6-фосфата. К условиям, повышающим содержание глюкозо-6-фосфата в миокарде, относятся: а) высокий уровень инсулина и глюкозы в крови, например, после еды; б) ингибирование гликолиза, например, когда в миокарде используются сво-

Рис. 21.5. Регуляция метаболизма гликогена.

Обратите внимание, что путь синтеза гликогена, контролируемый гликогенсинтазой (=синтезой), отличается от пути его расщепления до глюкозы, контролируемого гликогенфосфорилазой.



бодные жирные кислоты; в) кетонный диабет, когда гликолиз ингибируется вследствие одновременного присутствия в крови высокого уровня свободных жирных кислот и кетонов. В последних двух случаях непрерывное накопление гликогена в миокарде в конце концов ингибирует его синтез, этим можно объяснить, почему высокое тканевое содержание гликогена сопровождается низкой скоростью его обмена.

Таким образом, существует несколько механизмов синтеза гликогена, одни из которых определяют высокую скорость синтеза в состоянии покоя и восстановления запасов субстратов под действием инсулина, другие — обеспечивают синтез гликогена с низкой скоростью при повышении нагрузки на сердце, который происходит, несмотря на отсутствие инсулина, вследствие высокого тканевого содержания глюкозо-6-фосфата.

Распад гликогена

Стимуляция расщепления гликогена в миокардиальных клетках обусловлена двумя основными механизмами, один из которых запускается цАМФ, другой (в условиях аноксии) — падением уровня макроэргических фосфатов. Цикло-АМФ запускает хорошо изученную последовательность событий, которая в конце концов приводит к превращению неактивной фосфорилазы b в высокоактивную фосфорилазу a.

Катехоламины → β-рецептор → аденилатциклаза → цАМФ активирует протеинкиназу → активация киназы фосфорилазы b → превращение фосфорилазы b в фосфорилазу a → распад гликогена

Одной из субъединиц киназы фосфорилазы b является калмодулин, внутриклеточный Ca^{2+} -связывающий белок. Следовательно, для проявления активности киназы и образования фосфорилазы a необходимы ионы Ca^{2+} .

Другой механизм ускорения гликогенолиза состоит в повышении активности фосфорилазы b без превращения ее в фосфорилазу a. Этот процесс, который не зависит от адренергической стиму-

ляции, запускается с помощью расщепления АТФ до АМФ и неорганического фосфата [23]. Следовательно, при ишемии гликолиз ускоряется как вследствие цАМФ-зависимого образования фосфорилазы а, так и в результате повышения активности фосфорилазы b по мере падения содержания АТФ. Если тяжесть ишемии достаточно высока, то скорость гликогенолиза в конце концов уменьшается из-за ингибирования гликолиза (обсуждалось в предыдущем разделе) с накоплением глюкозо-6-фосфата, который в свою очередь ингибирует активность фосфорилазы b. Такой способ регуляции фосфорилазы b может иметь важное значение после того, как повышающийся на ранней стадии ишемии уровень цАМФ в ткани возвращается к норме.

Функция гликогена в миокарде

Гликоген, содержащийся в миокардиальных клетках, служит потенциальным источником энергии, так как он способен распадаться на отдельные молекулы глюкозы (гликогенолиз). Однако поглощение миокардом кислорода происходит с такой высокой скоростью, что для того, чтобы гликоген мог служить основным источником питания миокарда в течение длительного времени, его содержание в сердце должно быть очень велико, а гликогенолиз должен осуществляться с исключительно высокой скоростью. В течение коротких промежутков времени (например, при экспериментальной аноксии, в самом начале развития эпизода ишемии, при совершении сердцем чрезмерно большой работы), теоретически возможно достаточно быстрое расщепление гликогена, так что он на короткое время способен стать основным источником энергии. В ходе гликогенолиза, т. е. при расщеплении гликогена в миокарде, как и при поглощении глюкозы, образуется глюкозо-6-фосфат. Независимо от источника глюкозо-6-фосфата образуется ли он в результате гликогенолиза или вследствие поглощения глюкозы, в дальнейшем он либо будет участвовать в ресинтезе гликогена, либо распадается до пирувата в ходе гликолиза.

Многие исследователи считают, что в течение каждого сердечного цикла происходит распад довольно значительного количества гликогена, но эта гипотеза до сих пор не доказана. В настоящее время мы не далеко ушли от точки зрения Evans с соавт. [24], которые полагали, что гликоген является резервным полисахаридом для случая внезапного развития аноксии, например, при реакции «защиты или бегства», когда происходит внезапное увеличение работы, совершаемой сердцем. За исключением такой специфической ситуации, последовательности реакций как расщепления гликогена, контролируемого преимущественно стимуляцией адренергических рецепторов, так и синтеза гликогена, контролируемого в основном инсулином, значительно сложнее, чем можно было бы ожидать, исходя из физиологической функции гликогена. Возможно, наличие таких сложных механизмов просто отражает эволюционное наследие, полученное красной миокардиальной мышцей, от более примитивной белой скелетной мышцы.

С равной вероятностью такие сложные механизмы регуляции синтеза и расщепления гликогена могут служить некоторой определенной цели, которая нам пока не известна. В скелетной мышце гликоген, несомненно, играет жизненно важную роль, позволяя ей продолжать нормально работать, несмотря на значительное уменьшение кровотока, как это наблюдается при интенсивной активности мышцы в изометрическом режиме. В сердце такие ситуации встречаются значительно реже, так как миокард намного лучше оксигенируется. Тем не менее, когда нагрузка на сердце резко возрастает, быстрое расщепление гликогена в течение нескольких секунд может защитить сердце от острой нехватки энергетических веществ [25].

ЛАКТАТ

Конкуренция лактата с другими субстратами за кислород

Утилизация лактата миокардом при нормальном поступлении кислорода объясняет 10% поглощения кислорода сердцем человека в покое (см. табл. 21.1) и около 60% поглощения кислорода при значительной нагрузке. При введении лактата в кровь собаки его значение в качестве источника энергии для миокарда возрастает, и при достижении концентрации 4,5 мМ или больше (уровень, достигаемый при нагрузке) на метаболизм лактата расходуется 80% поглощаемого сердцем кислорода [26].

Лактат и свободные жирные кислоты конкурируют за поглощаемый миокардом кислород [27], так как любое из этих соединений может быть основным питательным веществом в зависимости от его уровня в крови (см. табл. 21.1). Возможный механизм угнетения лактатом метаболизма свободных жирных кислот состоит в ингибировании активационного влияния тиокиназы [28]. Возможный механизм угнетения метаболизма лактата свободными жирными кислотами заключается в ингибировании ферментного комплекса пируватдегидрогеназы [29, 20].

Метаболические пути лактата

Поглощение лактата сердцем зависит от механизма стереоспецифического транспорта [31]. Проникновение лактата через сарколемму невозможно объяснить свободной диффузией, поэтому и было постулировано существование «пермеазы» [32]. После поглощения клеткой лактат превращается в пируват с помощью лактатдегидрогеназы, соединяясь, таким образом, с пируватом, образующимся в ходе гликолиза.

Лактатдегидрогеназа

Приводимая здесь реакция является легко обратимой.



Поэтому в условиях адекватной оксигенации и при высокой скорости поглощения лактата равновесие смещено в сторону обра-

вания пирувата. При гипоксии, когда происходит накопление D и H^+ , пируват не может быть дегидрогенизован, и реакция идет в сторону образования лактата.

Активность лактатдегидрогеназы в миокарде достаточно высока, поэтому маловероятно, что эта реакция является лимитирующей. Существует 5 изоферментов лактатдегидрогеназы, обозначенных в соответствии со скоростью их миграции при электрофорезе. Каждый из изоферментов представляет собой тетрамерный комплекс, состоящий из 4 субъединиц N или M , где N — это тип, обладающий в миокарде, а M — в скелетной мышце. Основным интересом к изоферментам связан с тем, что они выходят в кровоток только при остром инфаркте миокарда. В клинике N изофермент называют также α -гидроксибутиратдегидрогеназой, так как в качестве субстрата этот фермент может использовать α -оксibuтрат вместо пирувата, и при этом образуется α -гидроксибутират.

Освобождение лактата при ишемии

В нормальных условиях сердце собаки способно поглотить до 60% лактата, содержащегося в артериальной крови [10]. При ишемии миокарда выход лактата в коронарный синус наблюдается только, когда ишемией оказывается захвачено свыше 25% массы сердца [10]. Такое освобождение лактата традиционно считается надежным признаком гипоксии или ишемии миокарда [33]. Уменьшение поглощения лактата из крови (без реального освобождения) не является надежным показателем ишемии, так как поглощение лактата может быть ингибировано свободными жирными кислотами [34].

Существуют определенные условия, при которых выход лактата из миокарда наблюдается и без какого бы то ни было ограничения поступления кислорода: а) в сердце новорожденных *in situ*; б) когда внеклеточная жидкость не содержит лактат или содержит его очень мало, как в случае изолированного сердца, перфузируемого раствором, содержащим глюкозу в качестве единственного субстрата; в) в трансплантированном сердце; г) изредка у старых нормальных бодрствующих собак с хроническим имплантированным катетером коронарного синуса; д) у некоторых, видимо, совершенно здоровых лиц Орие [35]. Кроме того, освобождение лактата может наблюдаться при резком усилении гликолиза в случае внезапного увеличения нагрузки на сердце [35]. У больных тиреотоксикозом эпизоды освобождения лактата из миокарда могут возникать даже при неповрежденных коронарных артериях [36].

ПИРУВАТ

Концентрация пирувата в циркулирующей крови обычно очень низка, поэтому его поглощением можно объяснить лишь небольшую часть поглощения кислорода нормальным сердцем (см. 21.1). Не известны физиологические условия, в которых пируват становится основным энергетическим веществом для мио-

мира. Однако, когда при перфузии изолированного сердца в раствор добавляют пируват в концентрации выше физиологической, поглощение пирувата позволяет объяснить 42—60% потребления миокардом кислорода [37] (см. резюме в работе Орие [38]). Повышение концентрации свободных жирных кислот замедляет декарбонилирование и окисление пирувата [37, 39].

Метаболизм пирувата

Основными метаболическими путями пирувата являются либо аэробное окисление с помощью пируватдегидрогеназы и в цикле лимонной кислоты, либо анаэробное превращение в лактат. Анаэробное превращение в лактат позволяет восстановить NAD^+ из $\text{NADH} + \text{H}^+$, накапливающихся в ходе анаэробного гликолиза (см. рис. 21.2), и, следовательно, представляет собой важное звено анаэробного метаболизма. Кроме того, в анаэробных условиях небольшая часть пирувата превращается в Ala путем трансаминирования. Для аэробного окисления пирувата в первую очередь необходима активность пируватдегидрогеназы.

Пируватдегидрогеназа

Пируватдегидрогеназа является мультиферментным комплексом с очень высокой относительной молекулярной массой (около 4 000 000), расположенным на внутренней мембране митохондрий. Пируват поступает к ферменту из цитоплазмы, вероятно, путем обычной диффузии, адсорбируясь на митохондриальной мембране [40]. Пируватдегидрогеназа может существовать либо в активной форме, либо в неактивной. В норме в состоянии покоя в активной форме находится лишь 20% фермента, но при увеличении поступления пирувата вследствие усиления гликолиза активность пируватдегидрогеназы может возрасти до 60—90% [30]. Увеличение совершаемой сердцем работы увеличивает долю фермента в активной форме, что достигается по крайней мере частично за счет изменения окислительно-восстановительного состояния митохондрий (уменьшение отношения $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}]$) [41]. Изменение активности пируватдегидрогеназы является результатом цикла фосфорилирования-дефосфорилирования, который аналогичен циклу, управляющему взаимопревращением фосфорилаторы $b \rightleftharpoons a$, но не зависит от цАМФ. Фосфорилирование переводит фермент в неактивную форму; активность восстанавливается только при дефосфорилировании (а не под действием аллостерических эффекторов, как в случае большинства других ферментов, регулируемых циклом фосфорилирования-дефосфорилирования). Киназа пируватдегидрогеназы фосфорилирует фермент, переводя его в неактивное состояние. Киназа активируется ацетил-СоА и NADH, которые, следовательно, инактивируют пируватдегидрогеназу. Противоположное действие оказывают АДФ, NAD^+ , СоА и пируват, которые в результате активируют пируватдегидрогеназу.

Другой регуляторный механизм состоит в ингибировании активной формы фермента конечными продуктами: ацетил-СоА и NADH. Поэтому при уменьшении концентрации NADH, например, при повышении совершаемой сердцем работы, увеличивается поток реакции, катализируемой пируватдегидрогеназой [41]. Таким образом, увеличение совершаемой сердцем работы приводит к развитию двух эффектов. Во-первых, активируется пируватдегидрогеназа, во-вторых, активная форма пируватдегидрогеназы стимулируется вследствие устранения ингибирования конечными продуктами реакции при падении концентрации NADH. И хотя при повышении совершаемой сердцем работы можно ожидать изменения отношения АТФ—АДФ в митохондриях, в этих условиях, вероятно, меняется отношение АТФ—АДФ в цитоплазме, а не в митохондриях [43].

Когда к сердцу поступают неуглеводные питательные вещества (свободные жирные кислоты, кетоны), пируватдегидрогеназа инактивируется [30]. Важным фактором является сильное ингибирование пируватдегидрогеназы NADH [44], который накапливается в ходе метаболизма свободных жирных кислот и кетонов. Кроме того, неуглеводное питание ингибирует этот фермент за счет повышения концентрации ацетил-СоА и отношения ацетил-СоА—СоА в миокарде [45]. NADH и ацетил-СоА в свою очередь активируют киназу, которая фосфорилирует и инактивирует пируватдегидрогеназу.

Можно предполагать, что пируватдегидрогеназа будет инактивироваться во время ишемии вследствие накопления NADH. Однако из-за сопутствующего падения митохондриальной концентрации АТФ и повышения концентрации АДФ активность фермента сохраняется [46]. Следовательно, уменьшение потока реакции через пируватдегидрогеназу при аноксии и ишемии (см. рис. 21.2 и 21.3), по-видимому, обусловлено ингибированием активной формы фермента.

ВЗАИМОСВЯЗЬ РЕГУЛЯЦИИ ПОТОКОВ В ЦЕПИ ГЛИКОЛИЗА

Представление о том, что существует некоторая взаимосвязь потоков в цепи гликолиза и через пируватдегидрогеназу, получило существенное подтверждение, так как было обнаружено большое число метаболических сигналов, действующих как на фосфофруктокиназу, так и на пируватдегидрогеназу. Наиболее тесная координация регуляции гликолиза возможна тогда, когда одни и те же тесно связанные сигналы повышают активность этих двух основных ферментов, что наблюдается, например, при резком увеличении совершаемой сердцем работы. В этом случае гликолиз ускоряется вследствие изменения концентрации макроэргических соединений, а активность пируватдегидрогеназы повышается из-за уменьшения клеточного содержания NADH, падения концентрации ацетил-СоА и, возможно, вследствие поступления Ca^{2+} в мито-

холдрии. Увеличение совершаемой сердцем работы, кроме того, прямо стимулирует перенос глюкозы через клеточную мембрану, по-видимому, в результате изменения энергетического состояния. Третий эффект повышения совершаемой сердцем работы был предсказан в результате компьютерного моделирования [25]. Было предположено, что при повышении концентрации Ca^{2+} в цитоплазме увеличивается также концентрация Mg^{2+} , в результате чего происходит стимуляция гликолиза на уровне фосфофруктокиназы и других ферментов.

При добавлении инсулина поглощение глюкозы стимулируется за счет ускорения образования субстратов фосфофруктокиназы, т. е. в результате увеличения потока веществ в цепи гликолиза. Если при этом повышается концентрация пирувата в ткани, то увеличивается также активность пируватдегидрогеназы [47]. Если повышается отношение $\text{NADH} - \text{NAD}^+$, как это наблюдается при повышении скорости гликолиза в отсутствие конкурирующих субстратов, то может наблюдаться даже инактивация пируватдегидрогеназы [41]. Инсулин же не оказывает практически никакого влияния на пируватдегидрогеназу, за исключением случая экспериментального диабета [48].

Третьим примером координированной регуляции гликолиза является случай поступления к сердцу энергетических веществ неуглеводной природы, например, свободных жирных кислот или кетонов. В этом случае происходит ингибирование фосфофруктокиназы из-за повышения концентрации цитрата в результате увеличения скорости цикла лимонной кислоты, и одновременно происходит ингибирование и инактивация пируватдегидрогеназы скорее всего вследствие повышения уровня NADH и ацетил- CoA . Таким образом достигается значительное уменьшение потока веществ в цепи гликолиза.

Лишь один важный стимул — гипоксия — ускоряет гликолиз, но ингибирует поступление пирувата в цикл лимонной кислоты. При гипоксии повышается активность фосфофруктокиназы вследствие изменения содержания макроэргических фосфатов и уменьшения тканевого уровня цитрата, но одновременно происходит накопление NADH , который ингибирует активную пируватдегидрогеназу (см. предыдущий раздел).

СВОБОДНЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ

Значение свободных жирных кислот (СЖК = неэтерифицированные жирные кислоты = НЭЖК) в качестве энергетических веществ для сердца человека было впервые установлено в работах Bing [49—51], который обнаружил, что обмен углеводов позволяет объяснить лишь малую долю полного поглощения кислорода сердцем, а остальная часть приходится на долю жирных кислот. В 1961 г. Shipp с соавт. [52] обнаружили, что свободные жирные кислоты ингибируют окисление глюкозы в миокарде. С тех пор было получено огромное количество данных о важной роли свободных жирных кислот, являющихся основным источником пита-

ния миокарда [38, 53]. СЖК ингибируют метаболизм глюкозы на нескольких этапах [30] и являются основным источником энергии сердца человека, особенно в условиях повышенной нагрузки. Интерес клиницистов к метаболизму СЖК возрос в связи с полученными недавно данными о том, что при определенных условиях СЖК могут оказаться токсичными для миокарда и что в некоторых экспериментальных моделях СЖК способны усугублять тяжесть ишемии.

Поглощение миокардом свободных жирных кислот: основные факторы

К основным факторам, определяющим скорость поглощения СЖК миокардом, относятся: а) концентрация СЖК в крови; б) молярное отношение СЖК к альбумину в крови; в) состояние барьеров на уровне стенок капилляров; г) скорость транспорта СЖК через клеточную мембрану; д) скорость образования ацетилкарнитина и наличие свободного карнитина; е) скорость внутриклеточных окислительных процессов.

Предполагаемое влияние удаления продуктов метаболизма СЖК путем окисления на поглощение СЖК изолированным сердцем крысы объясняется тем, что существует корреляция между скоростью поглощения и скоростью окисления СЖК, и тем, что при блокировании окисления жирных кислот путем добавления ацетоацетата (см. Menahan и Hron [54]) или путем изменения структуры их цепи происходит накопление в клетках СЖК и таких промежуточных продуктов метаболизма, как ацил-СоА, а также тем, что при высокой концентрации СЖК в крови и блокировании окислительных процессов происходит накопление СЖК в миокардиальных клетках (ссылки см. работу Orie [55]).

В миокарде может происходить не только накопление, но и освобождение СЖК, на что указывают результаты экспериментов на изолированном сердце, где при низком содержании СЖК в перфузате происходит их освобождение во внеклеточную жидкость. Эти выводы подтверждаются исследованиями на людях [56] и результатами изучения кинетики поглощения и освобождения СЖК перфузируемым сердцем собаки *in situ* [28]. Однако эти процессы нельзя описать с помощью простого равновесия, так как *in vivo* распределение жирных кислот во внутриклеточном и внеклеточном пространстве не одинаково [57].

Молекулярная структура цепи жирной кислоты влияет на поглощение СЖК, что подтверждается результатами, полученными при перфузии сердца эквимоллярной смесью различных жирных кислот [58]. Различия скорости поглощения разных жирных кислот можно объяснить их разным сродством к альбумину, играющему роль переносчика, а также различием скоростей их использования внутри клетки. Но только в случае эруковой кислоты (см. дальше) структура жирной кислоты действительно играет, по-видимому, основную роль в регуляции метаболизма.

Транспорт СЖК через клеточную мембрану

В отличие от глюкозы транспорт СЖК через клеточную мембрану не включает в себя никаких стадий, чувствительных к действию гормонов; кроме того, он не ускоряется при аноксии [58]. Скорость транспорта меченых СЖК через сарколемму очень близка к скорости их транспорта через мембраны эндотелия капилляров, что позволяет предположить, что в обоих случаях транспорт через мембрану является простым физическим процессом диффузии [28]. Возможно, в ходе транспорта СЖК через мембрану эндотелия капилляров или клеток происходит диссоциация недиссоциированных молекул.

Внутриклеточные СЖК и внутриклеточный связывающий белок

Концентрация СЖК в кардиомиоцитах, полученная в прямых измерениях, оказывается существенно ниже, чем в крови [59]. Существует специальный внутриклеточный белок, который связывает свободные жирные кислоты и обладает высоким сродством к СЖК [58]. При внезапном увеличении совершаемой сердцем работы тканевое содержание СЖК резко падает, а скорость поглощения СЖК увеличивается, свидетельствуя о том, что концентрационный градиент, определяющий диффузию СЖК в клетки, устанавливается именно за счет понижения внутриклеточной концентрации СЖК. По-видимому, последовательность событий выглядит следующим образом:

СЖК, связанные с альбумином → свободные СЖК в крови → ионизованная форма проходит через мембраны капилляров и клеток → СЖК внутри клетки → некоторая часть СЖК активируется и метаболизируется, другая остается связанной с внутриклеточным связывающим белком.

Краткая характеристика внутриклеточных метаболических путей

Внутриклеточные процессы, связанные с окислением жирных кислот, представляют собой сложную систему (см. рис. 21.8), куда входят активация СЖК до ацил-СоА, перенос внемитохондриального ацил-СоА в митохондрии с участием карнитина, последующее освобождение ацил-СоА во внутримитохондриальное пространство с β -окислением до ацетил-СоА, который затем поступает в цикл лимонной кислоты для дальнейшего окисления. АТФ, синтезируемый в митохондриях, транспортируется в цитоплазму с помощью специального фермента транслоказы, который ингибируется при накоплении ацил-СоА, например, при ишемии. Активированные внутриклеточные СЖК (ацил-СоА), которые не подвергаются окислению, способны образовывать триглицериды.

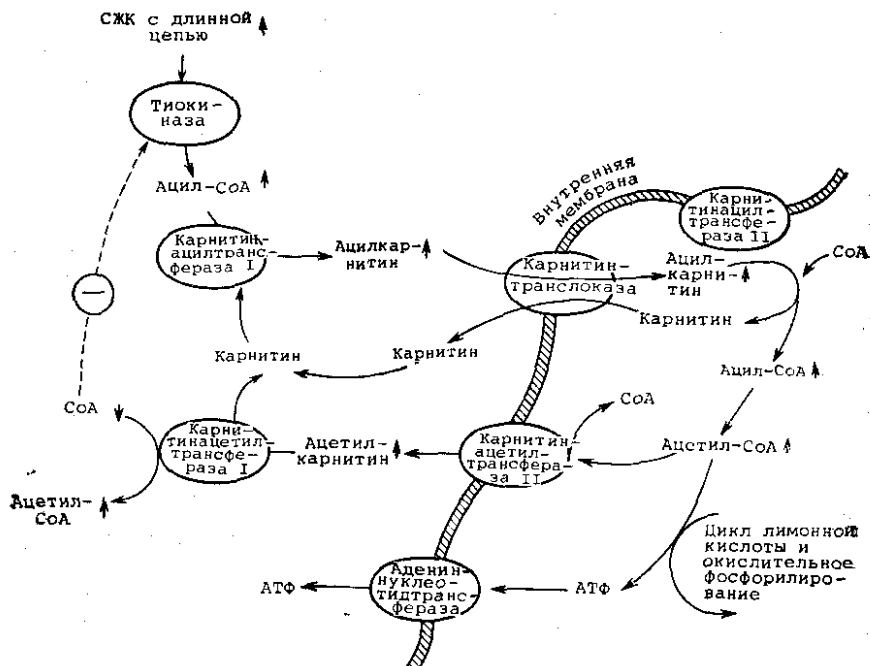
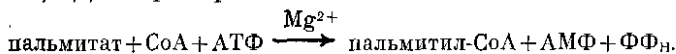


Рис. 21.6. Схема, демонстрирующая предполагаемые этапы транспорта ацил-СоА из цитоплазмы внутрь митохондрий.

Внутренняя мембрана представляет собой барьер проницаемости. К внутримитохондриальным ферментам относятся карнитинацилтрансфераза II, карнитинтрансфераза II (=карнитинацилкарнитинтрансфераза), карнинацетилтрансфераза II и адениннуклеотидтрансфераза. Эти ферменты необходимы для транспорта ацилкарнитина внутрь митохондрий, а карнитина, ацетилкарнитина и АТФ наружу. Считается, что ферменты карнитинацилтрансфераза I и карнинацетилтрансфераза I расположены на внешней стороне внутренней мембраны митохондрий. Два изофермента карнитинацилтрансферазы могут структурно прилегать к карнитинтрансферазе. Следует учесть, что существование двух изоферментов карнитинацетилтрансферазы окончательно не установлено. Предполагаемые реакции на повышение поступления свободных жирных кислот с кровью обозначены как увеличение (↑) или понижение (↓) концентрации промежуточных продуктов. (Займствовано с модификациями из работы [85].)

Активация СЖК внутри клетки

Внутри клетки СЖК могут быть активированы в ходе реакции, для которой необходимы АТФ, восстановленный СоА и Mg^{2+} (рис. 21.6). Для примера возьмем пальмитат:



Таким образом, длинно-цепочечная жирная кислота превращается в длинно-цепочечный ацил-СоА. Эта реакция теоретически обратима, но наличие фермента пирофосфатазы вызывает расщепление пирофосфата и эффективно устраняет обратимость реакции:

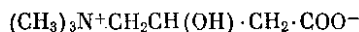


Таким образом, «если молекула вступила в эту реакцию, то она должна быть либо эстерифицирована, либо окислена» [28]. Ско-

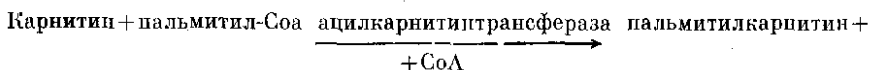
рость реакции снижается при накоплении ацил-СоА и АМФ, что может ограничивать скорость этого процесса при ишемии и апоксии соответственно. При увеличении поступления СЖК из циркулирующей крови концентрация СоА в миоплазме уменьшается в результате цепи реакций, в которой принимает участие карнитин. При повышении совершаемой сердцем работы активация цитратсинтетазы [60] превращает ацетил-СоА в цитрат и СоА. Повышение концентрации СоА способствует увеличению скорости активации жирных кислот, а значит и скорости поглощения СЖК, необходимых для питания миокарда [61].

Ацил-СоА и карнитин

Ацил-СоА метаболизируется двумя способами: путем транспорта внутрь митохондрий и путем образования триглицеридов и других глицеридов. Первый из этих механизмов зависит от карнитина, который представляет собой относительно простое соединение, широко распространенное в организме. По целому ряду свойств он напоминает витамин и имеет следующую структуру:



Таким образом, карнитин является γ -амино, β -гидроксипутириловой кислотой и в естественных условиях существует в форме (—). В чем заключается функция карнитина? Fritz [62] выдвинул фундаментальное предположение, что «наличие карнитина в мышце и в других тканях способно облегчать перенос жирных кислот с длинной цепью к ферментативно активным центрам для их окисления». Позднее было обнаружено, что карнитин может включаться в состав соединения пальмитилкарнитин (С16-ацилкарнитин), и для этой реакции не нужно ни АТФ, ни СоА (т. е., эта реакция принципиально отличается от активации жирных кислот). Карнитин реагирует с ацил-СоА в реакции, катализируемой ацилкарнитинтрансферазой. Например, в случае пальмитил-СоА:



Fritz и Yue [63] предположили далее, что «пальмитилкарнитин может служить переносчиком в процессе транспорта ацильной группы от ацил-СоА через барьеры митохондриальных мембран к системе окисления жирных кислот». Они предположили, что ацил-СоА существует в виде двух пулов: один — внутри митохондрий, другой — в цитоплазме. Пулы разделены барьером (им, как было установлено позднее, является внутренняя мембрана митохондрий), причем этот барьер проницаем для ацилкарнитина, а не для ацил-СоА. Предположения оказались исключительно точными. Кроме того, авторы предсказали, что должны существовать два разных фермента ацилтрансферазы, один из которых доступен для цитоплазматического пула ацил-СоА, который осуществляет регуляцию только что описанной реакции, а другой —

для ацил-СоА из внутримитохондриального пула, который регулирует скорость реакции:

Ацилкарнитин + СоА → внутримитохондриальный ацил-СоА + карнитин
или, используя пальмитат в качестве примера:

Пальмитилкарнитин + СоА → пальмитил-СоА + карнитин.

Позднее при помощи специфических антител было показано существование карнитинтрансфераз, расположенных соответственно на внешней стороне внутренней мембраны митохондрий (карнитинацилтрансфераза I) и на внутренней стороне мембраны (карнитинацилтрансфераза II, см. ссылки в работах Norpel и Tomes [64] и Корес и Fritz [65]). Активность этих ферментов вызывает освобождение карнитина в митохондриях.

Ramsey и Tubbs [66] использовали карнитин с двойной меткой и измерили скорости поглощения и выведения его в митохондриях кардиомиоцитов. Они получили отношение 1:1 и предположили существование обменного механизма карнитин-ацилкарнитин на внутренней мембране митохондрий. Pande [67], а также Pande и Parvin [68] описали систему карнитин-карнитинацилтранслоказы, расположенную на внутренней мембране митохондрий, свойства которой отличаются от свойств ацилтрансферазы.

Таким образом, исходя из схемы, представленной на рис. 21.6, можно сформулировать основные этапы этого процесса:

1. В результате активности тиокиназы происходит активация жирных кислот с образованием ацил-СоА в цитоплазме вне митохондрий.

2. Внемитохондриальный ацил-СоА превращается в ацилкарнитин за счет реакции, катализируемой карнитинацилтрансферазой I.

3. В результате активности карнитин-карнитинацилтранслоказы происходит перемещение ацилкарнитина в митохондрии.

4. Карнитинацилтрансфераза II катализирует реакцию между внутримитохондриальным ацилкарнитином и СоА, в ходе которой внутри митохондрий образуются ацил-СоА и карнитин.

5. Внутримитохондриальный ацил-СоА поступает в цикл окисления жирных кислот.

6. В результате активности карнитин-карнитинацилтранслоказы происходит перемещение карнитина из внутримитохондриального пространства в цитоплазму.

Вышеприведенная схема позволяет объяснить, как происходит превращение СЖК цитоплазмы в ацил-СоА внутри митохондрий. Следующей стадией является β-окисление, конечным продуктом которого является ацетил-СоА, поступающий в цикл лимонной кислоты. На этом уровне карнитин играет вспомогательную, менее существенную роль.

Ацетил-СоА и карнитин

Выдвинуто предположение, что перенос ацетил-карнитина через митохондриальную мембрану в любом направлении способ-

отсутствует уравниванию скорости активации жирных кислот в цитозоле со скоростью митохондриального окисления [69]. Поэтому в условиях избытка жирных кислот происходит повышение концентрации ацетил-СоА в митохондриях, что вызывает повышение концентрации ацетилкарнитина в цитозоле, приводя к ускоренному образованию ацетил-СоА в цитозоле и падению концентрации СоА. Скорость активации жирных кислот при этом уменьшается (эта последовательность событий показана на рис. 21.6). При ускорении митохондриального окисления, наблюдающемся, например, при повышении совершаемой сердцем работы, считается, что эта последовательность реакций меняет свое направление, и активация жирных кислот ускоряется.

Ингибирование адениннуклеотидтранслоказы под действием ацил-СоА

Pande и Blanchaer [70] совершили фундаментальное открытие, показав, что ацил-СоА способен мгновенно и обратимо ингибировать поступление АДФ в митохондрии из цитоплазмы, необходимое для осуществления окислительного фосфорилирования. Этот эффект вызывает ацил-СоА в очень низкой концентрации, порядка 2—4 мкмоль/л. Он отличается от других аналогичных ингибирующих эффектов ацил-СоА с длинной цепью, которые скорее всего обусловлены их действием в качестве детергентов. Ингибирующее действие ацил-СоА напоминает действие атрактилозида, хорошо известного ингибитора адениннуклеотидтранслоказы [71]. Группа исследователей под руководством Klingenberg описала, как работает адениннуклеотидтранслоказа, используя для этого понятие «двухсторонняя дверь на шарнирах», позволяющее АДФ входить в митохондрии и АТФ выходить из них (модель «пинг-понг»). Непрерывная работа такого механизма транслоказы играет существенную роль в поддержании энергетического метаболизма миокарда в норме.

В 1975 г. Shug с соавт. [72] показали, что при ишемии миокарда, вызванной окклюзией коронарной артерии сердца собаки, возникают два типа изменений: происходит накопление длинноцепочечных ацил-СоА и уменьшается активность адениннуклеотидтранслоказы. Физиологическое повышение содержания ацил-СоА в миокарде может быть достигнуто за счет перфузии сердца раствором, содержащим только СЖК [73, 74], путем добавления в перфузат кетоновых тел, в результате длительного голодания, а также при диабете, вызванном аллоксаном. И наоборот, если сердце получает углеводное питание в виде глюкозы с инсулином, то содержание ацил-СоА в миокарде снижается [73].

Наиболее важным в настоящее время вопросом, который был поставлен в последних работах Lochner с соавт. [75] и La Noue с соавт. [76], является патофизиологическое значение ингибирования транслоказы под действием ацил-СоА. Кроме того, неясно, нуждается ли модель транслоказы Klingenberg в модификации, так как результаты последних работ позволяют предположить, что

в миокарде происходит образование комплекса АТФ—АДФ — носитель [77], что противоречит выдвинутой ранее модели «пинг-понг» (вход АТФ, выход АДФ).

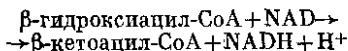
β-Окисление

В ходе β-окисления происходит превращение ацил-СоА в ацетил-СоА в результате прохождения через цикл окисления жирных кислот, в результате которого от карбоксильного (-СООН) конца цепи отщепляется двухуглеродный фрагмент, представляющий собой ацетил-СоА. Цикл окисления жирных кислот является основным механизмом β-окисления. Ферменты, катализирующие β-окисление, образуют мультиферментный комплекс с произвольной организацией, так что промежуточные продукты никогда не покидают этот комплекс, за исключением входа в цикл и выхода из него. Таким образом, продукты каждой отдельной реакции не покидают микросреды, образованной ферментативным комплексом, а просто замещаются поступающими вновь свежими субстратами данной реакции, а затем переходят к следующему ферменту [61]. К основным реакциям относятся:

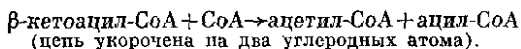
1. Отщепление от ацил-СоА двух атомов водорода с превращением FAD в FADH₂ и выходом α-, β-ненасыщенного ацил-СоА.

2. Восстановление гидроксильной группы в результате присоединения молекулы воды с образованием β-гидроксиацил-СоА.

3. Затем идет одна из основных реакций с участием дегидрогеназы, в ходе которой NAD⁺ превращается в NADH, а гидроксильная группа превращается в кетонную (аналогично образованию пирувата из лактата):



4. Наконец, β-кетоацил-СоА реагирует с СоА с отщеплением двух атомов углерода и образованием ацетил-СоА:



5. Укороченный ацил-СоА вновь поступает в реакцию 1 для прохождения следующего витка спирали.

При увеличении совершаемой сердцем работы происходит повышение уровня окисления в митохондриях (рис. 21.7) [60], а внутримитохондриальный уровень NADH₂, и возможно, FADH₂ снижается, что вызывает ускорение реакций 1 и 3; при этом происходит увеличение скорости оборота всего цикла окисления жирных кислот [74]. Считается, что в этом случае происходят следующие события: уменьшается содержание ацетил-СоА в митохондриях, падает концентрация ацетилкарнитина (который, вероятно, идет на замещение ацетил-СоА в митохондриях), концентрация карнитина повышается (по мере образования ацетил-СоА и ацетил-карнитина) и увеличивается тканевое содержание ацилкарнитина (цитозольная форма карнитина), что способствует ускорению транспорта ацил-СоА через митохондриальную мем-

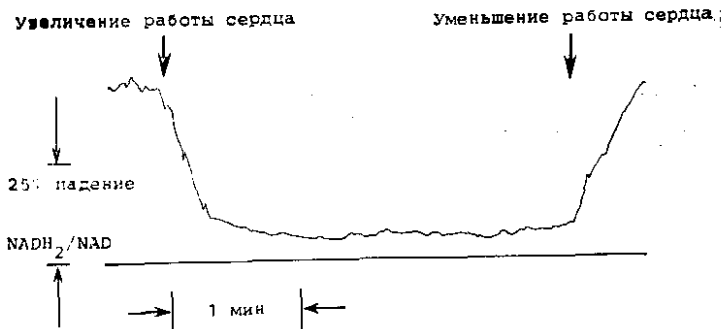


Рис. 21.7. Эффект увеличения работы, совершаемой изолированным сердцем крысы, проявляющийся в увеличении интенсивности флюоресценции, что соответствует повышению концентрации NAD или увеличению отношения $NAD/NADH_2$.

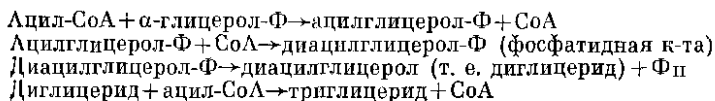
Условия подобраны таким образом, чтобы изменения флюоресценции отражали преимущественно изменения отношения $NAD/NADH_2$ в митохондриях. $NAD/NADH_2 = -NAD^+/(NADH) (H^+)$. (Займствовано с модификациями из работы [139].)

брану. Так как ацетилкарнитин в цитозоле образуется из ацетил-CoA, поэтому увеличивается содержание цитозольных форм CoA и ускоряется активация жирных кислот.

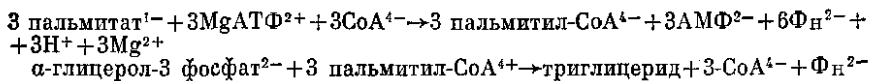
И, наоборот, при недостатке кислорода в митохондриях повышается концентрация $NADH_2$ [60], а также, вероятно, $FADH_2$. Основным нарушением метаболизма, по-видимому, является замедление β -окисления вследствие снижения скорости переноса электронов, а не замедление поглощения жирных кислот, их активации или переноса в митохондрии [78]. Следовательно, можно сделать вывод, что во время гипоксии или ишемии повышение концентрации $NADH_2$ происходит быстрее, чем концентрации $FADH_2$, поэтому скорость FAD-зависимой стадии цикла (реакция 1) превышает скорости NAD-зависимой стадии (реакция 3). Происходит накопление промежуточных продуктов метаболизма жирных кислот, включая водородсодержащие β -гидроксижирнокислотные соединения [78] и самого ацил-CoA. Эти данные позволяют предположить, что окисление β -гидроксиацил-CoA (реакция 3) является стадией, ограничивающей скорость β -окисления в миокарде при дефиците кислорода.

Образование триглицеридов и глицеридов

Триглицериды могут образовываться из ацил-CoA и α -глицерофосфата. Последний образуется в ходе гликолиза путем процесса этерификации, описываемого следующей последовательностью реакций:



Если записать суммарную реакцию образования триглицерида из СЖК с учетом коэффициентов, то мы получим [21]:



Более подробное описание ферментов, участвующих в реакции этерификации, дано в работе Монгоу с соавт. [79]. На каждый синтезированный моль триглицеридов в реакции образуются 3 протона, освобождающиеся на стадии активации жирных кислот. Теоретически при ишемии обмен триглицеридов может генерировать протоны, что в принципе неблагоприятно для миокарда (см. следующий раздел). Существенное повышение содержания триглицеридов в миокарде характерно для тяжелых форм экспериментального сахарного диабета, что скорее всего объясняется увеличением поглощения кетоновых тел из крови с одновременным угнетением окисления жирных кислот [54].

Липолиз в миокарде

Липолиз жиров в миокарде зависит от активности липаз, чувствительных к гормональным воздействиям (см. рис. 21.3). Когда сердце лишено притока энергетических веществ, происходит липолиз эндогенных триглицеридов, необходимый для обеспечения миокарда энергией [57]. Однако не все триглицериды могут быть использованы для этой цели, так как примерно $\frac{1}{5}$ их часть остается даже тогда, когда все запасы субстратов истощены. Для нормального сердца *in situ*, получающего достаточное количество субстратов, нет вообще никаких свидетельств в пользу того, что эндогенные липиды могут служить в качестве источников энергии, за исключением случая очень интенсивной нагрузки или длительного голодания. Имеются косвенные данные о существовании цикла «триглицериды — СЖК» (см. работу Орие [80] и Gevers [21]), интенсивность которого возрастает при аллоксановом диабете и при ишемии (см. рис. 21.3). Предполагаемые метаболические пути могут быть суммированы следующим образом:

Миокардиальные СЖК \rightarrow миокардиальный ацил-CoA \rightarrow ацил-CoA связывается с α -глицерофосфатом \rightarrow образуются глицериды (преимущественно триглицериды) \rightarrow триглицериды распадаются в результате активации липаз, чувствительных к катехоламинам \rightarrow миокардиальная форма глицерина и СЖК \rightarrow внемиокардиальная форма глицерина СЖК \rightarrow миокардиальные СЖК вновь связываются с миокардиальным α -глицерофосфатом, образующимся в результате гликолиза, для удаления триглицеридов из миокарда

В сердце существует несколько видов липаз [81], которые чувствительны к цАМФ [82], что позволяет объяснить дозозависимое усиление липолиза под действием катехоламинов [83]. Однако инсулин не блокирует вызванный катехоламинами липолиз в сердце, как это происходит в жировой ткани [82]. Нейтральная липаза ингибируется свободными жирными кислотами и ацил-CoA [84]; ингибирующие концентрации СЖК близки к тем, которые суще-

ствуют в нормальном миокарде [59], так что возможна физиологическая регуляция активности этой липазы конечным продуктом. Значение ингибирования липолиза под действием ацетил-СоА трудно оценить, так как для проявления эффекта необходимы высокие концентрации последнего (см. работу Орие [85]). Повышение активности липаз при аллоксановом диабете и при ишемии можно объяснить стимуляцией ацилкарнитином, концентрация которого также возрастает в этих условиях [84].

Липолиз может вызвать повышение содержания СЖК в миокардиальной ткани, что по своим проявлениям сходно с действием экзогенных СЖК. Такое предположение основано на том, что стимуляция эндогенного липолиза при действии адреналина повышает потребление миокардом кислорода точно так же, как это наблюдается при поступлении экзогенных СЖК [86]. Догадка о чувствительности системы липолиза к холинэргической стимуляции подтверждается тем, что после такой стимуляции наблюдается накопление триглицеридов [87].

«Токсичность» жирных кислот, ацилкарнитин и лизофосфолипиды

Oliver с соавт. [88] получили важные сведения о том, что у больных острым инфарктом миокарда с осложнениями более вероятно повышение уровня СЖК в крови, чем у других больных, и смертность, по-видимому, коррелирует с уровнем СЖК. В случае экспериментального инфаркта миокарда поглощение СЖК сохраняется, но его скорость снижается [89]. Значение такого продолжающегося поглощения СЖК состоит в том, что происходит накопление промежуточных форм СЖК, «питающих» те митохондрии, которые еще снабжаются кислородом [90, 91], что приводит к усилению тяжести ишемии.

Другими доказательствами «токсичности» жирных кислот служат: нарушение сердечного ритма [92], угнетение сократимости [93] и усиление освобождения ферментов (рис. 21.8) [94]. В некоторых препаратах «токсические» эффекты СЖК могут проявляться даже в присутствии кислорода [35]. Возникновение аритмий в результате «токсичности» жирных кислот оспаривается (Орие с соавт. [10]), так как большинство наблюдений получено при уровнях СЖК, значительно превышающих физиологические с исключительно высоким молярным отношением СЖК — альбумин (см. работу Орие [80]). В других системах «токсические» эффекты СЖК могут проявляться при физиологическом уровне жирных кислот (см. рис. 21.14). Давно известные биохимические данные относительно эффектов накопления ацил-СоА (обсуждаемые выше) позволяют дать довольно разумное объяснение «токсичности» жирных кислот, хотя недавно роль ингибирования митохондриальной транслоказы под действием ацил-СоА (см. рис. 21.14) была поставлена под сомнение, поэтому основное внимание стали уделять возможной роли ацилкарнитина. Способность карнитина влиять на ишемическое повреждение миокарда,

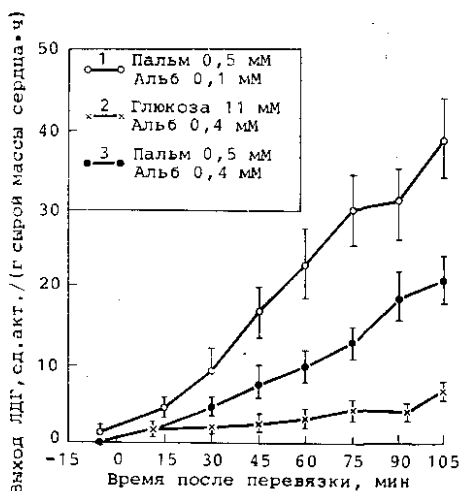


Рис. 21.8. Скорость выхода лактатдегидрогеназы (ЛДГ) из изолированного сокращающегося сердца крысы при окклюзии коронарной артерии через 15 мин после начала перфузии изолированного препарата.

Обратите внимание, что при перфузии сердца раствором, содержащим пальмитат, скорость выхода ЛДГ выше, чем при перфузии раствором, содержащим глюкозу; повышение концентрации альбумина в перфузате снижает скорость выхода ЛДГ из сердца, перфузируемого раствором, содержащим пальмитат; выход лактатдегидрогеназы происходит линейно во времени. (Данные заимствованы из работы [94].)

вероятно, зависит от уровня СЖК в крови, так как L-карнитин способен угнетать поглощение СЖК в случае умеренной ишемии миокарда, а также снижать уровень ацил-СоА [95].

Возможно участие ацилкарнитина. В нормальном миокарде цитоплазматическая концентрация этого промежуточного соединения очень низка и, согласно некоторым оценкам, равна 25 мкмоль/л [96], а в митохондриях его нет совсем. При ишемии его концентрация как в цитоплазме, так и в митохондриях возрастает приблизительно до 2000 мкмоль/л. Такой рост содержания ацилкарнитина значительно больше, чем увеличение концентрации ацил-СоА. Аналогично, при перфузии сердца раствором с высоким содержанием экзогенных СЖК, концентрация ацил-СоА с длинной цепью возрастает лишь в 1½ раза, а концентрация ацилкарнитина — почти в 4 раза [74]. Ацилкарнитин с длинной цепью ингибирует активность (Na⁺, K⁺)-АТФазы в концентрациях, которые вполне могут наблюдаться в ишемизированной ткани, и ингибирование выражено значительно сильнее, чем в случае эквивалентных количеств ацил-СоА [97]. Однако ацилкарнитин не обладает способностью ингибировать аденинтрианслоказу [70].

Лизофосфоглицериды являются мембранно-активными жирными кислотами, которые образуются при ишемии из фосфолипидов сарколеммы и других мембран. Метаболические пути и предполагаемые регуляторные сигналы при ишемии показаны на рис. 21.9. Особенно сильной аритмогенной активностью обладает накапливающийся при ишемии лизофосфотидилхолин (ЛФХ) [98, 99]. И хотя эти предположения не бесспорны, они хорошо аргументированы [99]. Если они справедливы, тогда аномальный цикл метаболизма липидов при ишемии может иметь следующий вид:

Ишемия → мембранные фосфолипиды → лизофосфоглицериды → усиление повреждений мембраны → усугубление тяжести ишемии

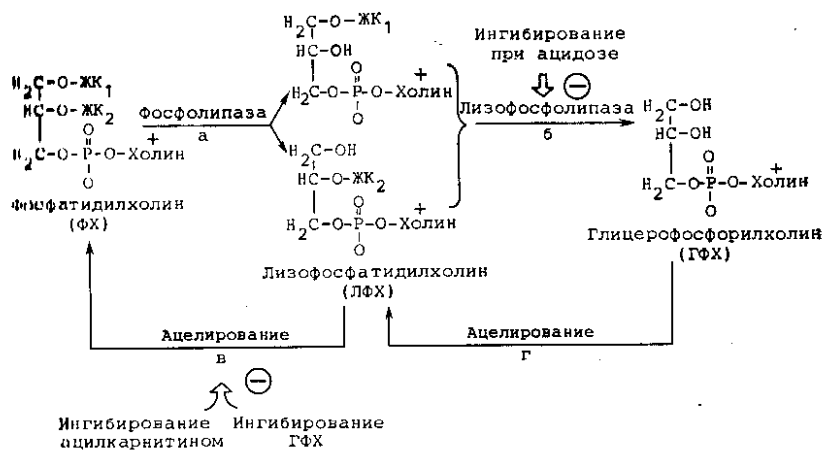


Рис. 21.9. Пути синтеза основных фосфолипидных соединений.

При ишемии возможно накопление лизофосфатидилхолина вследствие ингибирования лизофосфолипазы при ацидозе (б) и из-за того, что реакция (в) ингибируется при накоплении ацилкарнитина и глицерофосфорилхолина. (Займствовано с модификациями из работы [99].)

Свободные жирные кислоты: основные свойства

Свободные жирные кислоты в норме служат основным источником энергии миокарда, особенно при повышении частоты сердечных сокращений. Они могут также ингибировать метаболизм глюкозы. Метаболизм СЖК в свою очередь угнетается при высокой концентрации лактата в крови, например при физической нагрузке. Часть поглощенных СЖК, которые не подвергаются окислению, способны образовывать триглицериды и структурные липиды миокарда, которые отличаются от триглицеридов длиной гидрофобных цепей и степенью насыщения. Обычно в сердце не происходит синтеза липидов из глюкозы или других нелипидных соединений.

При ишемии наблюдается довольно сложная картина. Например, в первые часы острого инфаркта миокарда концентрация СЖК в крови может быть очень высокой [100]. Когда такой поток СЖК поступает к миокарду, скорость их поглощения превышает скорость использования (см. рис. 21.7) и происходит накопление промежуточных продуктов липидного обмена, таких, как внутриклеточные СЖК, ацил-СоА и ацилкарнитин. Эти изменения происходят независимо от эффекта собственно ишемии, выражающемся в угнетении поглощения СЖК (см. рис. 21.3) и снижении скорости СЖК в окислительные процессы, происходящие в ишемизированной ткани, по сравнению с глюкозой. По крайней мере накопление промежуточных продуктов липидного обмена является следствием угнетения липолиза эндогенных жиров (см. рис. 21.3). Точный механизм развития «токсического» эффекта этих промежуточных продуктов липидного обмена еще предстоит выяснить. Была

обнаружена аритмогенная активность накапливающихся лизофосфолипидов (являются продуктами распада фосфолипидов мембраны) [98, 99]. Таким образом, нарушение метаболизма жирных кислот может вносить существенный вклад в ишемическое повреждение миокарда (см. обзор Katz и Messineo, [102]).

КЕТОНОВЫЕ ТЕЛА

Нет никаких данных в пользу того, что кетоновые тела способны в каких-либо условиях играть роль основного субстрата для нормального сердца человека. После всасывания пищи или после чрезмерной нагрузки, когда концентрация кетонов в крови составляет около 0,1—0,3 мМ, поглощение кетонов позволяет объяснить лишь 2—9% полного поглощения кислорода миокардом в состоянии покоя, а при физической нагрузке — еще меньше [51, 103]. Даже у больных диабетом, которые 24 ч или более не получали инсулин, при повышенной частоте сердечного ритма кетоны обеспечивают лишь 10% окислительного метаболизма сердца [104]. Однако считается, что кетоны могут вносить существенный вклад в энергетический метаболизм сердца в случае кетозиса, развившегося вследствие диабета. Более того, при перфузии изолированного сердца раствором, содержащим кетоновые тела и СЖК, поглощаемые миокардом СЖК выводятся из окислительного метаболизма и поступают в систему образования триглицеридов [54]. При аноксии поглощаемый ацетоацетат превращается в β -гидроксибутират (см. рис. 21.2) [60]; однако это не было подтверждено на практике путем косвенной оценки скорости образования NADH в митохондриях при изучении состава крови, оттекающей в коронарный синус.

ЭНЕРГЕТИКА СЕРДЦА В НОРМЕ

Современные представления о метаболизме миокарда являются прямым следствием основополагающих работ Bing [49, 50], который впервые внедрил метод катетеризации коронарного синуса у человека. Изолированное сердце способно использовать в ходе энергетического метаболизма практически любой экзогенный субстрат. Однако поглощение аминокислот и кетоновых тел *in vivo* обычно ограничено очень низкой концентрацией этих соединений в крови; существует также «порог» концентрации глюкозы в крови, ниже которого глюкоза уже не поглощается миокардом. Поглощение глюкозы усиливается при гипергликемии и (или) при увеличении концентрации инсулина. Таким образом, в случае принудительного питания миокарда глюкозой в присутствии инсулина дыхательный коэффициент в миокарде приближается к 1, и углеводы становятся основными питательными веществами. При голодании основными питательными веществами становятся свободные жирные кислоты. Во время физической нагрузки, когда уровень лактата в крови велик, повышается утилизация лактата, и он становится наиболее важным энергетическим субстратом.

Кроме того, Lassers с соавт. [56] показали путем очень тщательных измерений, что метаболизм триглицеридов позволяет объяснить около 14% фонового поглощения кислорода сердцем человека.

Некоторые основные факторы, влияющие на поглощение субстратов, приведены в табл. 21.1. В первую очередь к ним относится спонтанное повышение концентрации СЖК в крови, происходящее при повышении нагрузки на сердце, которое приводит к ингибированию поглощения и окисления глюкозы. И наоборот, снижение уровня СЖК в крови при введении в кровь глюкозы и инсулина вызывает замедление окисления СЖК и ускорение окисления глюкозы. Ингибирующее действие жирных кислот на поглощение глюкозы и гликолиз влияет на некоторые стадии «цикла жирные кислоты — глюкоза», впервые описанного Randle и соавт. [105]; цикл регуляции замыкается эффектом, возникающим при введении в кровь глюкозы и инсулина и состоящим в снижении концентрации СЖК в крови, что приводит к угнетению поглощения миокардом свободных жирных кислот.

Образование NADH

Какой бы субстрат не поглощался из крови, поступающей по коронарным сосудам, существуют метаболические пути «упрощения» этого субстрата, в результате прохождения по которым он в конце концов превращается в ацетил-СоА, который может затем поступать в цикл лимонной кислоты. В ходе этого процесса проходит целый ряд реакций дегидрогенизации, при каждой из которых от субстрата отщепляется два протона и происходит восстановление NAD^+ до $(NADH + H^+)$, т. е. NAD^+ превращается в $NADH_2$. При дальнейших реакциях дегидрогенизации в цикле лимонной кислоты образуется дополнительное количество $NADH$. Происходит также восстановление FAD до $FADH_2$, но с количественной точки зрения этот процесс имеет существенно меньшее значение. Восстановительные эквиваленты $NADH_2$ ($NADH + H^+$) поступают затем в цепь переноса электронов, где образуется АТФ, и наконец, электроны переносятся на атомы кислорода, и образуется вода.

При образовании $NADH + H^+$ (или $FADH_2$) во внутримитохондриальном пространстве восстановительные эквиваленты легко передаются в цепь переноса электронов (расположена в митохондриях). Когда $NADH + H^+$ образуется вне митохондрий, необходимо наличие некоторого механизма транспорта его в митохондрии, в противном случае накопление $NADH + H^+$ в цитоплазме может ингибировать гликолиз (на уровне глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы) и поглощение лактата (так как для его преципации в пируват необходим NAD^+), в результате только водные жирные кислоты способны служить питательными веществами для миокарда. Образование $NADH$ в цитоплазме происходит в результате гликолиза на стадии, катализируемой

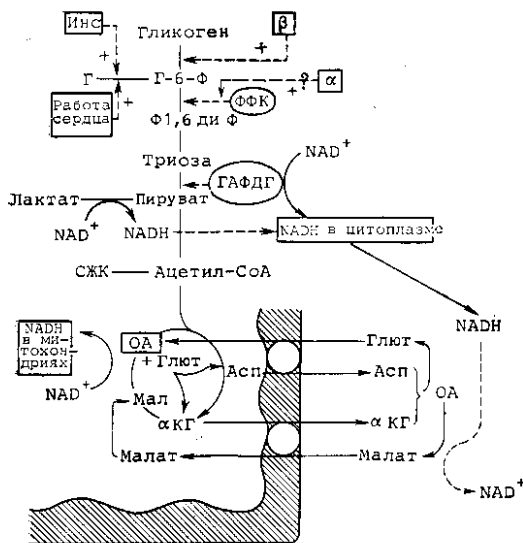


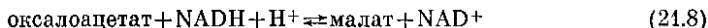
Рис. 21.10. Малат-аспартатный цикл.

ОАА — оксалоацетат; Глут — глутамат; Асп — аспартат; Мал — малат; αКГ — α-кетоглутарат. Другие сокращения см. в подписях к рис. 21.1. (Заимствовано из работы [140]).

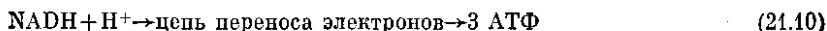
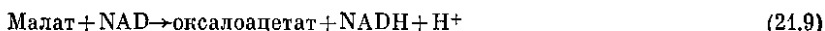
глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой или в ходе превращения поглощенного из крови лактата в пируват до его поступления в цепь окисления.

Малат-аспартатный челнок

В условиях окислительного метаболизма основным механизмом переноса NADH из цитоплазмы внутрь митохондрий является малат-аспартатный челнок (рис. 21.10). В анаэробных условиях лактат не поглощается и превращение пирувата в лактат в цитоплазме происходит за счет использования NADH, образованного в ходе гликолиза. Малат и оксалоацетат находятся как в цитоплазме, так и во внутримитохондриальном пространстве, то же можно сказать и о малатдегидрогеназе, ферменте, катализирующем взаимопревращение этих соединений:



При образовании NADH + H⁺ в ходе гликолиза в цитозоле происходит превращение оксалоацетата в малат с использованием NADH + H⁺ (при этом снова образуется NAD⁺, необходимый для гликолиза). Малат способен проходить во внутримитохондриальное пространство как часть комплексной транспортной системы, которая «экспортирует» α-кетоглутарат [106]. Попадая внутрь митохондрий, малат вновь превращается в оксалоацетат, который поступает в цикл лимонной кислоты; при этом снова образуется NADH₂ (NADH + H⁺), который доступен для цепи переноса электронов, так что на каждые два поступающих протона (H⁺) образуется три молекулы АТФ.

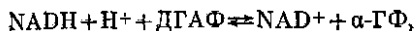


Внутри митохондрий оксалоацетат, образованный из малата, превращается в α -кетоглутарат и аспаргат с помощью аспаргат-малотрансферазы. α -Кетоглутарат покидает внутримитохондриальное пространство в обмен на малат, а аспаргат транспортируется из митохондрий [107] в обмен на поглощение глутамата. В предложенной недавно модели глутамат-аспаргатного обмена предполагается, что скорость обмена ограничивается скоростью транспорта отрицательно заряженного комплекса аспартата с носителем через митохондриальную мембрану, образующегося, когда глутамат покидает свое место связывания на носителе; простой механизм «пинг-понг» маловероятен [108]. Таким образом, ранее существовавшее представление о глутамат-аспаргатном «носителе со сцепленным противотранспортом» [109] дополняется «носителем с независимым перемещением». Попадая в цитоплазму, аспаргат реагирует с α -кетоглутаратом, в результате чего вновь образуются оксалоацетат и глутамат. Оксалоацетат снова поступает в реакцию 21.8, а глутамат перемещается внутрь митохондрий в обмен на аспаргат. В этом случае также предполагается существование системы со сцепленным противотранспортом.

Максимальная возможная скорость транспорта малата составляет 40—45 нмоль/мин/мг белка митохондрий, или около 4 мкмоль/мин/г сырой массы сердца [107, 110]. Когда необходимо поддерживать максимальную скорость окисления глюкозы даже в «работающем» изолированном сердце крысы в присутствии инсулина, скорость транспорта возрастает приблизительно в 2 раза (сравните данные Orie [10] с данными Puckett и Reddy [110]). Kobayashi и Neely [111] получили в своей модели приблизительно те же величины для максимального потока гликолиза: это означает, что максимальная способность малат-аспаргатной системы не накладывает ограничение на использование цитоплазматического NADH (см. рис. 21.2). Внеся изменения в перфузионную систему, Noakes [112] обнаружил, что максимальная скорость гликолиза составляет 5,5 мкмоль/(мин·г) сырой массы сердца, в отличие от 3,3 мкмоль/(мин·г) (данные Kobayashi и Neely [111]). Следовательно, максимальная скорость гликолиза в изолированном сердце, работающем с максимальной нагрузкой, превышает максимальную способность малат-аспаргатной системы, и поэтому необходимы дополнительные пути использования цитоплазматического NADH. Во-первых, в одной из ветвей гликолиза может образовываться лактат даже в аэробных условиях при очень высокой величине совершаемой сердцем работы, во-вторых, определенную α глицерофосфатного (α -ГФ) челнока:

Глицерофосфатный челнок

Во многих тканях одним из путей использования NADH в цитоплазме является поступление его в митохондрии с помощью α -глицерофосфатного (α -ГФ) челнока:



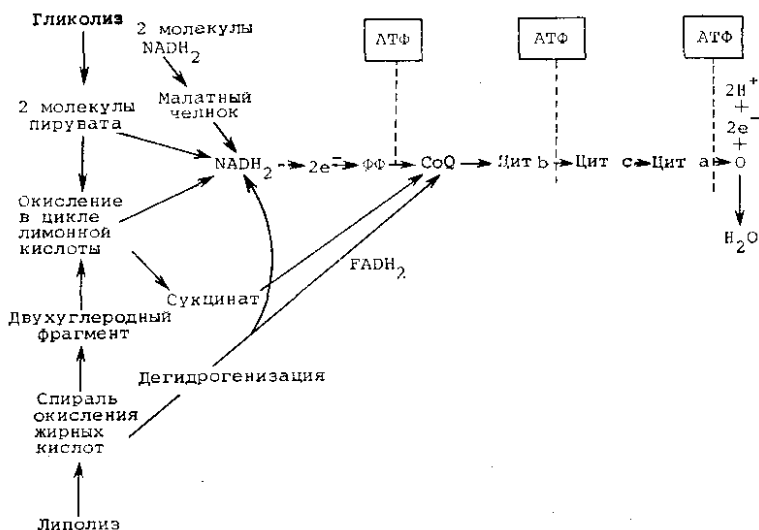


Рис. 21.11. Схема митохондриального аэробного метаболизма, сопровождающегося синтезом АТФ.

где ДГАФ — дигидроксиацетонфосфат. Эта реакция катализируется α -глицерофосфатдегидрогеназой. α -ГФ поступает в митохондрии, где окисляется α -глицерофосфатоксидазой. Здесь вновь образуется ДГАФ и FAD^+ восстанавливается до $FADH_2$; первый транспортируется из митохондрий в цитоплазму, второй поступает в дыхательную цепь (рис. 21.11). Довольно трудно оценить способность этой системы к транспорту $NADH_2$ в сердце, и общепринято, что основной системой транспорта $NADH$ является малат-аспартатная система. Такой вывод основан на том, что активность α -глицерофосфатдегидрогеназы очень низка [113].

Количество энергии, получаемое при использовании различных субстратов

При использовании глюкозы в качестве субстрата для гликолиза в полном цикле гликолиза используется энергия двух молекул АТФ и в результате синтезируется четыре молекулы АТФ, т. е. чистый выход составляет две молекулы. При использовании в качестве субстрата гликогена на одну молекулу глюкозы в ходе гликолиза синтезируется три молекулы АТФ. Важно отметить, что синтез АТФ в ходе гликолиза происходит каждый раз, когда гексозофосфат превращается в пируват, даже в реакциях окислительного метаболизма, когда пируват поступает затем в цикл лимонной кислоты через ацетил-СоА. Однако основным источником энергии при использовании глюкозы или гликогена является цикл лимонной кислоты, в ходе которого пируват окисляется до CO_2 с образованием $NADH$ внутри митохондрий.

Полное окисление одной молекулы лактата дает 18 молекул АТФ, из которых три молекулы образуются в результате синтеза NADH вне митохондрий при превращении лактата в пируват; остальные пятнадцать молекул АТФ являются результатом дальнейшего окисления пирувата.

Хотя пируват не играет существенной роли как энергетический субстрат в абсолютных величинах, основная часть энергии извлекается из глюкозы или лактата лишь после превращения их в пируват. Пируватдегидрогеназа катализирует образование одной молекулы NADH, которая затем служит для синтеза трех молекул АТФ; остальные 12 молекул синтезируются при одном обороте цикла лимонной кислоты.

Для активации жирных кислот необходима одна молекула АТФ на одну молекулу кислоты. Используя в качестве примера пальмитат, получаем, что за семь витков спирали окисления жирных кислот внутри митохондрии образуется $7\text{NADH}_2 = 7(\text{NADH} + \text{H}^+)$ и 7FADH . Из семи молекул NADH_2 образуется 21 молекула АТФ, из семи молекул FADH_2 — 14 АТФ. Наконец, из восьми ацетил-СоА получается 96 молекул АТФ (12 АТФ на одну молекулу ацетил-СоА, поступающую в цикл лимонной кислоты), так что при окислении одной молекулы пальмитата образуется 129 молекул АТФ.

Ацетоацетат, превращающийся в две молекулы ацетил-СоА, дает при полном окислении 24 молекулы АТФ. Однако при образовании ацетоацетил-СоА происходит превращение сукцинил-СоА в сукцинат, на что тратится энергия одной молекулы АТФ, поэтому суммарный выход энергии при окислении одной молекулы ацетоацетата составляет 23 молекулы АТФ. При использовании β -гидроксибутирата образуется дополнительно одна молекула NADH_2 ($=\text{NADH} + \text{H}^+$) в результате начальной дегидрогенизации до ацетоацетата и поэтому синтезируются дополнительно три молекулы АТФ, так что суммарный выход энергии составляет 26 молекул АТФ на одну молекулу β -гидроксибутирата.

Соотношение между окислением и фосфорилированием

Каждый вид энергетических субстратов миокарда при окислении обеспечивает фосфорилирование разных количеств АТФ на одну молекулу субстрата. Максимальный выход АТФ на одну молекулу субстрата получается при окислении жирной кислоты, например пальмитиновой. Молекулы жирных кислот содержат много кислорода и поэтому могут давать больше молекул АТФ на один атом углерода. Недостаток жирных кислот как источника питания состоит в том, что на каждую синтезированную молекулу АТФ необходимо затратить относительно большее количество кислорода. Экспериментально установлено, что если сердце использует только свободные жирные кислоты, то для производства того же количества АТФ, что и при окислении глюкозы, необходимо на 17% больше кислорода.

Объяснение такого относительно низкого выхода АТФ на одну поглощенную миокардом молекулу кислорода при окислении жирных кислот на молекулярном уровне состоит в том, что каждый виток спирали окисления жирных кислот дает $FADH_2$ и $NADH_2$ в разных количествах. $FADH_2$ затем поступает в дыхательную цепь вместе с $NADH_2$, но дает меньше АТФ. Это частично объясняет «потерю кислорода» при окислении жирных кислот. Кроме того, когда сердце получает жирные кислоты в избытке или когда невозможно полное окисление жирных кислот, например при ишемии, то при их окислении «теряется» еще больше кислорода по неизвестному пока механизму [91].

ВЛИЯНИЕ ПОВЫШЕНИЯ НАГРУЗКИ НА СЕРДЦЕ НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СУБСТРАТОВ

В принципе существуют два типа реакций основных субстратов (глюкоза или гликоген, лактат и свободные жирные кислоты) на увеличение совершаемой сердцем механической работы: во-первых, вследствие ускорения расщепления АТФ и фосфокреатина при увеличении совершаемой работы изменяется течение гликолиза и гликогенолиза; во-вторых, на поглощение и метаболизм лактата и на скорость окисления жирных кислот влияет увеличение отношения $NAD/NADH_2$ ($NAD^+/NADH + H^+$) в митохондриях, происходящее в свою очередь вследствие образования АДФ из АТФ. Таким образом, в основе обоих механизмов лежит изменение содержания в сердце макроэргических фосфатов при увеличении совершаемой сердцем работы. В ответ на физическую нагрузку проявляются также эффекты стимуляции метаболизма катехоламинами.

Поглощение лактата

Молекулярный механизм увеличения поглощения лактата при возрастании совершаемой сердцем работы не достаточно хорошо изучен. Увеличение поглощения лактата при физической нагрузке, по-видимому, является прямым следствием повышения концентрации лактата в циркулирующей крови. Другой возможный механизм состоит в том, что увеличение совершаемой сердцем работы стимулирует активность пируватдегидрогеназы, что ускоряет удаление продуктов реакции, катализируемой лактатдегидрогеназой и стимулирует превращение внутриклеточного лактата в пируват. Более полное извлечение из крови свободных жирных кислот влечет за собой уменьшение извлечения лактата вследствие ингибирования пируватдегидрогеназы. И наоборот, снижение уровня свободных жирных кислот в крови, наблюдающееся во время физической нагрузки, приводит к ослаблению ингибирования пируватдегидрогеназы и увеличению поглощения лактата.

Поглощение и окисление жирных кислот

Ускорение образования NAD^+ из $NADH_2$ ($NADH + H^+$) при увеличении совершаемой сердцем работы стимулирует цикл окисления жирных кислот, что в свою очередь способствует увеличению поглощения жирных кислот. Для поддержания поступления ацетил-СоА в митохондрии необходима постоянная активность карнитинового носителя для ацил-СоА. Один из возможных механизмов уменьшения содержания ацил-СоА в митохондриях состоит в повышении активности окисления жирных кислот [61]. В то же время для увеличения скорости активации жирных кислот необходим СоА, освобождающийся при распаде ацетил-СоА в цитоплазме, а возникающая при этом ацетильная группа образует ацетилкарнитин и таким образом поступает в митохондриальное пространство, поддерживая в нем содержание ацетил-СоА. Тиокишная реакция преимущественно стимулируется путем удаления ацил-СоА из цитоплазмы внутрь митохондрий и возврата освобождающегося в них СоА в цитоплазму [69].

Глюкоза и гликолиз

При увеличении совершаемой сердцем работы гликолиз ускоряется вследствие ускорения расщепления АТФ и фосфокреатина. Поступление глюкозы в миокардиальные клетки может увеличиваться в результате работы трех гипотетических механизмов: а) при увеличении совершаемой сердцем работы возможно повышение активности носителя глюкозы (возможно определенную роль при этом играет резкое падение содержания макроэргических фосфатов); б) после того как глюкоза попадает внутрь клетки, ее фосфорилирование, катализируемое гексокиназой, ускоряется благодаря более быстрому удалению глюкозо-6-фосфата вследствие ускорения гликолитических реакций; в) возможно влияние стимуляции α -рецепторов [114]. Распад гликогена ускоряется вследствие расщепления АТФ и фосфокреатина; такие продукты их расщепления, как АМФ и неорганический фосфат, прямо стимулируют активность фосфоорилазы-*b* (без превращения ее в фосфоорилазу-*a*, для которого необходимы катехоламины). Стимуляция самого гликолиза является следствием того, что высокий уровень АТФ и фосфокреатина в клетках обуславливает нормальное ингибирование фосфофруктокиназы, а продукты расщепления АТФ (АМФ и неорганический фосфат) стимулируют активность фосфофруктокиназы.

Эти результаты можно обобщить следующим образом: на повышение совершаемой сердцем работы реагируют все стадии процесса гликолиза, начиная от поступления субстратов в виде глюкозы или гликогена и кончая последней стадией гликолиза, катализируемой пируватдегидрогеназой. Во многих случаях метаблическим сигналом является образование продуктов распада АТФ и фосфокреатина. *In vivo* гликолиз ускоряется также при действии катехоламинов.

Стимуляция катехоламинами

Существует два типа реакций процесса гликолиза в миокарде на стимуляцию β -адренергических рецепторов. В первую очередь это ускорение хорошо изученной последовательности реакций, зависящих от ЦАМФ, что увеличивает скорость гликогенолиза с образованием большого количества молекул глюкозо-6-фосфата, которые в свою очередь превращаются во фруктозо-6-фосфат. При этом повышается концентрация субстрата для фосфофруктокиназы, поэтому скорость гликолиза возрастает. Одновременно происходит увеличение совершаемой сердцем работы вследствие инотропного эффекта катехоламинов, опосредованного стимуляцией β -адренорецепторов, что вызывает ускорение расщепления макроэргических фосфатов, поэтому активность фосфофруктокиназы еще больше возрастает. Недавно Clark с соавт. [114] было выдвинуто предположение о возможном участии в этом процессе стимуляции α -рецепторов. На основе результатов исследований с использованием α -агонистов (например, нафазолин) и антагонистов они предположили, что фосфофруктокиназа существует в менее активной форме b, которая превращается в форму a при стимуляции α -рецепторов с помощью Са-зависимого механизма. Поступление глюкозы также увеличивается при стимуляции α -адренорецепторов. В итоге это предположение означает, что наблюдаемые изменения скорости гликолиза, вызванные стимуляцией β -адренорецепторов, происходят раньше, а стимуляция α -адренорецепторов вызывает те же эффекты, но с некоторой задержкой. Эти новые предположения требуют дальнейшей проверки, но тем не менее они предлагают механизм длительного ускорения гликолиза при его стимуляции под действием катехоламинов. Сейчас настало время изучить вопрос о том, каково значение поддержания гликолиза для метаболизма миокарда.

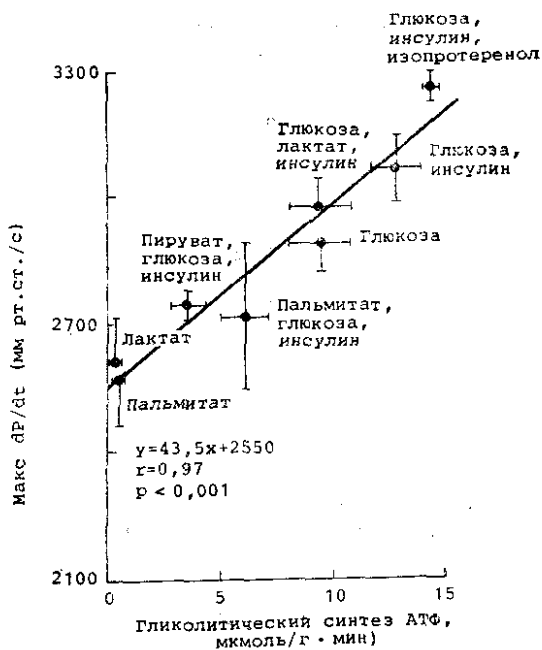
ПРОЦЕССЫ, ИСПОЛЬЗУЮЩИЕ ЭНЕРГИЮ ГЛИКОЛИЗА

Количество АТФ, синтезируемого в ходе гликолиза при нормальной оксигенации миокарда, настолько мало по сравнению с нормальной потребностью сердца в энергии, что им можно пренебречь. При ишемии миокарда происходит ускорение гликолиза глюкозы за счет эффекта Пастера в зонах с умеренной ишемией, но даже в этом случае скорость синтеза анаэробного АТФ существенно меньше по сравнению со скоростью синтеза АТФ в реакциях, использующих тот кислород, который все же поглощается миокардом (см. рис. 21.4). Тем не менее поддержание гликолиза в ишемизированном сердце позволяет уменьшить скорость выхода ферментов из миокарда [115, 116], предотвратить реперфузионные аритмии [115], поддержать нормальную длительность потенциала действия [117] и предотвратить развитие ишемической контрактуры [118]. При гипоксии ингибирование гликолиза усугубляет повреждение ультраструктуры [119], что согласуется с полученными ранее данными.

Рис. 21.12. График, показывающий хорошую линейную корреляцию между средней скоростью синтеза АТФ в миокарде в ходе гликолиза и средней максимальной скоростью расслабления левого желудочка ($\text{Max } dP/dt$) в сердце при перфузии.

Перфузия осуществляется растворами, содержащими восемь различных комбинаций субстратов. (Noakes и Орие, неопубликованные данные.)

Недавно было получено свидетельство в пользу того, что при хорошем снабжении сердца кислородом гликолиз может играть дополнительную роль, не считая того, что в ходе анаэробного гликолиза аккумулируется энергия в виде АТФ. Noakes [112] установил точные условия перфузии для достижения максимальной механической работы, совершаемой сердцем; развиваемая при этом мощность сердечных сокращений оказалась выше, чем сообщалось ранее (рис. 21.12). При изучении большого количества различных субстратов, включая комбинации глюкозы с инсулином, лактатом, кетоновыми телами, жирными кислотами, было получено, что скорость гликолитического потока коррелирует с максимальной скоростью расслабления (максимум отрицательного пика dP/dt), которая в свою очередь ограничивает максимальную величину работы, которую способно совершать сердце. Следовательно, можно предположить, что скорость гликолиза, по-видимому, связана со скоростью расслабления сердца в диастолу. Так как считается, что на молекулярном уровне расслабление определяется скоростью поглощения Ca^{2+} саркоплазматическим ретикулулом, не исключено, что гликолиз может играть определенную роль в обеспечении поступления АТФ в соответствующий микрокомпармент. И в случае ишемического миокарда также было предположено наличие связи между скоростью гликолиза и скоростью поглощения Ca^{2+} саркоплазматическим ретикулулом [115]. Entman с соавт. [120] представили данные о существовании комплекса ферментов гликогенолиза с саркоплазматическим ретикулулом. Они обнаружили, что в изолированных фрагментах саркоплазматического ретикулула характерная для него Са-аккумулирующая система взаимосвязана с рядом гликогенолитических ферментов. Они предположили, что мембрана саркоплазматическо-



го ретикулума в норме защищает гликогенолитический комплекс от влияния ионов Ca^{2+} , а происходящие на мембране изменения, например деполяризация, позволяют ионам Ca^{2+} воздействовать на этот комплекс, что в свою очередь ускоряет гликолиз. Их предположение означает, что поступление в цитоплазму ионов Ca^{2+} будет стимулировать гликолиз и гликогенолиз, а значит будет синтезироваться больше гликолитического АТФ. Экспериментальные данные позволяют предположить, что гликолиз ограничивает скорость поглощения Ca^{2+} , а значит и скорость расслабления сердечной мышцы.

Некоторые из вышеперечисленных результатов можно интерпретировать, используя представление о цитоплазматической компартментализации АТФ. Следовательно, стоит рассмотреть некоторые аспекты метаболизма макроэргических соединений в миокарде.

АТФ И ФОСФОКРЕАТИН

Первоначально считалось, что соотношения между АТФ и фосфокреатином (ФК) заключаются в том, что АТФ является непосредственным источником энергии для сокращения и других энергозависимых процессов, в то время как ФК служит энергетическим резервом. Позднее было выяснено, что ФК играет также роль «переносчика» энергии. Предполагают, что как только молекула АТФ выводится из митохондрии в результате транслокационной реакции (что уже обсуждалось в разделе, посвященном свободным жирным кислотам), то она немедленно передает свою энергию креатину с образованием ФК с помощью митохондриального изофермента креатинкиназы (=креатинфосфокиназа) [121, 122]. После этого ФК перемещается через цитоплазму в основном в соответствии с градиентом концентрации к местам использования энергии, где другой изофермент креатинкиназы освобождает макроэргический фосфат, необходимый для поддержания энергозависимых процессов:



Оценка данных в пользу существования изоферментов креатинкиназы приведена в другой работе [123].

Такая «транспортная роль» фосфокреатина ни в коей мере не исключает другой его функции, когда он используется в качестве энергетического резерва, особенно потому, что константа равновесия вышеприведенной реакции смещена в сторону образования АТФ. При длительной гипоксии наблюдается падение содержания в клетках как АТФ, так и фосфокреатина, причем сначала снижается уровень АТФ, а лишь затем наблюдается падение уровня ФК, который снижается относительно до более низких величин, так как ФК служит запасом энергии.

Продукты распада фосфокреатина

Креатин может способствовать образованию макроэргических фосфатов в митохондриях [124], скорее всего обеспечивая их аде-

новиндифосфатом, образующимся в результате реакции, катализируемой митохондриальным изоферментом креатинкиназы.

Неорганический фосфат может стимулировать гликолиз на уровне фосфофруктокиназы, так как этот регуляторный фермент ингибируется фосфокреатином (а также АТФ), и это ингибирование снимается неорганическим фосфатом [125]. Неорганический фосфат может также играть определенную роль в регуляции транспорта Ca^{2+} в клетки миокарда [126]. В условиях ацидоза неорганический фосфат способствует поглощению Ca^{2+} митохондриями, ускоряя, таким образом, поступление Ca^{2+} и, вероятно, усугубляя повреждение миокарда. В нормальных условиях неорганический фосфат ингибирует натриевый насос, повышая, таким образом, внутриклеточную концентрацию натрия и ускоряя $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обмен. Следовательно, при увеличении совершаемой сердцем работы, когда концентрация неорганического фосфата повышается по мере уменьшения концентрации фосфокреатина, выведение кальция может увеличиваться, чтобы уравновесить повышение входа кальция в клетки миокарда.

Эти результаты привлекают внимание исследователей к изменениям содержания макроэргических фосфатов, происходящих при увеличении совершаемой сердцем работы.

Работа сердца и макроэргические фосфаты

Существующая ранее путаница относительно влияния механической работы сердца на макроэргические фосфаты (см. работу Орие [123]) была разрешена в результате общепринятого соглашения, что скорость дыхания зависит от цитоплазматического фосфатного потенциала, определяемого отношением $[\text{АТФ}]/[\text{АДФ}][\text{F}_n]$ в цитоплазме [43]; 90% и более АТФ находится в цитоплазме, цитоплазматический уровень АДФ очень мал. Следовательно, отношение $[\text{АТФ}]/[\text{АДФ}]$ в цитоплазме в 200—300 раз больше, чем в митохондриях. В ходе увеличения работы, совершаемой сердцем, используется АТФ, находящийся в цитозоле, концентрация АДФ возрастает, что стимулирует митохондриальное дыхание в соответствии с классической концепцией. При резком увеличении совершаемой сердцем работы фосфокреатин играет роль энергетического резервуара [10, 25]. По мере повышения поглощения кислорода происходит восстановление концентрации фосфокреатина, поэтому даже при больших нагрузках общее содержание макроэргических фосфатов в миокарде мало изменяется несмотря на удвоение отношения $[\text{АТФ}]/[\text{АДФ}]$ в цитоплазме (подробнее см. работу Орие [123]). Основные положения этой концепции, основанной на теоретических расчетах, были подтверждены путем прямых измерений содержания аденинуклеотидов в митохондриях и цитоплазме клеток изолированного сокращающегося сердца морской свинки [127] методом центрифугирования лиофилизованного гомогената миокарда в градиенте плотности.

Регуляция энергетического метаболизма в ходе сердечного цикла

Одно из объяснений неудач при попытках обнаружить изменения общего тканевого содержания макроэргических фосфатов в миокардиальных препаратах состоит в том, что в сердце возможна регуляция их содержания в каждом цикле сокращения. Wollenberger с соавт. [128] первыми предположили, что тканевое содержание макроэргических фосфатов может изменяться в ходе сердечного цикла, причем фосфатный потенциал падает в начале систолы по мере использования АТФ. Однако эти данные, полученные на сердце лягушки, могут быть неприменимы для миокарда млекопитающих. Позднее группа исследователей под руководством Morgan [129], используя метод ядерного магнитного резонанса, обнаружили, что значительные изменения происходят и в изолированном сердце крысы. Небольшие изменения суммарного содержания макроэргических фосфатов могут означать наличие больших изменений фосфатного потенциала в цитоплазме. Следовательно, возможны циклические изменения поглощения кислорода митохондриями.

Сравнение метаболических эффектов при гипоксии и при увеличении совершаемой сердцем работы

Как при гипоксии, так и при увеличении совершаемой сердцем работы происходит ускорение расщепления макроэргических фосфатов. Так как для изучения метаболических эффектов увеличения совершаемой сердцем работы наиболее широко используется модель Neely с соавт. [11], которая состоит в перфузии изолированного сердца крысы физиологическим раствором, естественно возникает вопрос об адекватности снабжения миокарда кислородом в этих условиях. Выход лактата из сердца, наблюдаемый при такой нагрузке, скорее всего является следствием отсутствия лактата в перфузате. При гипоксии отношение $[NAD^+]/[NADH]$ в митохондриях сдвигается в сторону NADH, а при повышении совершаемой сердцем работы — в сторону NAD^+ [25, 60]. При гипоксии гексозомонофосфаты накапливаются, а при повышении работы сердца их содержание падает [10]. Результаты математического моделирования также указывают на различия между эффектами, наблюдаемыми при гипоксии и увеличении совершаемой сердцем работы [25]. Получены и другие важные доказательства того, что возможность гипоксии в такой экспериментальной модели исключена [10].

Компартментализация макроэргических фосфатов

Хорошо известно, что АТФ и АДФ, а также фосфокреатин располагаются в двух физически независимых компартментах: митохондриях и цитоплазме. Кроме того, предполагается наличие субкомпартментов, на что указывает расхождение между измене-

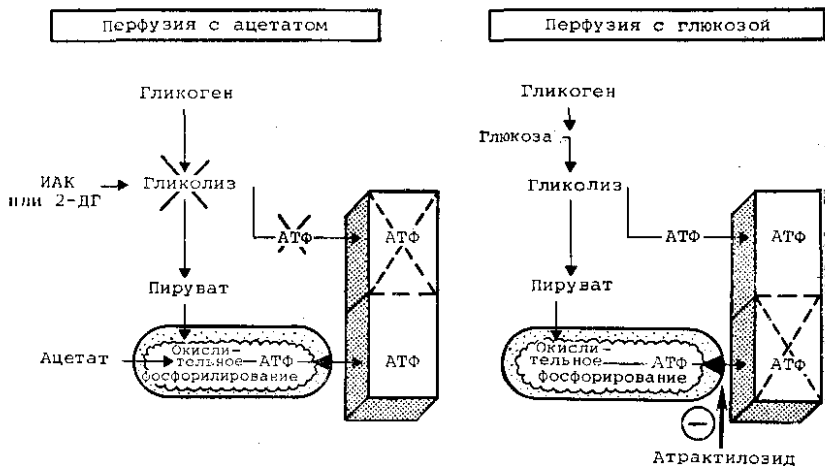


Рис. 21.13. Упрощенная схема метаболических путей, в ходе которых запасается энергия в виде АТФ, и мест, в которых происходит ингибирование этих путей.

ИАК — натриевая соль йодацетатной кислоты; 2-ДГ — 2-дезоксиглюкоза; АТФ — аденозинтрифосфат. Цитоплазматический компармент АТФ представлен в виде «ящика», его ячейки — это гипотетические субкомпарменты. Общее тканевое содержание АТФ складывается из АТФ в цитоплазме и АТФ в митохондриях. (а) Перфузия раствором, содержащим ацетат; (б) перфузия раствором, содержащим глюкозу. Предполагается, что ингибирование гликолиза в сердце, перфузируемом раствором, содержащим ацетат и йодацетат или дезоксиглюкозу, способствует развитию ишемической контрактуры, в то время как постоянная работа гликолиза при перфузии сердца раствором с глюкозой в случае ингибирования митохондриального метаболизма препятствует развитию ишемической контрактуры. (Займствовано из работы [118].)

ниями суммарного тканевого содержания АТФ (преимущественно в цитоплазме) и сопутствующими физиологическими явлениями, регуляцию которых нельзя объяснить равномерным распределением АТФ в цитоплазме. Например, может существовать пул «сократительного АТФ», который не находится в равновесии с общим тканевым (цитоплазматический) содержанием фосфокреатина [55, 123]. Определенная локализация зон, в которых происходит синтез АТФ за счет энергии фосфокреатина, скорее всего является следствием неравномерного распределения в цитоплазме изоферментов креатинфосфокиназы (обнаружен некоторыми, но не всеми исследователями). Такой механизм позволяет объяснить существование функциональной субкомпарментализации макроэргических фосфатов. В пользу гипотезы компарментализации свидетельствует также наличие связи между ускорением гликолиза и такими событиями, как уменьшение поступления ферментов из ткани и снижение ишемической контрактуры. Bricknell с соавт. [118] удалось показать, что при одинаковом тканевом содержании АТФ и фосфокреатина гликолиз более эффективно предотвращает ишемическую контрактуру, чем остаточное митохондриальное дыхание (рис. 21.13).

Ни один из приведенных выше аргументов не дает убедительного доказательства существования субкомпарментов АТФ в

цитоплазме. Существует гипотеза, заключающаяся в том, что митохондриальный АТФ не имеет свободного доступа к митохондриальной креатинкиназе (это было постулировано В. А. Саксом с соавт. [122]), поэтому все изоферменты креатинкиназы участвуют в поддержании равновесия между митохондриальным пулом АТФ и фосфокреатином [130]. Такой подход предполагает наличие классической «резервной» функции фосфокреатина и то, что сведения об изменении сократительной активности передаются в митохондрии через изменения отношения концентраций фосфокреатина и креатина, а также содержание неорганического фосфата. В настоящее время эта точка зрения считается менее предпочтительной, чем гипотеза субкомпартментализации АТФ.

АТФ и ишемическое повреждение

Многие исследователи, изучая различные виды повреждения клеток миокарда, пришли к выводу, что степень уменьшения общего содержания АТФ в ткани является показателем того, способны ли клетки восстановиться при устранении повреждающего воздействия или нет. Например, Kubler и Spieckermann [15] обнаружили, что при остановке сердца в результате ишемии при 15 °С содержание АТФ в миокарде падает ниже 3,5 мкмоль/г сырой массы ткани, прекращается выход из миокарда лактата вследствие отсутствия АТФ для превращения фруктозо-6-фосфата во фруктозо-1,6-дифосфат (реакция, катализируемая фосфофруктокиназой) и что этот уровень АТФ является теоретическим пределом для ишемии миокарда, при котором ишемия еще «переносима». (Под переносимостью они подразумевают способность к восстановлению адекватной функции миокарда при повышении температуры сердца.)

Nease [131] показал, что существует аналогичный предельный уровень АТФ для восстановления функции сердца после тотальной ишемии, вызываемой пережатием аорты. Truip [132, 133] сообщил, что уменьшение уровня АТФ в ходе развития клеточного повреждения может коррелировать с развитием набухания митохондрий. Однако Gudbjarnason с соавт. [134] обнаружили, что после перевязки коронарной артерии сердца собаки уровень АТФ в зоне, не подверженной инфаркту, может снижаться до 1,5—2,0 мкмоль/г, тем не менее сердце сохраняет способность сокращаться и выживает. Возможно, результаты исследования Truip с соавт. [133] на опухолевых клетках Эрлиха нельзя непосредственно переносить на миокард.

Изучение ишемии ясно показало, что уровень фосфокреатина снижается раньше, чем АТФ, и что не имеет смысла предполагать существование некоторой корреляции между выживаемостью или гибелью клеток и наличием или отсутствием АТФ (рассматривают крайние случаи), а следовательно, и корреляции между отсутствием АТФ и необратимостью повреждения. Легко показать, что когда гликолиз в миокарде ингибирован, как в исследованиях Haworth с соавт. [35], первостепенную роль начинает

измерить общее содержание АТФ, а не его синтез в ходе гликолиза. Таким образом, данные, полученные при изучении ишемических клеток, не опровергают концепцию компартиментализации АТФ.

РЕАКЦИИ МИТОХОНДРИЙ НА СОВЕРШАЕМУЮ СЕРДЦЕМ РАБОТУ

Повышение скорости распада АТФ в цитоплазме приводит к ускорению переноса АДФ в митохондрии, окислительного фосфорилирования, превращения NADH_2 ($\text{NADH} + \text{H}^+$) в NAD^+ и цикла лимонной кислоты. Одновременно изменение уровня аденин-нуклеотидов и Mg^{2+} в цитоплазме интенсифицирует гликолиз, поэтому соответственно ускоряется работа малат-аспаратной челочной системы (рис. 21.14). Считается, что при этом происходят также еще два типа реакций: укорочение цикла лимонной кислоты и анаэротические реакции.

Укорочение цикла лимонной кислоты

Активность цикла лимонной кислоты в сердце крысы может быть резко увеличена вследствие общего всплеска метаболической активности, например при замене глюкозы на ацетат в качестве основного питательного вещества [136] или когда после истощения запасов субстратов в миокарде в перфузионный раствор добавляют глюкозу и инсулин [43]. При таких условиях хотя они и не являются физиологическими, легко показать, что цикл лимонной кислоты может быть разделен на два этапа. Первый этап, от ацетил-СоА до α -кетоглутарата, по-прежнему регулируется цитратсинтетазой, а второй этап, от α -кетоглутарата до оксалоацетата, регулируется α -кетоглутаратдегидрогеназой. Когда в результате избыточного поступления глюкозы и инсулина внезапно образуется ацетил-СоА в большом количестве, второй участок

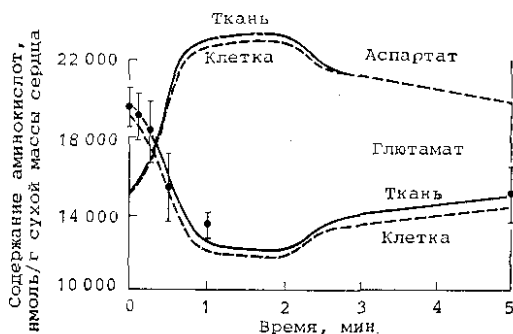


Рис. 21.14. Скорость изменения тканевого содержания глутамата и аспартата при резком увеличении работы, совершаемой сердцем.

Процесс, по видимому, отражает использование глутамата в анаэротической реакции, которая позволяет «восполнить» митохондриальное содержание оксалоацетата (см. рис. 21.10). Точками на графике отмечено среднее значение \pm стандартная ошибка. Кривые получены в результате математического расчета потока субстратов. (Займствовано из работы [23].)

цикла шунтируется, и цикл укорачивается. Скорее всего при хроническом увеличении совершаемой сердцем работы такого укорочения цикла может не происходить, так как в этом случае основным моментом, определяющим работу цикла, является удаление из него NADH_2 , а не поступление ацетил- CoA . Однако проведенное Garfinkel математическое моделирование [32] показывает, что в момент увеличения работы, совершаемой сердцем, активность α -кетоглютаратдегидрогеназы (и изоцитратдегидрогеназы) возрастает в большей степени, чем активность цитратсинтетазы. По-видимому, это обусловлено тем, что ингибирование α -кетоглютаратдегидрогеназы устраняется при внезапном уменьшении уровня NADH_2 . Следовательно, в начальный момент работы сердца с повышенной мощностью может происходить укорочение цикла лимонной кислоты.

Трансаминирование с целью пополнения запаса промежуточных продуктов цикла лимонной кислоты

При внезапном ускорении цикла лимонной кислоты вследствие резкого повышения нагрузки на сердце и недостатка образования достаточного количества ацетил- CoA в ходе гликолиза или липолиза, для образования промежуточных продуктов цикла лимонной кислоты могут использоваться миокардиальные запасы аминокислот за счет реакции трансаминирования [137]. Такие реакции, «пополняющие» запасы промежуточных продуктов цикла лимонной кислоты, являются анаэробными реакциями (см. рис. 21.14). Потенциальную эффективность такого механизма можно оценить, если сравнить содержание аспартата (около 5 $\mu\text{моль/г}$ сырой массы [43]) с митохондриальной концентрацией оксалоацетата, которая в работающем сердце считается приблизительно равной 100 нмоль/г [60]. Таким образом, для восполнения запаса оксалоацетата в митохондриях необходимо очень небольшое количество аспартата. С другой стороны, максимальная скорость цикла лимонной кислоты составляет около 10 $\mu\text{моль/г}$ сырой массы/мин, а скорость уменьшения тканевого содержания аспартата не превышает 1,7 $\mu\text{моль/г}$ сырой массы/мин [43]. Поэтому аспартат не способен длительное время поддерживать высокую постоянную скорость цикла лимонной кислоты, для которого необходимо поступление ацетил- CoA в результате гликолиза или метаболизма жирных кислот.

ВЫВОДЫ

Высокая скорость образования энергии в миокарде необходима для удовлетворения постоянной потребности сердца в АТФ, расходуемого преимущественно в ходе процесса сокращения, а также на поддержание градиентов ионов и на другие метаболические функции. Постоянное поступление кислорода к кардиомиоцитам обеспечивается путем регуляции коронарного кровотока, который оказывается недостаточным при атеросклерозе коронарных сосудов или при развитии их спазма. Коронарный кровоток обеспе-

чивает также необходимое поступление экзогенных субстратов: глюкозы, лактата и свободных жирных кислот. Сложный механизм поглощения глюкозы кардиомиоцитами чувствителен к гормональной регуляции инсулином и агонистами α -рецепторов, а также реагирует на количество поступающего к миокарду кислорода, которое в свою очередь влияет на уровень макроэргических соединений. При аноксии тканевое содержание АТФ и фосфокреатина уменьшается, а поглощение глюкозы, распад гликогена и анаэробный гликолиз увеличиваются.

Исключая трансмембранное поглощение свободных жирных кислот, которое осуществляется в соответствии с градиентом концентрации, все другие реакции окисления СЖК представляют собой довольно сложные процессы. После активации жирной кислоты происходит образование ацилкарнитина, который при помощи специального механизма транспортируется во внутримитохондриальное пространство, где вновь образуется ацил-СоА. Последний поступает в цикл окисления жирных кислот, на выходе которого образуются молекулы ацетил-СоА, причем на каждую такую молекулу освобождается два протона, присоединяющиеся к FAD и NAD, образуя FADH₂ и NADH₂ (т. е. NADH+H⁺). Ацетил-СоА подвергается дальнейшему окислению в цикле Кребса, при этом в большом количестве образуется NADH₂. NADH₂ и FADH₂ окисляются в цепи транспорта электронов и обеспечивают синтез трех и двух молекул АТФ соответственно. Общий выход энергии на одну молекулу С16-СЖК составляет 129 АТФ. Эта величина существенно больше, чем та, которая получается при анаэробном окислении глюкозы (три молекулы АТФ на молекулу глюкозы), но преимущество последнего возникает за счет низкой величины отношения фосфорилирование — окисление. Следовательно, окисление жирных кислот довольно «расточительно» в смысле потребления кислорода. При очень высокой концентрации СЖК в крови и при высокой скорости их поглощения запускается еще один механизм, усугубляющий потерю кислорода, детали которого пока плохо понятны.

При ишемии миокарда скорость поглощения свободных жирных кислот уменьшается по мере угнетения митохондриального окисления. Вероятно, первым этапом в этой последовательности реакций является накопление NADH₂ в митохондриях, что приводит к ингибированию окисления одного из промежуточных продуктов спирали окисления жирных кислот β -гидроксиацил-СоА, что позволяет объяснить накопление ацил-СоА, ацилкарнитина и СЖК внутри клеток при ишемии. Предполагается, что каждый из этих метаболитов усугубляет неблагоприятные изменения в миокардиальных клетках, возникающие в начале ишемии. К другим потенциально вредоносным эффектам изменения метаболизма липидов при ишемии относится образование аномальных мембранных фосфолипидов, которые могут оказывать аритмогенное действие.

При увеличении работы, совершаемой сердцем, происходит ускорение гликолиза, но отношение $[NADH_2]/[NAD]$ в митохонд-

риях падает (т. е. повышается концентрация NAD^+), а при аноксии или ишемии наблюдается обратное явление. Увеличение митохондриального отношения $[\text{NAD}]/[\text{NADH}_2]$ вызывает ускорение работы цикла лимонной кислоты, повышение активности пируватдегидрогеназы, активности цикла окисления жирных кислот и, наконец, скорости активации жирных кислот. Ускорение гликолиза приводит к повышению концентрации NADH_2 в цитоплазме, для использования которого необходимо увеличение скорости малат-аспартатного цикла. Благодаря дополнительным регуляторным механизмам может также ускориться поглощение трех «основных субстратов»: глюкозы, лактата и СЖК. Какой из этих субстратов становится основным питательным веществом для миокарда, определяется конкретными физиологическими условиями.

Стимулом увеличения образования NAD^+ в митохондриях при увеличении совершаемой сердцем работы, вероятно, является ускорение образования АДФ из АТФ в цитоплазме, которое управляет митохондриальным дыханием. В настоящее время исследователи склоняются к точке зрения, что АТФ компартиментализован не только между митохондриями и цитоплазмой, причем большая часть находится в последней, но в цитоплазме существуют также субкомпарменты АТФ, возникающие вследствие неравномерного распределения изоферментов креатинкиназы. В соответствии с этой точкой зрения синтезируемые в митохондриях молекулы АТФ выводятся в цитоплазму с помощью транслоказы, а затем быстро отдают свою энергию для образования фосфокреатина; последний играет роль переносчика макроэргической фосфатной связи к конкретным зонам использования энергии в цитоплазме, где происходит ее использование в виде АТФ, концентрация которого восполняется за счет энергии фосфокреатина. Еще одним свидетельством в пользу существования цитоплазматических субкомпарментов АТФ служит участие гликолиза в защите миокарда от ишемического повреждения и ишемической контрактуры. Заслуживают также внимания и альтернативные точки зрения. Выдвинуто предположение, что при ишемическом повреждении существует взаимосвязь между степенью падения общего тканевого содержания АТФ и необратимостью повреждения. Однако большинство данных может быть интерпретировано в пользу наличия субкомпарментов АТФ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Locke F. S., Rosenheim O.* Contributions to the physiology of the isolated heart: the consumption of dextrose by mammalian cardiac muscle. — *Physiol.* (Lond.), 1907, vol. 36, p. 205—220.
2. *Knowlton F. P., Starling E. H.* The influence of variations of temperature and blood-pressure on the performance of the isolated mammalian heart. — *J. Physiol.*, 1912, vol. 45, p. 146—163.
3. *Evans C. L.* The effect of glucose on the gaseous metabolism of the isolated mammalian heart. — *J. Physiol.*, 1914, vol. 47, p. 407—418.
4. *Cruickshank E. W. H., Kosterlitz H. W.* Utilization of fat by aglycaemic mammalian heart. — *J. Physiol.*, 1941, vol. 99, p. 208.

5. *Morgan H. E., Neely J. R., Brineaux J. P., Park C. R.* Regulation of glucose transport. — In: *Control of energy metabolism*/Ed. B. Chance, R. W. Estabrook, J. R. Williamson. New York: Academic, 1965, p. 347—355.
6. *Fisher R. B., Zacchariah P.* The mechanism of the uptake of sugar by the rat heart and the action in insulin on this mechanism. — *J. Physiol.*, 1961, vol. 158, p. 73—85.
7. *Park C. R., Reinwein D., Henderson M. J., Cadenas E., Morgan H. E.* The action of insulin on the transport of glucose through the cell membrane. — *Am. J. Med.*, 1959, vol. 26, p. 674—684.
8. *Randle P. J., Morgan H. E.* Regulation of glucose uptake by muscle. — *Vitam. Horm.*, 1962, vol. 20, p. 199—243.
9. *Gerards P., Graf W., Kammermeier H.* Glucose transfer studies in isolated cardiocytes of adult rats. — *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1982, vol. 14, p. 141—149.
10. *Opie L. H., Norris R. M., Thomas M., Holland A. J., Owen P., Van Noordden S.* Failure of high concentrations of free fatty acids to provoke arrhythmias in experimental myocardial infarction. — *Lancet*, 1971, vol. 1, p. 818—822.
11. *Neely J. R., Liebermeister H., Battersby E. J., Morgan H. E.* Effects of pressure development of oxygen consumption by isolated rat heart. — *Am. J. Physiol.*, 1967, vol. 212, p. 804—814.
12. *Randle P. J., Smith G. H.* Regulation of glucose uptake by muscle. I. The effects of insulin, anaerobiosis and cell poisons on the uptake of glucose and release of potassium by isolated rat diaphragm. — *Biochem. J.*, 1958, vol. 70, p. 490—500.
13. *Pasteur L.* Etudes sur la Biere. Paris: Gauthier-Villars, 1876.
14. *Hofmann E.* The significance of phosphofructokinase in the regulation of carbohydrate metabolism. — *Rev. Physiol. Biochemistry Pharmacol.*, 1976, vol. 75, p. 2—68.
15. *Kubler W., Spieckermann P. G.* Regulation of glucolysis in the ischemic and the anoxic myocardium. — *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1970, vol. 1, p. 351—357.
16. *Williamson J. R.* Glycolytic control mechanisms. II. Kinetics of intermediate changes during the aerobic-anoxic transition in perfused rat heart. — *J. Biol. Chem.*, 1966, vol. 241, p. 5026—5036.
17. *Neely J. R., Whitmer J. T., Rovetto M. J.* Inhibition of glycolysis in hearts during ischemic perfusion. — In: *Recent advances in studies on cardiac structure and metabolism*. Baltimore, Maryland: University Park Press, 1976, vol. 1, p. 243—248.
18. *Mochizuki S., Neely J. R.* Control of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in cardiac muscle. — *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1979, vol. 11, p. 221—236.
19. *Rovetto M. J., Lamberton W. F., Neely J. R.* Mechanism of glycolytic inhibition in ischemic rat hearts. — *Circ. Res.*, 1975, vol. 37, p. 742—751.
20. *Apstein C. S., Deckelbaum L., Mueller M., Hagopian L., Hood W. B. Jr.* Graded global ischemia and reperfusion: cardiac function and lactate metabolism. — *Circulation*, 1977, vol. 55, p. 864—872.
21. *Gevers W.* Generation of protons by metabolic processes in heart cells. — *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1977, vol. 9, p. 867—874.
22. *Miller T. B.* A dual role for insulin in the regulation of cardiac glycogen synthase. — *J. Biol. Chem.*, 1978, vol. 253, p. 5339—5394.
23. *Morgan H. E., Parmeggiani A.* Regulation of glycogenolysis in muscle. III. Control of muscle glycogen phosphorylase activity. — *J. Biol. Chem.*, 1964, vol. 239, p. 2440—2445.
24. *Evans C. L., Grande F., Hsu F. Y.* Two simple heart-oxygenator circuits for blood-fed hearts. — *Q. J. Exp. Physiol.*, 1934, vol. 24, p. 283—287.
25. *Achs M. J., Garfinkel D., Opie L. H.* Computer simulation of metabolism of glucose-perfused rat heart in a work-jump. — *Am. J. Physiol.*, 1982, vol. 243, p. R389—R399.
26. *Drake A. J., Papadoyannis D. E., Butcher R. G., Stubbs J., Noble M. I. M.* Inhibition of glycolysis in denervated dog heart. — *Circ. Res.*, 1980, vol. 47, p. 338—345.

Глава 22

НЕЙРОГУМОРАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РАБОТЫ СЕРДЦА

М. Н. ЛЕВИ, П. Ю. МАРТИН (M. N. LEVY, P. Y. MARTIN)

ВВЕДЕНИЕ

Оба отдела вегетативной нервной системы оказывают регуляторное влияние на различные структурные образования сердца. Симпатический отдел стимулирует деятельность сердца, а парасимпатический — угнетает. Центральная нервная система контролирует относительные уровни активности симпатического и парасимпатического отделов, обычно по механизму обратной связи, так что при увеличении симпатической активности активность парасимпатической нервной системы обычно снижается и наоборот. В некоторых отделах сердца, например в узловой ткани, парасимпатические эффекты преобладают над симпатическими. Однако в других участках, например в миокарде желудочков, влияние симпатического отдела обычно выражено значительно сильнее, чем парасимпатического. При одновременной активации обоих отделов эффекты симпатической и парасимпатической нервных систем не складываются простым алгебраическим способом, и взаимодействие их эффектов нельзя выразить линейной зависимостью.

Эти и другие свойства нейрогуморальной регуляции работы сердца детально описаны в данной главе. За последние 10 лет по этому вопросу было опубликовано несколько подробных обзоров [1—7].

АНАТОМИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ СЕРДЦА

Между животными различных видов имеются существенные отличия в распределении эфферентных вегетативных нервных волокон в сердце. Анатомия нервной системы сердца наиболее интенсивно изучалась на собаках. Схематическое изображение иннервации сердца собаки показано на рис. 22.1.

Тела преганглионарных нейронов симпатических волокон, идущих к сердцу, располагаются в интермедиолатеральных столбах первых пяти—шести грудных сегментов спинного мозга [8]. Аксоны преганглионарных нейронов выходят из спинного мозга в составе белых соединительных ветвей и проходят в околопозвоночные симпатические стволы. У собаки большинство преганглионарных волокон входят в звездчатый ганглий, находящийся в верхней части околопозвоночных симпатических стволы. Затем они продолжают в составе подключичного ствола и образуют си-

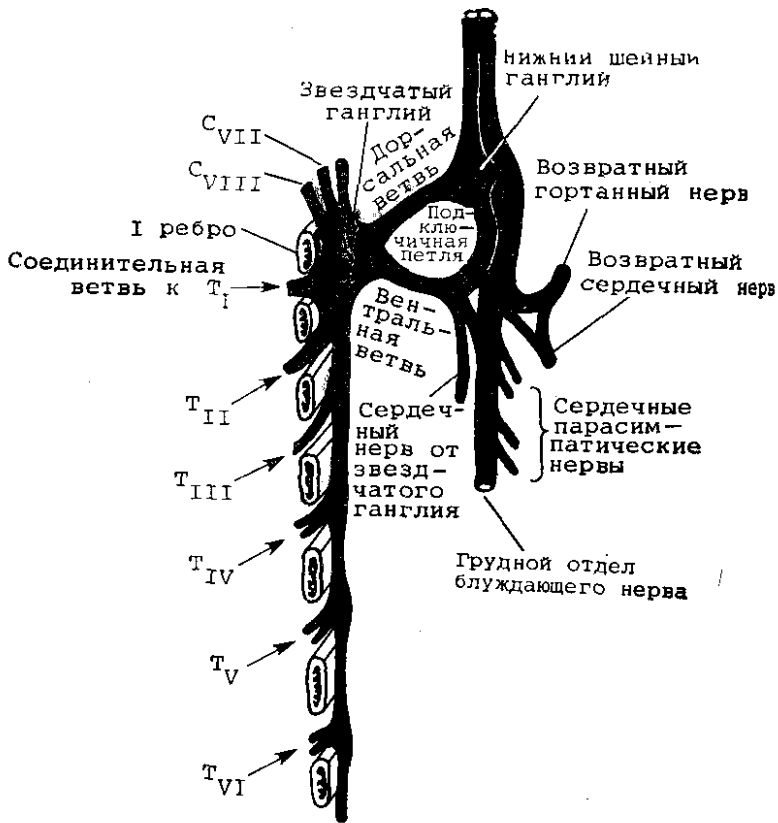


Рис. 22.1. Верхний грудной симпатический ствол и сердечные вегетативные нервы правой стороны тела собаки. (Займствовано с модификациями из работы [8].)

напсы с постганглионарными нейронами в нижнем шейном ганглии. У животных других видов, например у кошки, большая часть синапсов между пре- и постганглионарными нейронами находится в звездчатом ганглии. Постганглионарные симпатические волокна идут к сердцу в виде сложного сплетения небольших нервных пучков [1]. Отдельные пучки содержат как симпатические, так и парасимпатические волокна.

Детали парасимпатической иннервации сердца также варьируют в зависимости от вида млекопитающего. У некоторых видов, например у кошки, тела преганглионарных парасимпатических нейронов расположены почти исключительно в двойном ядре [9]. Большинство преганглионарных парасимпатических нейронов собаки также расположены в этом ядре, но некоторые из них локализируются в дорзальном моторном ядре. Преганглионарные волокна выходят из черепа, спускаются вниз по шее в составе общих ва-

ротидных оболочек (фасциальное влагалище, окружающее яремную вену, общую сонную артерию и блуждающий нерв) и входят в грудную клетку. У собаки (см. рис. 22.1) парасимпатические волокна проходят вблизи нижнего шейного ганглия, они входят в сердечное сплетение, образуя ряд смешанных нервных пучков вместе с постганглионарными симпатическими волокнами [10]. Синапсы между пре- и постганглионарными парасимпатическими волокнами находятся в ганглиях, расположенных в самой ткани сердца. Эти ганглии наиболее многочисленные вблизи синусно-предсердного (СП) и предсердно-желудочкового (ПЖ) узла.

НЕЙРОГУМОРАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЧАСТОТЫ СЕРДЕЧНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

Симпатическая регуляция

Повышение симпатической активности вызывает увеличение частоты сердечных сокращений (ЧСС). Норадреналин (НА), освобождающийся из симпатических нервных окончаний в СП узле повышает частоту спонтанных возбуждений автоматических клеток узла. Это достигается за счет увеличения угла наклона медленной диастолической деполяризации, вероятно, путем увеличения поступления кальция во время фазы 4 потенциала действия [11]. При использовании длинной последовательности импульсов для стимуляции сердечных симпатических нервов частота сердечных сокращений начинает повышаться; латентный период составляет 1—3 с [12]. Установившийся уровень ЧСС достигается лишь через 30—60 с после начала стимуляции симпатических волокон (рис. 22.2).

После прекращения стимуляции симпатических волокон хронотропный эффект постепенно исчезает, и ритм возвращается к контрольному уровню (см. рис. 22.2). Основными механизмами уменьшения концентрации НА, освобожденного из окончаний симпатических волокон, в межклеточном пространстве миокарда являются поглощение нейромедиатора теми же самыми нервными окончаниями и кардиомиоцитами, а также диффузия нейромедиа-

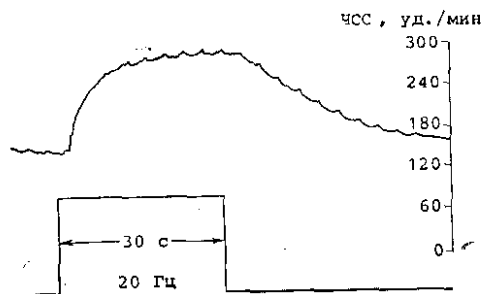


Рис. 22.2. Реакция сердца (ЧСС) наркотизированной собаки на постоянную стимуляцию сердечных симпатических нервов с частотой 20 Гц в течение 30 с. (Займствовано с модификациями из работы [12].)

тери из места высвобождения в коронарный кровоток [13]. Если механизм повторного захвата медиатора нервными волокнами ингибировать с помощью специфических блокаторов, например *ноналатом*, то исчезновение хронотропной реакции происходит существенно медленнее [14, 15].

Величина положительной хронотропной реакции на стимуляцию симпатических волокон зависит от частоты стимуляции. Максимальный эффект достигается при частоте стимуляции около 20–30 Гц [16]. Частота спонтанной активности симпатических нервов обычно не превышает 10 Гц.

Распределение симпатических волокон в различных структурах сердца сильно варьирует [2, 8, 17–19]. Симпатические нервы правой стороны тела обладают значительно более сильным влиянием на ЧСС, чем те же нервы левой стороны.

Парасимпатическая регуляция

Установившаяся регуляция. В отличие от стимуляции симпатических волокон, когда хронотропный эффект развивается относительно медленно (см. рис. 22.2), при непрерывной стимуляции блуждающего нерва латентный период реакции составляет лишь 200 мс, а постоянный уровень ЧСС достигается через несколько сердечных циклов (рис. 22.3). Более того, при прекращении стимуляции ЧСС быстро возвращается к контрольному уровню [12]. В области узлов в сердце имеется большое количество ацетилхолинэстеразы [20]. Именно этим можно объяснить быстрое исчезновение хронотропного эффекта.

Эффекты кратковременной стимуляции блуждающего нерва. Уже 50 лет назад было известно, что однократная стимуляция блуждающего нерва или короткая серия импульсов оказывает влияние на ЧСС в течение последующих 15–20 с [21–25]. Обычно отрицательная хронотропная реакция имеет 3 фазы (рис. 22.4). Сначала идет короткая фаза сильно выраженного замедления (ABC), затем также короткая фаза относительного или абсолютного повышения частоты (CE), и наконец, небольшая по величине, но более продолжительная фаза повторного замедления (EFD).

Некоторые механизмы, лежащие в основе такой трехфазной реакции, были выяснены лишь недавно. Результаты электрофизиологических экспериментов показали, что начальное уменьшение ЧСС (начало первого отклонения вверх: АВ на рис. 22.4) отражает удлинение периода синусо-предсердного проведения, а не истинное снижение частоты спонтанных возбуждений автоматических клеток СП узла [25]. Конечная часть начальной фазы замедления (ABC) обусловлена гиперполяризацией автоматических клеток [24, 25], как показано на рис. 22.5. Несомненно, что ацетилхолин (Ацх), освобождающийся из окончаний волокон блуждающего нерва, уменьшает калиевую проводимость в автоматических клетках [26], вызывая гиперполяризацию. Однако

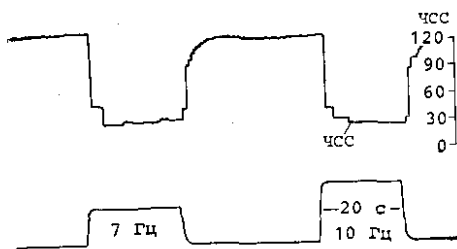


Рис. 22.3. Изменения ЧСС, вызванные стимуляцией правого блуждающего нерва собаки с частотой 7 и 10 Гц. (Займствовано с модификациями из работы [12].)

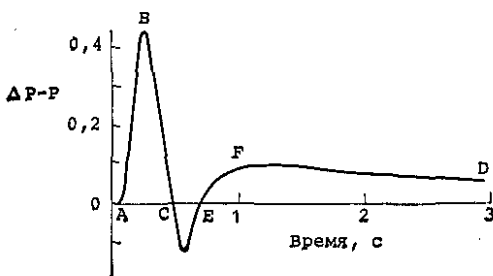


Рис. 22.4. Изменение интервала P—P во времени при подаче короткой пачки стимулов для раздражения блуждающего нерва собаки. (Займствовано из работы [23].)

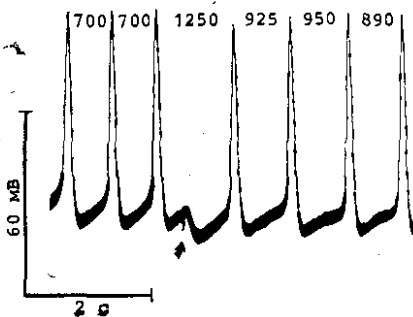


Рис. 22.5. Трансмембранные потенциалы действия, зарегистрированные в СП узле сердца кошки.

Короткую пачку стимулов блуждающего нерва наносили в момент времени, отмеченный стрелкой. Цифры между пиками потенциалов действия обозначают продолжительность сердечного цикла (мс). (Займствовано из работы [24].)

такая гиперполяризация является кратковременной и исчезает через 1—2 сердечных цикла.

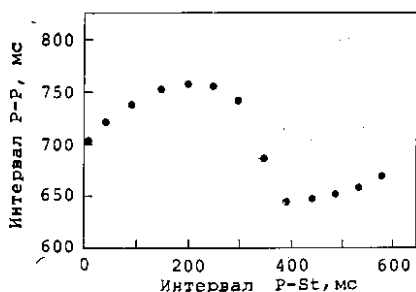
С точки зрения электрофизиологии фаза повторного снижения ЧСС (EFD на рис. 22.4) характеризуется уменьшением наклона пейсмекерного потенциала [24, 25], на что указывают три последовательных цикла на рис. 22.5. В экспериментах с использованием калий-селективных электродов было показано, что изменение продолжительности сердечного цикла во время фазы повторного замедления (EFD) развивается параллельно изменениям внеклеточной концентрации калия [25]. Эти изменения концентрации калия могут быть причиной повторного увеличения продолжительности сердечного цикла [25].

Две фазы снижения ЧСС в типичном случае разделены короткой фазой относительного или абсолютного ускорения ЧСС (СЕ, рис. 22.4), т. е. минимум кривой на рис. 22.4 может быть как выше, так и ниже уровня ЧСС до начала стимуляции. Во время этой фазы ускорения максимальный диастолический потенциал пейсмекерных клеток становится немного менее отрицательным [25]. Такое кратковременное ускорение ЧСС может быть связано с кратким увеличением натриевой проводимости.

Эффект продолжительной стимуляции блуждающего нерва. Если стимулировать блуждающий нерв однократно в течение

рис. 22.6. Влияние однократной стимуляции блуждающего нерва в ходе каждого сердечного цикла на продолжительность сердечного цикла (интервал P—P) сердца собаки.

Интервал зависит от интервала P—St, т. е. времени между началом деполяризации предсердий (P-волна) и моментом нанесения стимула (St). (Зависимость из работы [28].)



каждого сердечного цикла, то возникающие при этом изменения ЧСС зависят от того, в какой фазе цикла наносится раздражение [27, 28]. В эксперименте, результаты которого показаны на рис. 22.6, в течение каждого сердечного цикла производили однократную стимуляцию шейного отдела блуждающего нерва наркотизированной собаки со сверхмаксимальной интенсивностью [28]. Величина продолжительности сердечного цикла (интервал P—P) в контроле, до стимуляции блуждающего нерва, составляла 390 мс. Видно, что увеличение продолжительности сердечного цикла, вызываемое однократной стимуляцией в ходе каждого сердечного цикла, зависит от момента нанесения стимула. Если стимулы (St) подаются через 225 мс после начала деполяризации предсердий (зубец P), то увеличение продолжительности сердечного цикла (интервал P—P) будет максимальным. Если же стимулы наносятся через 390 мс после начала деполяризации предсердий (т. е. при P—St=390 мс), то удлинение сердечного цикла оказывается минимальным. Такая кривая зависимости интервала P—P от интервала P—St называется «кривая фаза—эффект» для пейсмекерных клеток СП узла.

Зависимость хронотропной реакции сердца от фазы нанесения стимула при многократной стимуляции вагуса еще раз подчеркивает особенность такой стимуляции — она вызывает синхронизацию пейсмекерных клеток СП узла [27, 28]. Вследствие такой синхронизации ритм сердца приближается к частоте стимуляции блуждающего нерва в пределах некоторого критического диапазона частот. Таким образом, в этом диапазоне частот определенное увеличение частоты стимуляции вызовет равное ему повышение ЧСС. Эта реакция является парадоксальной, так как оказывается, что увеличение частоты стимуляции блуждающего нерва, обладающее ингибирующим влиянием на сердце, вызывает на самом деле увеличение ЧСС.

При использовании коротких серий импульсов для стимуляции блуждающего нерва, подаваемых в каждом сердечном цикле, вместо нанесения в те же моменты времени одиночных стимулов, усиливается тенденция к синхронизации клеток СП узла [29, 30]. Спонтанная активность, регистрируемая от эфферентных парасимпатических волокон, идущих к сердцу, состоит именно из таких повторяющихся пачек потенциалов действия, приходящих в определенную фазу каждого сердечного цикла.

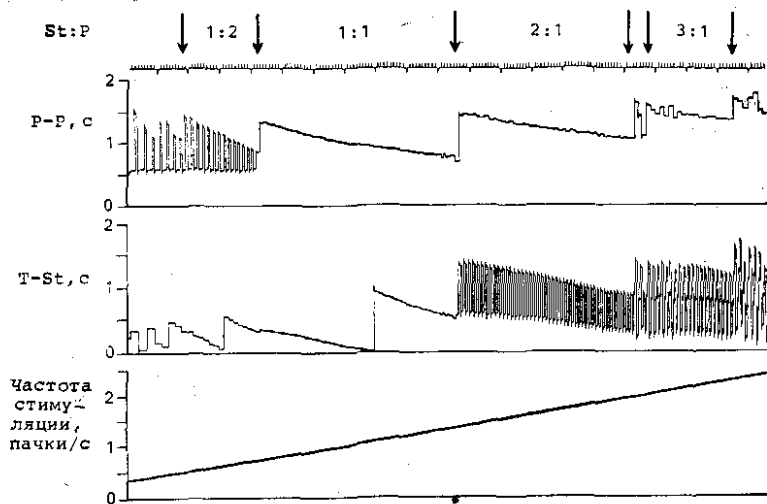


Рис. 22.7. Изменение интервала P—P при постепенном увеличении частоты стимуляции блуждающего нерва собаки.

Интервал P—St обозначает момент нанесения стимула (St) по отношению к началу деполяризации предсердий (P-волна). Цифры между стрелками обозначают число пачек стимулов, подаваемых к блуждающему нерву в течение одного сердечного цикла. (Заимствовано из работы [29].)

На рис. 22.7 показана хронотропная реакция сердца при постепенном увеличении частоты следования пачек стимулов, вызывающих раздражение блуждающего нерва. При повышении частоты следования пачек видна общая тенденция увеличения продолжительности сердечного цикла (интервала P—P) [29]. Это подтверждает хорошо известный принцип, что блуждающий нерв оказывает отрицательное хронотропное влияние на сердце.

Однако видно, что изменение продолжительности сердечного цикла, вызываемое стимуляцией блуждающего нерва, не является непрерывной монотонной функцией частоты стимуляции. Вместо этого запись изменения интервала P—P на рис. 22.7 характеризуется несколькими разрывами, когда небольшое изменение частоты стимуляции может вызвать существенное изменение продолжительности сердечного цикла. Между двумя соседними разрывами (указаны стрелками) наблюдается парадоксальная реакция ритма сердца на стимуляцию блуждающего нерва, т. е. при повышении частоты стимуляции продолжительность сердечного цикла уменьшается. Отношение числа пачек стимулов (St) к числу деполяризации предсердий (зубцы P) обозначается отношениями (St:P) между стрелками. Между стрелками, ограничивающими интервал с отношением 1:1, в котором частота следования пачек увеличивается от 0,76 до 1,33 пачек/с, ЧСС, рассчитанная исходя из числа P—P интервалов, увеличивается аналогичным образом от 0,76 до 1,33 в 1 с или от 46 до 80 в 1 мин. ЧСС совпадала с частотой стимуляции, т. е. сердце сокращается один раз при каждой стимуляции вагуса в диапазоне

частот от 0,76 до 1,33 Гц. В других частотных диапазонах также наблюдается синхронизация, но с другими величинами отношений $M: P$ (см. рис. 22.7).

В СП узле возбуждение от одной группы клеток к другой распространяется с очень низкой скоростью [31, 32]. Следовательно, отдельные группы автоматических клеток очень слабо взаимодействуют друг с другом. Выраженная тенденция к синхронизации при стимуляции вагуса, по-видимому, служит для координации автоматической активности таких разрозненных групп клеток [31].

Взаимодействие симпатических и парасимпатических эффектов

Постганглионарные симпатические и парасимпатические нервные окончания в стенках сердца часто располагаются близко друг к другу. Это является анатомической основой для сложных взаимодействий между двумя отделами вегетативной нервной системы [2,4 7,33]. Было описано множество различных видов таких взаимодействий; основной из них получил название акцентированного антагонизма [33] и состоит в том, что ингибирующий эффект данного уровня парасимпатической активности выражен тем сильнее, чем выше уровень симпатической активности.

Акцентированный антагонизм обусловлен взаимодействием как на пресинаптическом, так и на постсинаптическом уровне. Под синапсом в данном случае понимают контакт между окончаниями постганглионарных симпатических нервных волокон и миокардиальными клетками, являющимися эффекторами медиатора. Пресинаптический механизм состоит в ингибировании освобождения НА из окончаний постганглионарных симпатических волокон под действием Ацх. Постсинаптический механизм опосредован взаимодействиями на уровне самих эффекторных клеток и, по-видимому, обусловлен циклическими нуклеотидами, цАМФ и цГМФ. В этом разделе будут рассмотрены проявления акцентированного антагонизма в регуляции ЧСС и сократимости миокарда, а также пресинаптические механизмы, принимающие участие в этом процессе. Постсинаптические аспекты такого взаимодействия будут описаны в главе 24.

Проявления акцентированного антагонизма. Акцентированный антагонизм, принимающий участие в регуляции сердечного ритма вегетативной нервной системой, проиллюстрирован на рис. 22.8. В этом эксперименте [34] супрамаксимальная стимуляция блуждающего нерва с частотой 8 Гц (слева) вызывает снижение ЧСС на 80 уд. в 1 мин в отсутствие стимуляции симпатических нервов ($S=0$). При стимуляции одних сердечных симпатических нервов с частотой 4 Гц ($S=4$) ЧСС повышается на 80 уд. в 1 мин (темные треугольники). Если при таком уровне симпатической стимуляции ($S=4$) одновременно производить стимуляцию блуждающего нерва с частотой 8 Гц, то ЧСС снижается на 170 уд. в 1 мин (темные треугольники). Следовательно, отрицательное хронотропное действие данного уровня активности блуждающего нерва выражено значительно сильнее на фоне повышенной симпатической активности, чем если эта активность отсутствует.

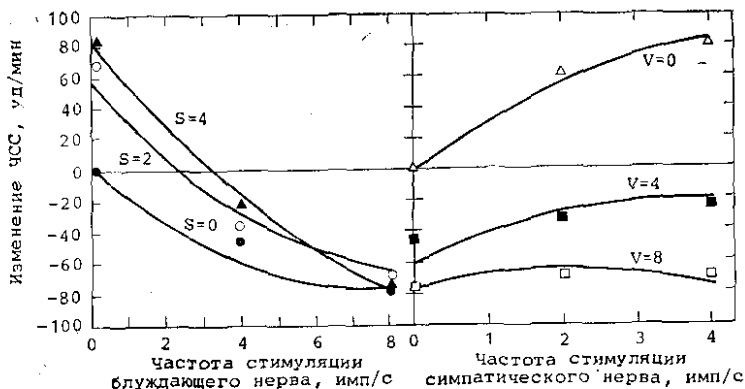


Рис. 22.8. Изменения ЧСС, вызванные одновременной стимуляцией левого блуждающего нерва и правого звездчатого ганглия собаки.

Символами обозначены экспериментальные данные, а сплошные линии получены в результате регрессионного анализа. Цифры вдоль кривых обозначают частоты (в Гц) стимуляции звездчатого ганглия (S) и блуждающего нерва (V). (Займствовано из работы [34].)

Ингибирующее действие блуждающего нерва на миокард предсердий [35] и желудочков [36—38] также усиливается по мере повышения уровня симпатической активности. В эксперименте, показанном на рис. 22.9, стимуляция вагуса (метки событий А и С) практически не влияет на сократимость миокарда желудочков, если активность симпатической нервной системы отсутствует [38]. Однако на фоне стимуляции симпатической нервной системы (между метками 1 и 2) стимуляция блуждающего нерва той же интенсивности (метка событий В) вызывает существенное угнетение сократимости миокарда желудочков. Эти результаты позволяют предположить, что угнетающее влияние блуждающего нерва на миокард желудочков состоит преимущественно в противодействии влиянию высокого уровня симпатической активности.

Пресинаптический механизм акцентированного антагонизма. Различные типы рецепторов, принимающие участие в регуляции освобождения НА, скорее всего располагаются в миокарде на окончаниях постганглионарных симпатических нервных волокон.

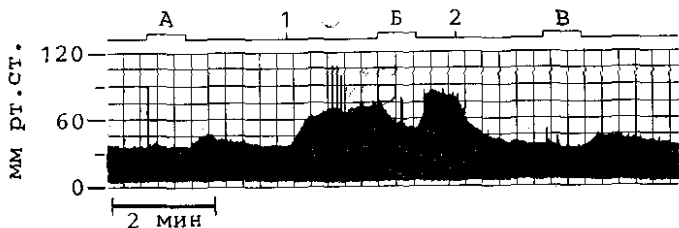


Рис. 22.9. Изменения давления в левом желудочке сердца собаки, сокращающемся в изоволюмическом режиме.

Изменения вызваны супрамаксимальной стимуляцией блуждающего нерва (20 Гц) до (А), во время (Б) и после (В) стимуляции левого звездчатого ганглия (2 Гц между отметками 1 и 2). (Займствовано из работы [38].)

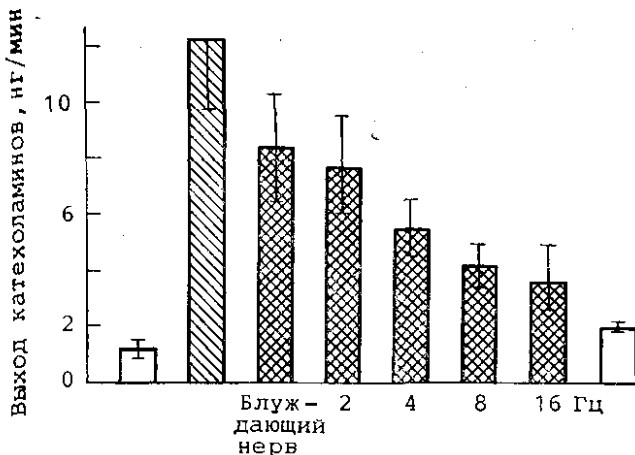


Рис. 22.10. Выход катехоламинов (КА) в кровь коронарного синуса сердца собаки в отсутствие симпатической стимуляции (светлые столбцы), в ответ на стимуляцию сердечного симпатического нерва (10 Гц, заштрихованный столбец) и при одновременной стимуляции симпатических (10 Гц) нервов и блуждающего нерва (темные столбцы). (Займствовано из работы [40].)

Одним из таких рецепторов является мускариновый холинергический рецептор, стимуляция которого вызывает ингибирование освобождения НА из симпатических нервных окончаний [39].

Такое пресинаптическое ингибирование освобождения НА продемонстрировано в эксперименте, показанном на рис. 22.10. При стандартной стимуляции сердечных симпатических нервов наркотизированной собаки выход катехоламинов (КА) в кровь венечного синуса составляет около 12 мг/мин [40]. Если одновременно стимулировать блуждающий нерв, то выход КА уменьшается в зависимости от частоты стимуляции. При стимуляции с частотой 1 Гц (Vg 1) наблюдается 25% снижение выхода КА. Если частоту стимуляции увеличить до 16 Гц, выход КА снижается на 30% по сравнению с тем, который наблюдается в отсутствие стимуляции блуждающего нерва. Такое значительное угнетение освобождения НА позволяет частично объяснить ослабление инотропной реакции на симпатическую стимуляцию на фоне активности блуждающего нерва, а также относительно слабый отрицательный инотропный эффект его стимуляции в отсутствие фоновых уровня симпатической активности (см. рис. 22.9).

НЕЙРОГУМОРАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПРЕДСЕРДНО-ЖЕЛУДОЧКОВОГО ПРОВЕДЕНИЯ

Регуляция в установившихся условиях

Изучение прямого влияния активности блуждающего нерва на ИЖК проведение лучше всего проводить в условиях постоянного искусственного ритма сердца. Это связано с тем, что изменение

продолжительности сердечного цикла само по себе способно влиять на время ПЖ проведения. Удлинение сердечного цикла может вызвать заметное уменьшение времени ПЖ проведения, а укорочение сердечного цикла вызывает противоположный эффект. Таким образом, без искусственного ритма сердца повышение активности блуждающего нерва приведет к удлинению сердечного цикла, а это косвенным образом уменьшит время ПЖ проведения, в то время как прямое действие парасимпатической активности состоит в удлинении интервала ПЖ проведения. Прямой и косвенный эффекты направлены в противоположные стороны, поэтому суммарный эффект может быть нулевым. Следовательно, происходящие при стимуляции блуждающего нерва изменения продолжительности сердечного цикла маскируют прямое влияние нервной системы на ПЖ проведение. Таким образом, результаты исследований влияния стимуляции блуждающего нерва на ПЖ проведение, осуществляемых на фоне естественного синусового ритма сердца, могут быть неверно истолкованы. Пока еще нет сведений об аналогичных исследованиях симпатической регуляции ПЖ проведения и его связи с продолжительностью сердечного цикла в этом случае. Несомненно, однако, что при таких исследованиях также необходима осторожная интерпретация результатов.

Уже давно было известно, что активность блуждающего нерва способна угнетать ПЖ проведение в сердце наркотизированных животных. В настоящее время ясно также, что парасимпатическая активность является важным детерминирующим фактором ПЖ проведения и у бодрствующих людей. Существенное удлинение времени ПЖ проведения у тренированных спортсменов приписывается повышенному тону блуждающего нерва. При постоянном искусственном ритме сердца у человека повышение артериального давления вызывает значительное рефлекторное удлинение интервала А—Н (но не интервала Н—V); падение артериального давления вызывает противоположный эффект [41]. Эти изменения ПЖ проведения блокируются атропином. Прямая стимуляция нервов сонного синуса у больных вызывает существенное удлинение ПЖ интервала на фоне искусственного ритма сердца [42]. Эта реакция развивается с латентным периодом порядка 1 с, достигает максимума через 5 с, а затем эффект постепенно уменьшается и через 20 с выходит на установившийся уровень. И в этом случае основную роль играет активность блуждающего нерва, а вклад симпатической системы минимален.

У экспериментальных животных непрерывная супрамаксимальная стимуляция вагуса удлиняет время ПЖ проведения с латентным периодом менее 1 с и вызывает брадикардию с ПЖ блоком, выраженность которого может оставаться постоянной или меняться в течение времени [43]. Увеличение времени ПЖ проведения является монотонно возрастающей функцией интенсивности стимуляции. Обычно полный ПЖ блок не развивается до тех пор, пока время ПЖ проведения не удлиняется на 50—70% от контрольного уровня. Степень удлинения ПЖ проведения при

стимуляции блуждающего нерва зависит от того, насколько при этом замедляется спонтанная активность СП узла; т. е. существует тесная взаимосвязь между прямым ингибирующим действием блуждающего нерва на ПЖ узел и косвенным стимулирующим действием на ПЖ проведение, связанным с сопутствующим снижением ЧСС.

В исследованиях на собаках с фибрилляцией предсердий было обнаружено простое алгебраическое суммирование противоположных эффектов, возникающих при одновременной активности двух отделов вегетативной нервной системы. Этот результат был подтвержден на собаках, сердца которых сокращались с нормальным синусовым ритмом [34]. Изменение времени ПЖ проведения в ответ на повышение активности одного из отделов вегетативной нервной системы не зависело от уровня активности другого отдела, т. е. в отношении ПЖ проведения не наблюдается никакого значительного взаимодействия симпатической нервной системы с парасимпатической. Это находится в резком противоречии с вегетативной регуляцией работы СП узла и сократимости миокарда, где такое взаимодействие сильно выражено [33].

Исследования влияния блокирования вегетативной нервной системы у человека выявили, что при блокировании обоих отделов без использования искусственного водителя ритма сердца время ПЖ проведения меняется очень незначительно [44]. Авторы пришли к выводу, что регуляторное влияние обоих отделов вегетативной нервной системы на ПЖ проведение довольно точно сбалансировано. Несомненно, что при таком объяснении возникают проблемы, связанные с тем, что изменение ЧСС при блокировании вегетативной нервной системы также оказывает влияние на ПЖ проведение. Таким образом, отсутствие изменений времени ПЖ проведения может быть обусловлено равновесием между прямым угнетающим действием активности блуждающего нерва на проводящие волокна и его косвенным влиянием через изменение ЧСС, что обсуждалось выше.

Динамическая регуляция

Практически все исследования динамических или кратковременных реакций времени ПЖ проведения на стимуляцию вегетативной нервной системы были сконцентрированы на изучении эффектов блуждающего нерва. Однократная стимуляция блуждающего нерва с помощью пачки стимулов в течение одного сердечного цикла может вызвать удлинение ПЖ проведения в следующем сердечном цикле [45], и эффект быстро исчезает за несколько последующих циклов (рис. 22.11). Реакция на однократную стимуляцию симпатической нервной системы имеет более выраженную задержку, из-за чего полное развитие эффекта достигается за несколько сердечных циклов, и для его исчезновения требуется значительно больше времени. Поэтому динамические реакции на стимуляцию блуждающего нерва привлекли значительно большее внимание, так как они могут принимать

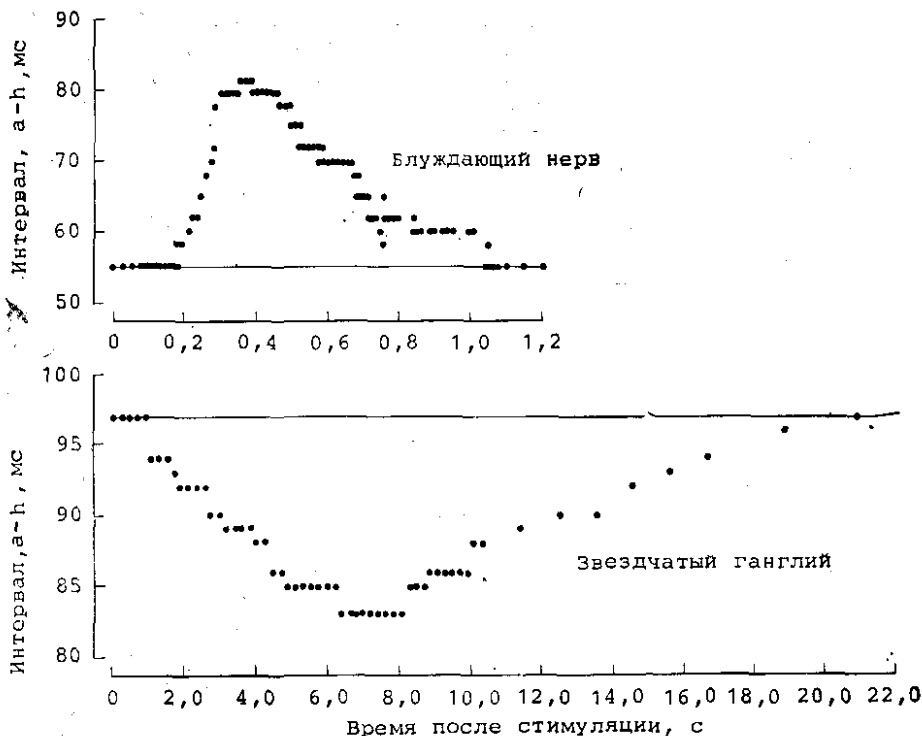


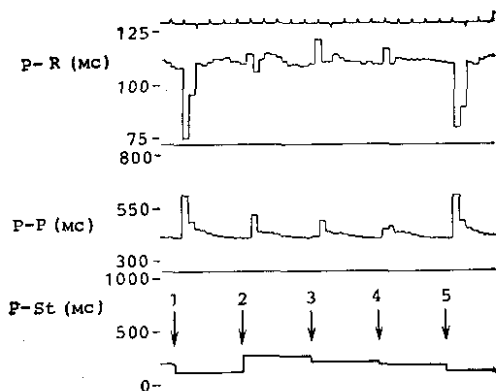
Рис. 22.11. Сравнение эффектов стимуляции блуждающего нерва и звездчатого ганглия на проведение в ПЖ узле.

На каждом из графиков представлены результаты типичного эксперимента. В качестве показателя времени проведения по ПЖ узлу использовали интервал между моментом активации межпредсердной перегородки и моментом активации пучка Гиса (интервал а-н на гистограмме). В экспериментах использовали серию стимулов длительностью 100 мс для стимуляции левого блуждающего нерва (вверху) и правого звездчатого ганглия (внизу). Обратите внимание на десятикратное различие масштабов по оси абсцисс в представлении эффектов стимуляции блуждающего нерва и звездчатого ганглия. (Займствовано из работы [45].)

участие в развитии нарушений ритма, возникающих внезапно за один сердечный цикл, в то время как реакции на стимуляцию симпатических нервов проявляются существенно медленнее, чтобы они могли играть такую роль.

При одновременном изучении реакций СП и ПЖ узлов на стимуляцию блуждающего нерва было обнаружено, что реакции ПЖ узла очень переменны [22]. Если в различные фазы сердечного цикла подавать идентичные пакеты стимулов, реакции ПЖ узла будут изменяться как по амплитуде, так и по знаку (рис. 22.12). Изменение ПЖ проведения, вызываемое стимуляцией блуждающего нерва, зависит от степени удлинения сердечного цикла [22]. Если продолжительность сердечного цикла поддерживать постоянной с помощью искусственного водителя ритма, то стимуляция блуждающего нерва вызывает увеличение времени ПЖ проведения.

Рис. 22.12. Изменения ПЖ проведения (вверху), продолжительности сердечного цикла (в середине) и интервала P—St (внизу) в ответ на пять одиночных пачков стимуляции блуждающего нерва наркотизированной собаки. Пачки подавали с разными P—St интервалами. (Займовано из работы [22].)

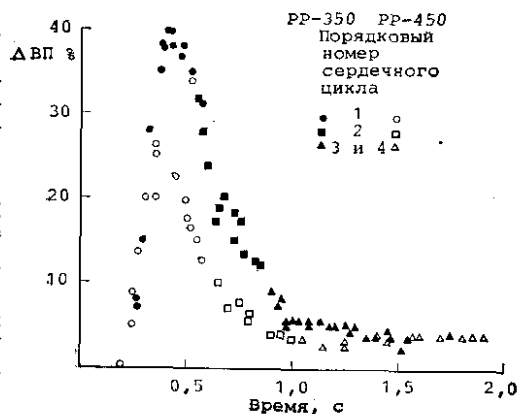


Эффективность влияния стимуляции блуждающего нерва на ПЖ проведение существенно зависит также от фазы сердечного цикла, в течение которой импульсация вагуса достигает ПЖ узла; в точности так же, как при парасимпатической регуляции активности СП узла. Для количественного описания зависимости эффекта от момента стимуляции блуждающего нерва были построены кривые эффекта стимуляции вагуса, аналогичные тем, которые использовались для описания реакций СП узла [46]. Основной независимой переменной выбрана фаза нанесения стимула по отношению к сердечному циклу. Второй независимой переменной была ЧСС, которая поддерживалась на постоянном уровне с помощью искусственного водителя ритма. На рис. 22.13 показано, что эффект стимуляции блуждающего нерва возрастал при увеличении ЧСС, задаваемой искусственным водителем ритма.

Вероятный механизм, ответственный за развитие этого эффекта, может состоять в том, что относительные рефрактерные периоды в ПЖ проводящей системе имеют большую продолжительность, чем соответствующие потенциалы действия. При увеличении времени ПЖ проведения (путем стимуляции блуждающего нерва или некоторыми другими способами) длительность потен-

Рис. 22.13. Кривые, отражающие эффекты стимуляции блуждающего нерва наркотизированной собаки, полученные при двух различных частотах искусственного ритма сердца.

По оси абсцисс отложено время, прошедшее после стимуляции вагуса одиночной пачкой стимулов и момент $t=0$. По оси ординат — изменение времени ПЖ проведения в ходе последовательных сердечных циклов (%). Кругами, квадратами и треугольниками обозначены изменения, происшедшие в ходе 1-го, 2-го и последующих сердечных циклов, следующих после цикла, в течение которого подавали стимуляцию.



циала действия в проводящих волокнах ПЖ узла с наименьшей скоростью проведения возрастает вследствие электротонических эффектов. При этом также увеличивается продолжительность относительного рефрактерного периода. В результате при постоянной ЧСС может развиваться следующая последовательность событий: а) раздражение блуждающего нерва в ранней фазе сердечного цикла увеличивает время ПЖ проведения и рефрактерный период ПЖ узла первого возбуждения после нанесения стимула; б) следующая волна возбуждения из предсердия после стимуляции блуждающего нерва подходит к ПЖ узлу, когда проводящие волокна находятся в состоянии повышенной рефрактерности; в) это приводит к дополнительному увеличению времени ПЖ проведения в ходе второго возбуждения, как показано на рис. 22.13. Этот механизм может также принимать участие в развитии эффекта Венкебаха в ПЖ узле.

НЕЙРОГУМОРАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ВОЗБУДИМОСТИ МИОКАРДА

Стимуляция блуждающего нерва существенно укорачивает рефрактерный период предсердий [47]. Этот эффект несомненно обусловлен значительным укорочением потенциала действия, вызванным Ацх [48].

Однако влияние Ацх и стимуляции вагуса на рефрактерные периоды ткани желудочков не столь хорошо изучены. И в сердце собаки [49], и в сердце человека [50] блокирование мускариновых рецепторов укорачивает рефрактерные периоды в желудочках. Однако при блокировании активности обоих отделов вегетативной нервной системы изменения рефрактерных периодов оказываются очень незначительными. Кроме того, стимуляция блуждающего нерва у собаки существенно удлиняет рефрактерные периоды миокарда желудочков, что не наблюдается при симпатэктомии [51]. Эти результаты позволяют предположить, что Ацх, освобождаемый из парасимпатических нервных окончаний, действует на миокард косвенным образом, путем противодействия симпатическому влиянию, а не путем непосредственного воздействия на миокард [49, 51, 52]. Однако исследование эффектов блокирования вегетативной нервной системы у человека показало, что тонус блуждающего нерва в покое существенно удлиняет рефрактерность желудочков, и что этот эффект развивается и в отсутствие симпатических влияний [44]. Парасимпатическая система, по-видимому, представляет собой основной путь рефлекторной регуляции рефрактерности желудочков сердца у кошки, причем парасимпатические эффекты явно выражены, даже если симпатическая активность отсутствует [53]. Таким образом, результаты последних двух исследований противоречат точке зрения о том, что Ацх действует исключительно или преимущественно путем угнетения эффектов, вызываемых активностью симпатической нервной системы. Используемые в этих исследованиях экспериментальные методы не настолько различаются, чтобы это позволило разрешить спор

относительно того, насколько влияние блуждающего нерва на рефрактерность не зависит от антагонистического влияния симпатической активности.

Удлинение рефрактерных периодов ПЖ узла и желудочков может благоприятно сказываться на деятельности сердца и способствовать прекращению нарушений ритма определенного типа. Многие нарушения ритма поддерживаются за счет существования цепи рециркуляции возбуждения. Локальное увеличение длительности рефрактерного периода может настолько замедлить проведение, что произойдет разрыв цепи рециркуляции. Этот механизм позволяет объяснить угнетение желудочковых тахикардий под действием активности блуждающего нерва [54].

НЕЙРОГУМОРАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА

Симпатические эффекты

В предсердиях значительно выражена адренергическая иннервация, но она распределена неоднородно. Стимуляция звездчатого ганглия существенно влияет на работу сердца. При этом уменьшается продолжительность сердечного цикла и возрастает амплитуда волны давления в предсердиях. Повышение сократимости предсердий, вызванное активностью симпатической нервной системы, улучшает наполнение желудочков. Повышающееся вследствие этого конечно-диастолическое давление в левом желудочке вызывает большее повышение конечно-диастолического объема желудочков и увеличивает ударный объем. Активность симпатической нервной системы способна изменять наполнение желудочков не только путем изменения продолжительности периода наполнения, но также оказывая влияние на силу и момент начала систолы предсердий.

Симпатическая нервная система также обильно иннервирует ткань желудочков. Стимуляция правого звездчатого ганглия у собаки обычно повышает ЧСС в большей степени, чем стимуляция левого ганглия [2]. Стимуляция левого звездчатого ганглия повышает сократимость желудочков, вызывая повышение систолического давления в левом желудочке, увеличение скорости изменения внутривентрикулярного давления, а также среднего артериального и пульсового давления. Стимуляция симпатической нервной системы повышает, кроме того, коронарный кровоток, потребление миокардом кислорода, ударный объем, ударную работу сердца и минутный объем крови. Более того, эти эффекты являются независимо от изменений преднагрузки и постнагрузки, т. е. они возникают даже если преднагрузка и постнагрузка поддерживаются на постоянном уровне.

Для описания работы, совершаемой желудочками, использовали различные типы рабочих диаграмм желудочков. Эти диаграммы представляют собой графики зависимости работы, совершае-

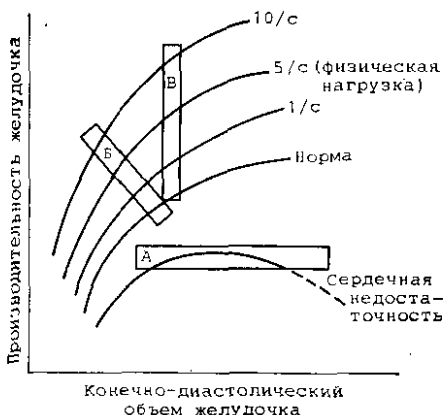


Рис. 22.14. Семейство рабочих диаграмм желудочков.

Диаграмма А описывает сердечную недостаточность, развивающуюся в препарате сердце — легкое. Остальные диаграммы (В и В) отражают реакцию сердца на симпатическую стимуляцию с частотой 1,5 и 10 Гц. (Заимствовано из работы [1].)

мой сердцем за один цикл ударного объема или минутного объема от исходной длины волокон, например от среднего артериального давления или от конечного диастолического давления или объема желудочков (рис. 22.14). Такие кривые соответствуют классическому механизму Франка—Старлинга, вследствие чего эффективность работы сердца повышается с увеличением исходной длины волокон вплоть до некоторой оптимальной длины. При повышении симпатической активности эти кривые сдвигаются вверх и влево (см. рис. 22.14), т. е. адренергическое влияние увеличивает минутный объем, что может сопровождаться снижением конечного диастолического объема или давления. Минутный объем дополнительно увеличивается за счет повышения ЧСС, вызванного возросшей симпатической активностью.

Симпатическая активность существенно влияет на динамику изгнания крови из желудочков. Максимальное внутрижелудочковое давление и максимальная скорость изменения объема желудочков и внутрижелудочкового давления значительно увеличиваются при повышении симпатической активности. Обычно считается, что эти изменения указывают на увеличение силы и скорости сокращения миокардиальных волокон. Повышение скорости может быть частично обусловлено увеличением синхронизации сокращения волокон, однако большинство исследователей считает, что этот механизм не является основным. Кроме того, уменьшается продолжительность систолы. В норме это способствует сохранению длительности интервала заполнения желудочков на прежнем уровне, несмотря на уменьшение продолжительности сердечного цикла. Другим важным фактором, который способствует поддержанию нормального наполнения желудочков при высокой ЧСС, является адренергическая стимуляция сократимости предсердий.

Эффекты блуждающего нерва

Около двадцати лет назад общепризнанным было то, что блуждающий нерв практически не оказывает влияние на работу желудочков сердца у млекопитающих [2]. Регуляция сократимости

сти миокарда, осуществляемая нервной системой, очень трудно поддается исследованию, так как кроме нейрогенных на нее влияет множество других факторов. Для строгого контроля за этими дополнительными факторами (ЧСС, преднагрузка и постнагрузка, насосная функция предсердий и перфузионное давление в венечных сосудах) в лаборатории авторов данной главы были разработаны три различных экспериментальных препарата на собаках [55]. Нанесение серии стимулов для раздражения вагуса вызывает уменьшение сократимости желудочков, величина которого обратно пропорциональна частоте стимуляции блуждающего нерва. При максимальной стимуляции вагуса сократимость миокарда желудочков снижается на 15—25%.

Эти результаты были подтверждены на множестве разнообразных препаратов на собаках и на других млекопитающих, включая исследования на людях. Стимуляция вагуса вызывает сдвиг рабочих диаграмм желудочков вправо, существенно уменьшает максимальную скорость повышения внутрижелудочкового давления и снижает силу сокращения миокарда желудочков [56].

Много десятилетий назад Wiggers [57] показал, что предсердия очень чувствительны к влиянию блуждающего нерва и его результаты были полностью подтверждены [58, 59]. Парасимпатическая иннервация предсердий значительно более обильна, чем иннервация желудочков, кроме того, здесь существенно выше содержание холинэстеразы [4, 5]. Поэтому расстояние, на которое вынужден диффундировать АцХ, значительно короче в предсердиях, чем в желудочках, и реакция исчезает быстрее, вследствие более высокого содержания холинэстеразы. Это частично объясняет почему реакция предсердий на стимуляцию блуждающего нерва описывается меньшими постоянными времени, чем реакция желудочков.

В ранних исследованиях реакций предсердий млекопитающих на повышение активности вагуса использовали длинные серии импульсов и измеряли установившиеся реакции. Недавно провели изучение кратковременных инотропных реакций предсердия собаки на однократную стимуляцию блуждающего нерва или стимуляцию короткой пачкой стимулов [60]. На рис. 22.15 показаны типичные результаты, полученные при нанесении одиночной пачки стимулов, состоящей из одного, двух или трех стимулов, для раздражения вагуса на фоне искусственного ритма сердца двух разных частот. Обратите внимание, что раздражение вагуса одиночным стимулом вызывает уменьшение амплитуды сокращения предсердия на 62% при продолжительности сердечного цикла 600 мс. Пачка стимулов из двух или трех импульсов полностью угнетает сокращение предсердия на 2--8 с. Отрицательная инотропная реакция была меньше при укорочении сердечного цикла до 500 мс.

Для количественного описания инотропных реакций использовали кривые эффекта блуждающего нерва. На рис. 22.16 показаны такие кривые для изменения продолжительности сердечного цикла и сократимости предсердий. Развитие инотропной реакции

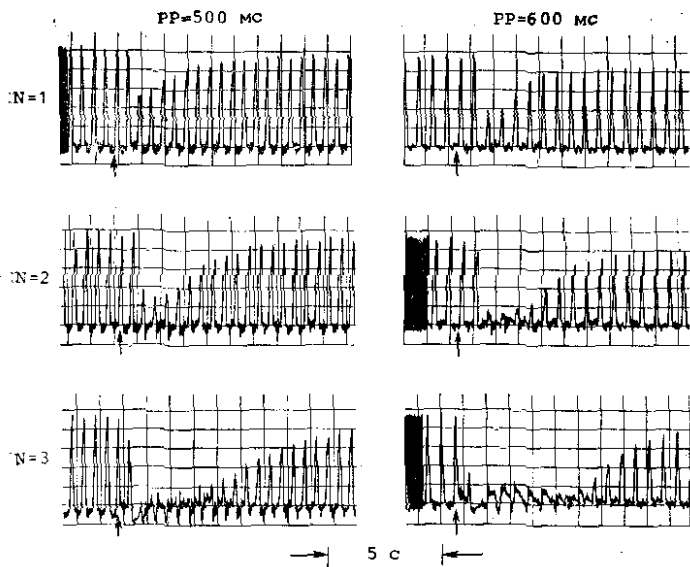


Рис. 22.15. Изменения внутрисердечного давления, регистрируемого предсердным баллонным катетером, в ответ на стимуляцию блуждающего нерва пачкой, состоящей из 1, 2 или 3 стимулов (N). Стимуляцию осуществляли в моменты времени, отмеченные стрелками. Продолжительность сердечного цикла (PP) равнялась 500 и 600 мс. (Займствовано из работы [60].)

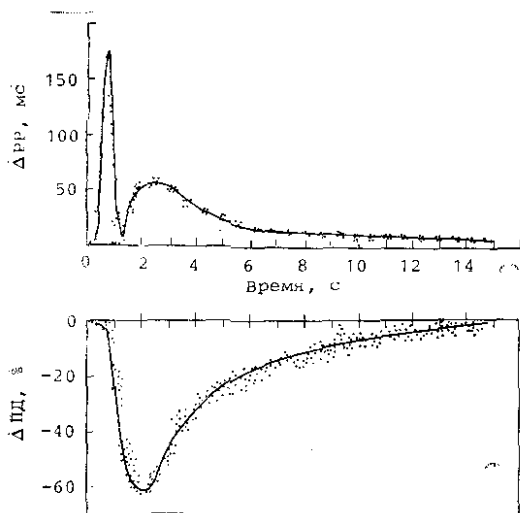


Рис. 22.16. Кривые эффекта стимуляции блуждающего нерва на продолжительность сердечного цикла (PP) при естественном ритме и на давление, измеряемое внутрисердечным баллонным катетером (ΔP) при искусственном ритме. Данные получены на одной и той же собаке при нанесении пачек стимулов блуждающего нерва с различными интервалами P—St (Займствовано из работы [60].)

во времени аналогично временному ходу второго цикла хронотропной реакции. Это позволяет предположить, что физиологические механизмы этих двух реакций могут иметь некоторую общую стадию.

Реакция миокарда предсердий на стимуляцию блуждающего нерва зависит также от фазы сердечного цикла, в течение кото-

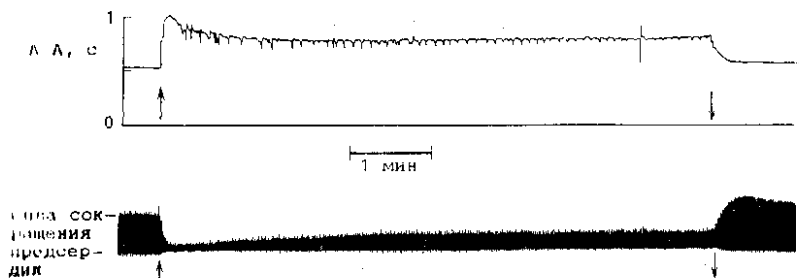


Рис. 22.17. Изменения продолжительности сердечного цикла (вверху) и силы сокращения предсердия (внизу) в ответ на непрерывную стимуляцию блуждающего нерва (между стрелками).

Обратите внимание, что несмотря на непрерывную стимуляцию вагуса хронотропная и инотропная реакции постепенно возвращаются к контрольному уровню после достижения некоторого пикового значения. (Займствовано из работы [61].)

рой подается пачка стимулов [60], точно так же, как это установлено для СП и ПЖ узлов. Вспышка активности вагуса, воздействующая на сердце в течение одной фазы сердечного цикла, может полностью подавить следующее сокращение предсердий, в то время как та же вспышка активности, возникшая в течение другой фазы, может вызвать незначительный эффект. Такое влияние момента возникновения вспышки активности вагуса способно изменять вклад предсердий в наполнение желудочков.

Инотропные реакции предсердий на стимуляцию блуждающего нерва имели большую величину при постоянном ритме сердца, чем когда ритм сердца мог изменяться [60]. Это отличие невозможно объяснить изменением преднагрузки. Реальное объяснение может основываться на свойствах динамической зависимости силы сокращения от ЧСС, которое, вероятно, значительно отличается от обычных характеристик этой зависимости для установившихся условий.

Если стимулировать блуждающий нерв в течение нескольких минут с постоянной частотой и интенсивностью [61], ЧСС сначала возрастает до некоторой максимальной величины, в то время как сила сокращения снижается до некоторого минимума (рис. 22.17). Однако постепенно обе величины восстанавливаются до контрольных значений. Уменьшение ЧСС до контрольного уровня наблюдается приблизительно через 15—20 с, в то время как восстановление силы сокращений происходит за 1—2 мин. Однако реакция ПЖ проведения во время непрерывной стимуляции вагуса не исчезает [62]. По-видимому, исчезновение различных типов реакций сердца на фоне постоянной стимуляции блуждающего нерва определяется различными механизмами. Имеющиеся в настоящее время данные позволяют предположить, что значительную роль при этом играет уменьшение чувствительности мускариновых рецепторов к Ацх [63], т. е. рецепторы постепенно теряют свою способность связывать агонист, хотя нельзя полностью исключить и постепенное уменьшение освобождения Ацх из нервных окончаний во время непрерывной стимуляции.

РЕФЛЕКТОРНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СЕРДЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Рефлекторная регуляция функций сердца изучалась очень интенсивно, и недавно было опубликовано несколько исчерпывающих обзоров по этому вопросу [64—68]. Здесь приводится лишь краткое описание трех наиболее важных рефлексов: барорецепторного рефлекса, рефлекса Бейнбриджа и хеморецепторного рефлекса.

Барорецепторный рефлекс

Барорецепторы представляют собой рецепторы, воспринимающие механическое растяжение стенки артерий, и расположены в каротидных синусах и дуге аорты [65, 68]. Аfferентные импульсы от рецепторов каротидных синусов поступают в головной мозг по нервам каротидных синусов, которые являются ветвями языкоглоточных (IX пара черепных нервов). Импульсы от барорецепторов аорты поступают в мозг по аортальным нервам, которые являются ветвями блуждающих нервов (X пара черепных нервов). Аfferентное плечо барорецепторного рефлекса образуется симпатическими и парасимпатическими волокнами.

Частота импульсации барорецепторов стенок артерий увеличивается при повышении среднего артериального давления в области каротидных синусов и дуги аорты. Увеличение частоты импульсации в нервах каротидных синусов и аортальных нервах вызывает уменьшение нервной активности в аfferентных симпатических волокнах и увеличение активности в аfferентных парасимпатических волокнах. Снижение симпатической активности уменьшает вазомоторный тонус в резистивных и емкостных сосудах всего тела, способствует понижению ЧСС, увеличивает время ПЖ проведения и уменьшает сократимость предсердий и желудочков. Повышение активности блуждающего нерва вызывает те же эффекты, что и снижение симпатической активности.

Противоположные изменения аfferентной симпатической и парасимпатической активности в ответ на изменение артериального давления наблюдаются только тогда, когда артериальное давление находится вблизи нормального диапазона давлений. Если артериальное давление резко снижается до аномально низкого уровня, тонус блуждающего нерва практически исчезает. В этом случае грация рефлекторной регуляции осуществляется исключительно за счет изменений аfferентной симпатической активности. И наоборот, если артериальное давление резко повышается до аномально высокого уровня, симпатический тонус полностью угнетается, а грация рефлекторной регуляции осуществляется только за счет изменений аfferентной активности вагуса.

Рефлекс Бейнбриджа

В 1915 г. Бейнбридж обратил внимание на то, что при введении крови или физиологического раствора наркотизированным

минутным ЧСС повышается, несмотря на сопутствующее увеличение артериального давления [69]. Увеличение ЧСС коррелировало с повышением давления в крупных венах и устранялось двухсторонней ваготомией. Бейнбридж предположил, что рефлекс инициируется растяжением правых отделов сердца, и что афферентный импульс передается по блуждающим нервам.

С момента первоначального описания этого рефлекса возник спор о его значении и даже о его существовании. Изменение объема крови инициирует также и другие рефлексы, особенно барорецепторный рефлекс. Следовательно, направленные изменения ритма сердца, вызванные изменением объема крови, являются результатом взаимодействия противоположных рефлекторных реакций. Часто введение жидкости в систему кровообращения вызывает ускорение ритма сердца, если основной уровень ритма был низким, но снижает ЧСС, если основной уровень высок.

В недавней работе по изучению влияния инфузии крови у наркотизированной собаки [70] было получено, что увеличение объема циркулирующей крови вызывает существенное повышение минутного объема и артериального давления. ЧСС возрастает пропорционально увеличению минутного объема (рис. 22.18), несмотря на рост артериального давления. Следовательно, рефлекс Бейнбриджа должен преобладать над барорецепторным рефлексом при увеличении объема циркулирующей крови. И наоборот, снижение объема крови уменьшает минутный объем и артериальное давление. По мере уменьшения артериального давления и минутного объема растет ЧСС (см. рис. 22.18). Следовательно, при уменьшении объема циркулирующей крови барорецепторный рефлекс должен преобладать над рефлексом Бейнбриджа.

Хеморецепторный рефлекс

Периферические артериальные хеморецепторы реагируют на снижение P_{O_2} и pH артериальной крови и на повышение P_{CO_2} . Хеморецепторы расположены в дуге аорты и в каротидных телах, окружающих каротидные синусы. Стимуляция артериальных хеморецепторов вызывает гипервентиляцию легких, брадикардию и сужение сосудов. Однако амплитуда этих сердечно-сосудистых реакций зависит от сопутствующих изменений легочной вентиляции [67, 71]. Например, если стимуляция хеморецепторов вызывает умеренную степень гипервентиляции, то реакцией сердца скорее всего будет брадикардия. И наоборот, при сильной гипервентиляции, вызываемой стимуляцией хеморецепторов, ЧСС обычно возрастает.

Крайним примером такой рефлекторной реакции является реакция сердца, возникающая в случае невозможности повышения вентиляции легких в ответ на стимуляцию хеморецепторов. В опытах на животных, когда вентиляция легких контролируется аппаратом искусственного дыхания, стимуляция каротидных хеморецепторов вызывает резкое повышение активности блуждающего нерва, приводящее к выраженной брадикардии и нарушению ПЖ проведения [67, 71]. Аналогичные изменения наблю-

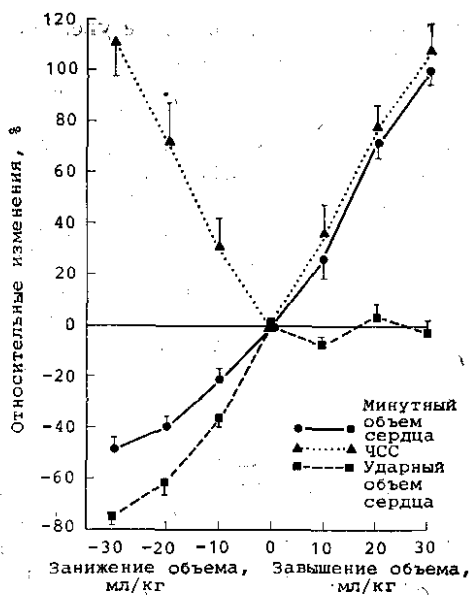
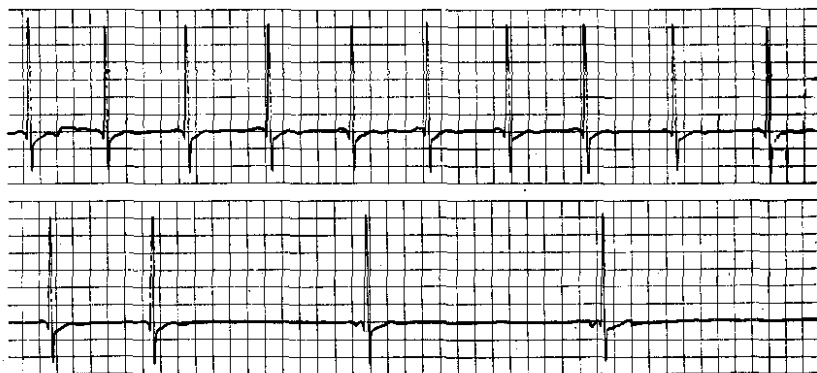


Рис. 22.18. Влияние переливания крови и кровотока на минутный объем, ЧСС и ударный объем сердца непаркотизированной собаки. (Заимствовано из работы [70].)

Рис. 22.19. Электрокардиограмма больных с квадроплегией, которым необходима трахеальная интубация и искусственное дыхание.

Обе регистрации представляют собой непрерывную запись. В начале верхней регистрации трахеальный катетер отсоединен от дыхательного аппарата для отсоса жидкости из трахеи. Менее чем через 10 с ЧСС больного снизилась с 65 до 20 уд/мин. (Заимствовано из работы [72].)



дали у больных с квадроплегией, у которых использовались механические дыхательные аппараты [71, 72]. У таких больных развивалась значительная брадикардия (рис. 22.19) при отсоединении трахеального катетера от дыхательного аппарата для удаления экссудата из трахеи [72]. ЧСС у таких больных резко падает в течение 10 с после прекращения искусственного дыхания. Развитие брадикардии может быть замедлено путем гипервентиляции легких до отсоединения трахеального катетера, а также введением атропина. Резкое снижение ЧСС несомненно отражает первичную рефлекторную реакцию сердца на возбуждение артериальных хеморецепторов у больных, у которых невозможно развитие вторичных реакций, обусловленных гипервентиляцией легких.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Randall W. C.* Neural regulation of the heart. New York: Oxford University, 1977.
2. *Levy M. N., Martin P. J.* Neural control of the heart. In: Handbook of physiology, Sect 2: Cardiovascular system/Ed. R. M. Berne. Vol. 1: The heart. Bethesda MD: American Physiological Society, 1979, p. 581—620.
3. *Levy M. N., Martin P. J.* Neural control of heart rate and atrioventricular conduction. — In: Disturbances in neurogenic control of the circulation/Ed. F. M. Abboud, H. A. Fozzard, J. P. Gilmore, D. J. Reis. Bethesda MD: American Physiological Society, 1981, p. 205—216.
4. *Higgins C. B., Vatner S. F., Braunwald E.* Parasympathetic control of the heart. — Pharmacol. Rev., 1973, vol. 25, p. 120—155.
5. *Duchene-Marullaz P., Arnould R., Schaff G., Lavarenne J., Billaud J.* Comparison des effets chronotrope, inotrope et dromotrope de l'excitation du stovallaire droit chez le chien chloralose. — C. R. Soc. Biol. (Paris), 1966, vol. 160, p. 1586—1589.
6. *Loffelholz K.* Release of acetylcholine in the isolated heart. — Am. J. Physiol., 1981, vol. 240, p. H431—H440.
7. *Watanabe A. M., Jones L. R., Manalan A. S., Besch H. R., Jr.* Cardiac autonomic receptors: recent concepts from radiolabeled ligand-binding studies. — Circ. Res., 1982, vol. 50, p. 161—174.
8. *Mizeres M. J.* The origin and course of the cardioaccelerator fibers in the dog. — Anat. Rec., 1958, vol. 132, p. 261—279.
9. *Spyer K. M.* Baroreceptor control of vagal preganglionic activity. — In: Integrative functions of the autonomic nervous system/Ed. C. M. Brooks, K. Koizumi, A. Sato. Tokyo: University of Tokyo, 1979, p. 283—292.
10. *Weiss G. K., Priola D. V.* Brainstem sites for activation of vagal cardioaccelerator fibers in the dog. — Am. J. Physiol., 1972, vol. 223, p. 300—304.
11. *Noble D.* The initiation of the heartbeat. Oxford: Clarendon, 1979.
12. *Warner H. R., Cox A.* A mathematical model of heart rate control by sympathetic and vagus efferent information. — J. Appl. Physiol., 1962, vol. 17, p. 349—355.
13. *Axelrod J., Weinschilbom R.* Catecholamines. — N. Engl. J. Med., 1972, vol. 287, p. 237—242.
14. *Matsuda Y., Masuda Y., Levy M. N.* The effects of cocaine and metanephrine of the cardiac responses to sympathetic nerve stimulation in dogs. — Circ. Res., 1979, vol. 45, p. 180—187.
15. *Matsuda Y., Masuda Y., Blattberg B., Levy M. N.* The effects of cocaine, chlorpheniramine and tripeleminamine on the cardiac responses to sympathetic nerve stimulation. — Eur. J. Pharmacol., 1980, vol. 63, p. 25—33.
16. *Rosenblueth A.* The chemical mediation of autonomic nervous impulses as evidenced by summation of responses. — Am. J. Physiol., 1932, vol. 102, p. 12—38.
17. *Levy M. N., Ng M. L., Zieske H.* Functional distribution of the peripheral cardiac sympathetic pathways. — Circ. Res., 1966, vol. 19, p. 650—661.
18. *Randall W. C., McNally H., Cowan J., Caliguiri L., Rohse W. G.* Functional analysis of the cardioaugmentor and cardioaccelerator pathways in the dog. — Am. J. Physiol., 1957, vol. 191, p. 213—217.
19. *Randall W. C., Priola D. V., Ulmer R. H.* A functional study of the distribution of cardiac sympathetic nerves. — Am. J. Physiol., 1963, vol. 205, p. 1227—1231.
20. *James T. N., Spence C. A.* Distribution of cholinesterase within the sinus node and AV node of the human heart. — Anat. Rec., 1966, vol. 155, p. 151—162.
21. *Brown G. L., Eccles J. E.* The action of a single vagal volley on the rhythm of the heart beat. — J. Physiol. (Lond.), 1934, vol. 82, p. 211—240.
22. *Levy M. N., Martin P. J., Iano T., Zieske H.* Effects of single vagal stimuli on heart rate and atrioventricular conduction. — Am. J. Physiol., 1970, vol. 218, p. 1256—1262.
23. *Iano T. L., Levy M. N., Lee M. H.* An acceleratory component of the parasympathetic control of heart rate. — Am. J. Physiol., 1973, vol. 224, p. 997—1005.

68. *Downing S. E.* Baroreceptor regulation of the heart. — In: Handbook of physiology. Sect. 2: Cardiovascular system. Vol. 1/Ed. R. M. Berne. Washington DC: American Physiological Society, 1979, p. 621—652.
69. *Bainbridge F. A.* The influence of venous filling upon the rate of the heart. — *J. Physiol. (Lond.)*, 1915, vol. 50, p. 65—84.
70. *Vatner S. F., Boettcher D. H.* Regulation of cardiac output by stroke volume and heart rate in conscious dogs. — *Circ. Res.*, 1978, vol. 42, p. 557—561.
71. *Daly M. B., Angell-James J. E., Elsner R.* Role of carotid body chemoreceptors and their reflex interactions in bradycardia and cardiac arrest. — *Lancet*, 1979, vol. 1, p. 764—767.
72. *Berk J. L., Levy M. N.* Profound reflex bradycardia produced by transient hypoxia or hypercapnia in man. — *Eur. Surg. Res.*, 1977, vol. 9, p. 75—84.

Глава 23

РАЗВИТИЕ ПОСТСИНАПТИЧЕСКИХ РЕЦЕПТОРОВ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В СЕРДЦЕ И ИХ РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ РАБОТЫ СЕРДЦА В ХОДЕ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ И В ПЕРИОД НОВОРОЖДЕННОСТИ

А. ДЖ. ПАППАНО (A. J. PAPPANO)

ВВЕДЕНИЕ

Появление и развитие в миокарде рецепторов вегетативной нервной системы и механизмов, позволяющих этим рецепторам осуществлять регуляцию работы сердца при внешних по отношению к сердцу воздействиях, в настоящее время интенсивно изучаются. Интерес к этому вопросу обусловлен тем, что знание свойств рецепторов и рецепторных механизмов очень важно для понимания физико-химических, физиологических, фармакологических и патологических особенностей работы сердца [1, 2]. Более того, систематическое изучение онтогенетической последовательности событий при появлении рецепторов к вегетативным медиаторам, при возникновении первых реакций на активацию рецепторов и при изменении функций миокарда, опосредованном рецепторными влияниями, необычайно важны для понимания регуляции процесса возбуждения и сокращения сердца под действием вегетативных медиаторов.

В этой главе представлен обзор данных о развитии постсинаптических рецепторов к вегетативным медиаторам и о механизмах изменения работы сердца при их активации. Особое внимание уделено биохимическим исследованиям свойств рецепторов и роли циклического АМФ (цАМФ) в качестве посредника, связывающего активацию рецепторов с физиологическими и фармакологическими реакциями. Рассмотрен также ряд аспектов вегетативной иннервации сердца у эмбрионов, однако читатель, более глубоко интересующийся этим вопросом, может обратиться к последним обзорам, посвященным подробному рассмотрению нейрогенеза [3—6]. В этой главе не обсуждаются изменения механизмов вегетативной регуляции у взрослых животных и при старении. Анализ изменений адренергических функций при старении обсуждается в соответствующем обзоре [7].

МУСКАРИНОВЫЙ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИЙ РЕЦЕПТОР

Изучение связывания с рецептором

Химические свойства мускаринового холинергического рецептора изучались с помощью бензилата ^3H -3-хиниклидинила (^3H -QNB), антагониста мускаринового рецептора. Специфическое связывание ^3H -QNB с гомогенатом миокарда эмбриона и миокарда новорожденных животных характеризуется насыщением и составляет более 90% от общего связывания [8—11]. Антагонисты мускариновых рецепторов вытесняют ^3H -QNB с мест специфического связывания при концентрациях, которые в 1000 раз ниже, чем соответствующие концентрации для агонистов (табл. 23.1). Более того, связывание мускариновых антагонистов (QNB, атропин, скополамин) характеризуется коэффициентом Хилла, равным 1,0, в то время как связывание агонистов описывается коэффициентом Хилла, равным 0,5 [9—11]. Кинетический анализ показал, что связывание ^3H -QNB соответствует последовательности из двух реакций, в ходе которых при длительном воздействии лиганда (более 1 ч) происходит превращение быстро распадающегося комплекса ^3H -QNB с рецептором в медленно распадающийся комплекс [9].

Связывание ^3H -QNB с высоким сродством наблюдалось в гомогенате ткани миокарда эмбрионов, новорожденных и взрослых мышей (см. табл. 23.1). Концентрация атропина, необходимая для вытеснения 50% ^3H -QNB, специфически связанного с гомогенатом миокарда мыши, не изменяется по мере развития организма [12]. Подобный результат относительно отсутствия изменений в ходе эмбрионального развития K_D (константы диссоциации) для QNB [10] и IC_{50} для атропина [9] был получен в экспериментах на сердце цыпленка. Наконец, как в миокарде цыпленка, так и в миокарде мыши никотиновые холинергические антагонисты (d-тубокурарин, гексаметоний, нейротоксин *Naja-mossambica*, α -булгаротоксин) способны вытеснять ^3H -QNB только при высоких концентрациях ($IC_{50} > 10^{-4}$ М). Поэтому был сделан вывод, что количественную оценку свойств мускариновых холинергических рецепторов в миокарде эмбрионов можно получить путем определения K_D и числа мест специфического связывания ^3H -QNB. Этот вывод согласуется с данными, полученными в экспериментах на миокарде взрослых животных [1, 2, 13].

Согласно Sastre с соавт. [8], а также Hosey и Fields [14] количество мест специфического связывания ^3H -QNB увеличивается в процессе развития сердца куриного эмбриона. Эти данные расходятся с данными других авторов [9, 10], которые не обнаружили изменения числа этих мест связывания. И в экспериментах Sastre с соавт. [8], и в экспериментах Galper с соавт. [9] количество белка в препарате оценивали методом Лоури, поэтому различие числа мест связывания ^3H -QNB в этих работах, по-видимому, нельзя объяснить методикой. Связывание ^3H -QNB зависит от катионного состава среды и от наличия гуанинуклео-

Таблица 23.1. Связывание с мускариновым холинергическим рецептором^a

Субстрат	IC ₅₀ , M			Литература
Понорожденный мышонок	B _{max} (10 ⁻¹² фмоль/мг белка)	Атропин	3-4 · 10 ⁻⁹	8
		Адх	3 · 10 ⁻⁸	
Куриный эмбрион	0,4 0,7 1,5-2,0 2,0-3,0 ≈ 5,0	Карб	1-2 · 10 ⁻⁶	
		1-дневный		
		7-дневный		
		17-дневный		
		21-дневный		
Куриный эмбрион	≈ 0,25 ^b	QNB	1 · 10 ⁻⁹	9
		Атропин	2,2 · 10 ⁻⁹	
Куриный эмбрион	≈ 0,17 ^b	Карб (3E)	3,7 · 10 ⁻⁶	10
		Карб (9E)	0,8 · 10 ⁻⁶	
Куриный эмбрион	0,28	Атропин	25 · 10 ⁻⁹	11
		Окстреморин	4,8 · 10 ⁻⁶	
21-дневный ^a	0,59	Атропин (10E)	6 · 10 ⁻⁶	
		Атропин (H)	6,2 · 10 ⁻⁹	
		Карб (10E)	3,3 · 10 ⁻⁶	
		Карб (H)	30 · 10 ⁻⁶	
		Адх (10E)	1,5 · 10 ⁻⁷	
Адх (H)	40 · 10 ⁻⁷			
Эмбрион мыши	B _{max} (число мест связывания ³ [H]-QNB/мкм ²) ^c			27
		9-дневный	452	
		14-дневный	844	
		17-дневный	784	
Понорожденный мышонок, 1 день	407			
Эмбрион мыши	B _{max} (10 ⁻¹⁵ моль/мг ткани)			12
		Не определяется		
		13-14-дневный	≈ 1,5	
		15-16-дневный	≈ 3,1	
		17-18-дневный	≈ 2,9	
		19-20-дневный	≈ 5,3	
21-22-дневный	12,0	Атропин	6,7 · 10 ⁻⁹	

^a ³[H]-QNB (хиноклидинбензилат, меченый тритием) использовался во всех экспериментах для идентификации мускариновых холинергических рецепторов.

^b Между 3-м и 18-м днями эмбрионального развития не обнаружено никаких изменений максимума специфического связывания.

^c Число мест связывания почти удваивается через 1 нед нахождения в культуре. Данные получены на гомогенате (B_{max}) и на мембранной фракции гомогената (IC₅₀).

тидов как в сердце взрослых млекопитающих [1], так и в сердце эмбрионов птиц [14, 15]. Однако возможность того, что различия в концентрациях этих веществ могут влиять на число и средство выявляемых мест специфического связывания ^3H -QNB, не дает убедительного объяснения расхождению результатов. Мускариновые холинэргические рецепторы присутствуют в симпатических адренэргических нервных окончаниях, что может вносить определенный вклад в оценку V_{max} в гомогенате миокардиальных клеток эмбриона.

Эксперименты как Galper с соавт. [9], так и Nosey и Fields [11] осуществлялись на гомогенате ткани, и мало вероятно, чтобы в препарате, использованном Galper с соавт. [9], отсутствовали места связывания для ^3H -QNB нервной ткани. Кстати, Galper с соавт. [9] отметили, что они не обнаружили никаких отличий между тканью предсердий и желудочков ни в числе мест связывания ^3H -QNB в 1 мг белка, ни в изменении их распределения с возрастом эмбриона. При использовании культуры кардиомиоцитов, полученных из 8-дневных куриных эмбрионов, V_{max} составляла 200 фмоль/мг белка в ткани предсердий и 150 фмоль/мг белка в ткани желудочков [16]. Авторадиографические методы выявили диффузное распределение специфических мест связывания ^3H -QNB ($K_D = 30$ нМ), а плотность мускариновых холинэргических рецепторов (мест/мкм²) составила, согласно оценкам, 83 ± 5 в предсердии и 81 ± 4 в желудочках [16].

Зависимость эффекта от концентрации для вытеснения ^3H -QNB агонистами из мест связывания в сердце куриного эмбриона характеризуется коэффициентом Хилла 0,5 в отличие от величины 1,0 для вытеснения ^3H -QNB антагонистами. На основании аналогичных результатов, полученных для сердца у взрослых млекопитающих, был сделан вывод о гетерогенности мускариновых рецепторов в миокарде и выдвинуто предположение, что агонисты (но не антагонисты) могут «индуцировать или стабилизировать активное конформационное состояние рецептора» (см. стр. 24 в работе Hulme с соавт. [1]). Следует отметить, что концентрация агониста, необходимая для вытеснения 50% специфически связанного ^3H -QNB, изменяется в зависимости от возраста эмбриона. Galper с соавт. [9] обнаружили, что для угнетения связывания ^3H -QNB на 50% необходимо $3,7 \cdot 10^{-6}$ М карбахола (Карб) в миокарде 3-дневных эмбрионов и $8 \cdot 10^{-7}$ М для 9-дневных эмбрионов. Nosey и Fields [11] сообщили, что величина IC_{50} для вытеснения ^3H -QNB ацетилхолином (Ацх) составляет $0,16 \cdot 10^{-6}$ М у 10-дневных эмбрионов и $3,98 \cdot 10^{-6}$ М у вылупившихся цыплят. Аналогичные результаты получены в экспериментах с Карб. Так как в этих двух исследованиях использовали эмбрионов разного возраста, то невозможно пайти какое-либо удовлетворительное объяснение такому явному расхождению результатов. Величина IC_{50} для Карб была равна $3,28 \cdot 10^{-6}$ М у 10-дневных эмбрионов [11] и $0,8 \cdot 10^{-6}$ М у 9-дневных [9]. Однако существенно различались экспериментальные препараты (фракция клеточных мембран в работе Nosey и Fields [11] в отличие от

омогнута ткани в работе Galper с соавт. [9]), что исключает возможность систематического сопоставления результатов.

Носеу и Fields [11] обнаружили, что реверсия связывания ^3H -QNB при добавлении атропина происходит быстрее, чем сообщалось в других работах [9, 10]. Причины такого расхождения в ранних исследованиях в работе Носеу и Fields выяснить не удалось, хотя они использовали те же среды для инкубации и измерения, что и Galper с соавт. [9].

Наличие гетерогенной популяции мускариновых рецепторов в сердце эмбриона установлено в экспериментах на кардиомиоцитах в культуре [14] и на интактных предсердиях эмбриона [17], где наблюдалось снижение чувствительности миокарда к Карб в ходе продолжительного воздействия. Результаты, полученные в этих двух лабораториях, сходны в том, что воздействие Карб на миокард в течение 3—6 ч уменьшает число мест связывания ^3H -QNB без изменения их сродства к ^3H -QNB. Galper и Smith [14] сообщили, что в присутствии Карб происходит быстрее (в 1 мин) уменьшение числа мест связывания ^3H -QNB на 26%, и что эта часть мест связывания оказалась не чувствительна к никотилину, разрушающему микротрубочки. Более того, такое уменьшение числа мест связывания сопровождалось уменьшением сродства Карб к оставшимся местам связывания ^3H -QNB. Аналогичный сдвиг IC_{50} для вытеснения ^3H -QNB под действием Карб из мест связывания происходит в присутствии гуанилидиндифосфата ($\text{Gpp}(\text{NH})\text{p}$) [14]. В отличие от этого более медленное уменьшение числа мест связывания ^3H -QNB под действием Карб частично угнетается при обработке препарата миокарда никотином, и добавление $\text{Gpp}(\text{NH})\text{p}$ не влияет на восстановление мест связывания ^3H -QNB. Аналогичные результаты были получены, когда десенсибилизацию вызывали воздействием Карб на интактное сердце эмбрионов [17]. Продолжительное воздействие Карб снижает долю рецепторов, находящихся в состоянии высокого сродства (P_h), без какого бы то ни было изменения сродства к Карб рецепторов в состоянии P_l (состояние с низким сродством). Наконец, Halvorsen и Nathanson [17] пришли к выводу, что для проявления отрицательного хронотропного действия Карб рецептор не обязательно должен находиться в состоянии P_h , что согласуется с предположением (обсуждается в работе Hulme с соавт. [1]), что P_h является физиологически активной формой мускаринового рецептора.

Активация рецептора

Электрофизиологические и механические эффекты. Общий результат влияния парасимпатических нейромедиаторов, ацетилхолина (Ацх) и мускариновых агонистов на миокард эмбриона заключается в ингибировании различных функций. Обзор [3] специально посвящен связи между чувствительностью СП узла к ингибирующему действию мускариновых агонистов и возникновением парасимпатической нейроэффекторной передачи. Ингиби-

рование пейсмекерной активности СП узла сердца 3- и 4-дневных эмбрионов связано с деполяризацией, в отличие от гиперполяризации, наблюдающейся в сердце эмбриона на 6-й день развития и позже [18]. Сделан вывод, что деполяризация мембраны СП узла связана с увеличением натриевой проводимости (g_{Na}) под действием Ацх, и что такое изменение натриевой проводимости маскирует увеличение калиевой проводимости (g_K), однако гиперполяризацию в миокарде 4-дневных эмбрионов можно все же наблюдать при действии Ацх, если удалить из среды ионы Na^+ . Способность Ацх увеличивать g_K и вызывать вследствие этого гиперполяризацию мембран клеток СП узла возрастает в ходе эмбриогенеза параллельно увеличению g_K мембран миокарда предсердий. Постепенное уменьшение g_{Na}/g_K в ходе эмбриогенеза наблюдалось также в миокарде желудочков сердца куриного эмбриона [19]. Увеличение g_K в миокарде желудочков в ходе эмбрионального развития сердца цыпленка подтверждено путем измерения проницаемости мембраны сарколеммы к ионам K^+ [20].

В процессе онтогенеза чувствительность СП узла к ингибирующему действию Ацх увеличивается [21, 22]. Эти результаты были подтверждены другими исследователями, которые изучали свойства мускаринового рецептора с помощью $^3[H]$ -QNB [9, 10]. Следует особо отметить следующие два аспекта исследований связывания $^3[H]$ -QNB. Во-первых, мускариновые холинергические рецепторы выявляются уже в миокарде желудочков 3-дневного эмбриона, т. е. к тому моменту, когда, по мнению авторов, мускариновые агонисты не оказывают угнетающего действия на частоту спонтанных сокращений [9, 10]. Однако эти результаты получены на культурах клеток или на целом сердце, когда в препарате содержится смесь клеток предсердий и желудочков. Следовательно, будет неправильно связывать 20—60% уменьшение частоты спонтанных сокращений под действием мускариновых агонистов со свойствами мускариновых холинергических рецепторов клеток предсердий и желудочков, так как первый эффект является следствием влияния веществ на СП узла, а свойства рецепторов изучаются на популяции рецепторов миокарда предсердий и желудочков. Сообщалось, кстати, что места специфического связывания $^3[H]$ -QNB не выявляются в сердце эмбриона мыши на 13—14-й день развития [12]. Однако на таком препарате Ацх в концентрации 10^{-6} М уменьшает ЧСС на 44%. Невозможность определить при этом места специфического связывания $^3[H]$ -QNB, хотя явно выявляется фармакологическое действие Ацх на мускариновые рецепторы, может быть следствием того, что рецепторы мембран СП узла оказываются «разбавленными» в большой массе миокарда предсердий и желудочков [23]. Во-вторых, Galreg и соавт. [9] обнаружили, что сердце куриного эмбриона практически не чувствительно к Карб, если возраст эмбриона составляет от 2 до 4 дней, а миокард 7-дневного эмбриона обладает уже полной чувствительностью к Карб. Эти результаты были получены в присутствии изопроterenола, β -адренергического агониста, увеличивающего ЧСС. Позднее было показано, что угнетение кальциевых

потенциалов действия при действии Ацх на миокард желудочков куриного эмбриона не наблюдается вплоть до 7-го дня эмбрионального развития, а в последующие дни эмбриогенеза для проявления ингибирующего действия Ацх необходимо присутствие β -адренергических агонистов [24]. Возможно, расхождение результатов Renand с соавт. [10], обнаруживших ингибирующее действие мускариновых агонистов в более ранние сроки, чем Galper с соавт. [9], обусловлено увеличением доли клеток предсердий, которые прямо угнетаются Ацх в препаратах, использованных Renand с соавт.

Поскольку число специфических мест связывания ^3H -QNB не увеличивается в ходе эмбрионального развития цыплят, повышение чувствительности миокарда к мускариновым агонистам в процессе эмбриогенеза было объяснено повышением эффективности сопряжения мускариновых рецепторов с тем видом мембранной проводимости, который считается связанным с развитием ингибирующего действия, а именно, с P_K [9, 10]. Этот вывод практически совпадает с выводом, сделанным ранее на основе электрофизиологических экспериментов [18]. Однако ни в одном из этих исследований не была рассмотрена возможность того, что угнетающее действие мускариновых агонистов на работу сердца, особенно на клетки СП узла, может быть опосредовано угнетением медленного входящего тока (I_{si}), переносимого ионами Ca^{2+} , и что именно эта система становится более чувствительной к ингибирующему действию Ацх.

Возможность угнетения активности клеток предсердий под действием Ацх посредством влияния как на I_{si} , так и на I_K была показана на миокарде у взрослых млекопитающих (см. обзор Renter [25]), и такое действие наблюдалось в миокарде цыпленка [26].

Результаты, полученные на сердце мыши, показывают, что этот миокардиальный препарат становится более чувствительным к ингибирующему действию Ацх по мере увеличения количества мускариновых холинергических рецепторов (см. обзор Roeske и Windenthal [23]). Несмотря на то, что повышение чувствительности миокарда к ингибирующему действию мускариновых агонистов и увеличение количества мускариновых холинергических рецепторов в сердце эмбриона мыши являются общепризнанными факторами, стоит отметить, что в другой работе [27] оба эти явления удалось продемонстрировать только на ранней стадии эмбрионального развития (клетки выделяли из миокарда 9-дневного эмбриона и в течение двух дней содержали в условиях культуры клеток). Нет никаких данных о роли изменений мембранной проводимости, в частности, g_K , в увеличении чувствительности сердца эмбриона мыши, его пейсмекерной активности, к ингибирующему действию мускариновых агонистов. В сердце крысиного эмбриона повышение чувствительности к Ацх развивается параллельно росту калиевой проводимости мембраны [28]. Чувствительность СП водителя ритма к отрицательному хронотропному действию Ацх и Карб после рождения уже не изменяется [29].

Если предположить, что в сердце крысы происходит такое же увеличение числа специфических мест связывания $^3\text{H-QNB}$ в процессе онтогенеза, как и в сердце мыши, то можно говорить о координированном развитии в миокарде крысы мускариновых рецепторов и связанных с ними калиевых каналов, ответственных за проявление ингибирующего действия. Такую модель нельзя применять к сердцу куриного эмбриона, раз плотность мускариновых рецепторов в нем не изменяется в ходе онтогенетического развития, как предполагается некоторыми исследователями [9, 10].

Ингибирующее действие мускариновых агонистов на миокард желудочков куриного эмбриона может быть связано с уменьшением проводимости g_{si} , которая увеличивается под действием веществ, повышающих внутриклеточное содержание цАМФ (см. обзоры Раррано [4], Раррано и Вегон [30], а также следующий раздел этой главы). Для объяснения угнетения кальциевых потенциалов действия в желудочках куриного эмбриона [24, 31] и вылунившихся цыплят [26] достаточно предположить, что уменьшается лишь g_{si} . В этом заключается существенное отличие от миокарда предсердий цыплят, где ингибирующее действие мускариновых агонистов, выражающееся в угнетении кальциевого потенциала действия, сопровождается увеличением g_{K} [26]. Ингибирование максимальной скорости нарастания (V_{max}) кальциевого потенциала действия кардиомиоцитов желудочков является косвенной мерой I_{Ca} , и под действием Ацх характеризуется отсутствием конкуренции с Ca^{2+} [26], в отличие от конкурирующего взаимодействия Ацх и $[\text{Ca}^{2+}]_0$ в миокарде предсердий [32]. Блокаторы кальциевых каналов (верапамил, нифедипин и нимодипин) в концентрации 10^{-6} М конкурентно угнетают кальциевый потенциал действия в миокарде желудочков [33]. Это означает, что, по-видимому, в процессе онтогенетического развития желудочков сердца птиц качественных изменений полного механизма (g_{si}), ответственного за ингибирующее действие мускариновых агонистов [26], не происходит, в отличие от того, что известно об их ингибирующем действии на миокард СП узла [18].

Отличаются ли мускариновые рецепторы клеток предсердий от рецепторов клеток желудочков? Как уже упоминалось в этой главе, плотность мускариновых рецепторов в клетках предсердий и клетках желудочков цыпленка одинакова. И в предсердиях, и в желудочках сродство рецепторов к атропину, рассчитанное с помощью анализа Шильда, также одинаково ($1-4 \cdot 10^{-9}$ М, Адам и Раррано, неопубликованные данные). Поэтому различное влияние Ацх на ионные токи предсердий и желудочков нельзя объяснить различиями плотности мускариновых холинэргических рецепторов или их сродства к антагонистам. Тем не менее, прежде чем делать окончательный вывод о роли мускариновых рецепторов в регуляции ионной проводимости, необходимо определить сродство рецепторов в этих двух типах клеток к агонистам.

Роль циклических нуклеотидов в проявлении ингибирующего действия мускариновых агонистов. Недавно был опубликован ряд

роли циклического аденозин-3,5-монофосфата (циклического АМФ или цАМФ) в развитии действия парасимпатических катехолических нейромедиаторов на работу сердца эмбрионов. В этой главе представлены дополнительные данные в поддержку гипотезы участия цАМФ в воздействии симпатических медиаторов на сердце эмбрионов.

В настоящее время получено большое количество данных в отношении участия системы аденилатциклазы—цАМФ в угнетении работы сердца куриного эмбриона, вызванном активацией мускариновых рецепторов. Ацетилхолин мало влияет на активность аденилатциклазы, содержание цАМФ в миоплазме, кальциевый потенциал действия и сокращение желудочка сердца куриного эмбриона. Однако на фоне изопротеренола (Изо) Ацх ингибирует активность аденилатциклазы, снижает накопление цАМФ в цитоплазме, препятствует увеличению кальциевого потенциала действия, угнетает положительное инотропное действие Изо в миокарде желудочков сердца куриного эмбриона (см. обзор Parrano и Woodson [30]). Этот эффект, называемый косвенным мускариновым ингибированием, наблюдается лишь после 7-го дня инкубации, что согласуется с данными других исследователей [9]. Так как мускариновые холинэргические рецепторы существуют уже на третий день инкубации, было высказано предположение, что для проявления ингибирующего действия Ацх на активацию аденилатциклазы при стимуляции β -адренэргических рецепторов необходим синтез регуляторной белковой субъединицы, чувствительной к нуклеотидам (обозначается N_1 согласно гипотезе Rodbell [34]), или ее включение в состав рецепторного комплекса [30]. После того, как цыпленок вылупился из яйца, наблюдается прямое ингибирующее действие Ацх на активацию аденилатциклазы, накопление цАМФ, кальциевые потенциалы действия и сократимость даже в отсутствие адренэргической иннервации и β -адренэргических агонистов. Механизм перехода от косвенного ингибирующего действия мускариновых агонистов к прямому может быть обусловлен изменением регуляции активности каталитической субъединицы посредством N_1 , так как было показано, что Ацх ингибирует чувствительную к ГТФ аденилатциклазу в миокарде желудочков взрослых млекопитающих [35]. Переход от косвенного ингибирующего действия мускариновых агонистов к прямому в миокарде желудочков птиц может быть связан с изменением регуляции активности аденилатциклазы с помощью мускариновых рецепторов, так как при этом не происходит никаких качественных изменений тех типов ионной проводимости (g_{si}), на которые оказывают влияние мускариновые агонисты [26, 31].

Последовательность реакций, приводящая к развитию ингибирования активности миокарда при активации мускариновых рецепторов, является довольно сложной, так как в нее может также входить угнетение эффектов, связанных с накоплением цАМФ. Ингибитор фосфодиэстеразы, изобутилметилксантин (ИБМКС), приводит к накоплению цАМФ в миокарде эмбрионов птиц, и вследствие этого увеличивает кальциевый потенциал действия и

силу сокращения. В низкой концентрации Ацх ингибирует влияние ИБМКС на кальциевый потенциал действия и устраняет положительный инотропный эффект без уменьшения концентрации цАМФ [36]. Возможность ингибирования эффектов накопления цАМФ в сердце эмбриона при активации мускариновых рецепторов была подтверждена в экспериментах с использованием холерного токсина. Уже после 3 мин действия Ацх происходит исчезновение положительного инотропного эффекта холерного токсина без какого бы то ни было влияния на стимуляцию активности аденилатциклазы или 2—5-кратное увеличение содержания цАМФ, которые являются следствием воздействия токсина в течение 3 ч [37]. Неизвестно пока, каков механизм такого типа ингибирующего действия активации мускариновых рецепторов: связан ли он с влиянием на активацию цАМФ-зависимых протеинкиназ или с влиянием на фосфорилирование мембранных белков. Предполагается, что стимулирующее действие ИБМКС может быть опосредовано угнетением ингибирующего действия эндогенного аденозина на аденилатциклазу и что Ацх усиливает ингибирующее действие аденозина [36], однако эту точку зрения осматривают Linden с соавт. [38]. Хотя эти исследователи и подтвердили результаты наблюдений о том, что активация мускариновых рецепторов ингибирует влияние ИБМКС на кальциевые потенциалы действия, они сделали вывод, что эндогенный аденозин не играет существенной роли ни в стимулирующем действии ИБМКС, ни в ингибирующем действии ацетил- β -метилхолина. Этот вывод был основан на том, что ингибиторы фосфодиэстеразы, не относящиеся к метилксантинам и не взаимодействующие с рецепторами к аденозину, по их данным, позволяют выявить ингибирующее действие, опосредованное активацией мускариновых рецепторов, которое может быть объяснено снижением уровня накопления цАМФ в клетках.

Для выяснения причины такого расхождения необходимо проведение более тщательных исследований. Независимо от результатов, полученных в экспериментах с ИБМКС, данные экспериментов с Ацх и холерным токсином будет наиболее разумно объяснить влиянием на мускариновые рецепторы, активация которых вызывает угнетение тех функций клеток, которые зависят от цАМФ, без изменения клеточного содержания цАМФ. Аналогичный вывод был сделан на основании экспериментов на сердце взрослых млекопитающих, где Ацх ингибирует положительный инотропный эффект адреналина, но не влияет на накопление при этом цАМФ. Ингибирующее действие вследствие активации мускариновых рецепторов было в этом случае приписано либо уменьшению активации цАМФ-зависимой протеинкиназы [39], либо угнетению фосфорилирования при постоянном коэффициенте активности протеинкиназы [40].

Предположение о возможном участии циклического гуанозин-3,5-монофосфата (циклический ГМФ или цГМФ) в развитии эффектов ингибирования, вызываемых активацией мускариновых рецепторов в миокарде взрослых животных, было изучено экспе-

риментально, и в результате это предположение не было подтверждено (см. обзор Linden и Brooker [41]). Renaud с соавт. [10] обнаружили, что содержание цГМФ в полосках миокарда сердца эмбрионов возрастает одновременно с развитием отрицательного хронотропного эффекта мускариновых агонистов, но теми же исследователями было показано, что сами мускариновые агонисты не влияют на содержание цГМФ в реагрегатах кардиомиоцитов при существенном угнетении их автоматической активности [10]. Позднее было обнаружено, что ингибирование мускариновыми агонистами положительного инотропного эффекта колорного токсина не сопровождается изменениями содержания цГМФ в миокардиальных клетках желудочков сердца куриного эмбриона [37]. Ни одна из этих работ не исключает возможности того, что мускариновые агонисты увеличивают содержание цГМФ в небольших внутриклеточных пулах и, таким образом, активируют протенинкиназу одновременно с ингибированием активности миокарда. Такой механизм был предложен в результате экспериментов, подтверждающих справедливость гипотезы участия цГМФ в развитии ингибирующего действия агонистов мускариновых рецепторов [42].

Следует рассмотреть также возможность того, что мускариновые холинергические рецепторы принимают участие в регуляции последовательности реакций, не зависящих от циклических нуклеотидов. Результаты исследований, проведенных в ряде лабораторий (см. обзор Parrao [34]), а также более новые данные, полученные другими исследователями [10], в том числе авторами данной главы [36], показывают, что мускариновые агонисты оказывают стимулирующее влияние на сердце птиц. При высоких концентрациях ($> 10^{-6}$ М) Ацх увеличивает силу сокращения миокарда желудочков сердца куриного эмбриона [36] и вылипявшегося цыпленка (Adam L. P., Black D. и Parrao A. J., неопубликованные данные). Положительный инотропный эффект Ацх (или реверсия отрицательного инотропного эффекта в сердце вылипявшихся цыплят) не предотвращается пропранололом (антагонист β -адренергических рецепторов) и не связан с увеличением уровня цАМФ [36]. Атропин блокирует развитие положительного инотропного действия Ацх и Карб в высоких концентрациях в миокарде желудочков сердца куриного эмбриона. Механизм такого стимулирующего эффекта активации мускариновых рецепторов не известен. Можно предположить, что положительное инотропное действие Ацх связано с увеличением синтеза веществ типа простагландинов. Простагландин Е оказывает положительное инотропное влияние на миокард желудочков сердца куриного эмбриона (Black и Parrao, неопубликованные данные). Было также установлено, что Ацх может увеличивать синтез простагландинов в эндотелиальных клетках сосудов [43, 44]. Тот факт, что сердце эмбриона формируется путем слияния кровеносных сосудов, свидетельствует в пользу такого предположения.

β-АДРЕНЕРГИЧЕСКИЙ РЕЦЕПТОР

Изучение связывания рецептора

Результаты последних работ по изучению связывания радиоактивных лигандов с β-адренергическим рецептором в сердце амфионов суммированы в табл. 23.2; в этих исследованиях в качестве антагониста с радиоактивной меткой использовали ^3H -дигидроалprenолол (^3H -ДГА). В экспериментах на сердце мыши [45] использовали следующие критерии, позволяющие идентифицировать места специфического связывания ^3H -ДГА как β-адренергические рецепторы. Специфическое связывание ^3H -ДГА характеризовалось насыщением, было обратимо и характеризовалось высоким сродством и специфичностью к стереоизомерам. Кажущаяся константа диссоциации (K_D) для специфического связывания ^3H -ДГА в гомогенате миокарда взрослой мыши оказалась равной 0,32 нМ в экспериментах по равновесному связыванию и $0,30 \pm 0,05$ нМ в экспериментах по определению кинетики связывания [45]. В сердце взрослой мыши IC_{50} для вытеснения специфически связанного ^3H -ДГА характеризовалась специфичностью к стереоизомерам и ожидаемым различием между агонистами и антагонистами (см. табл. 23.2). Места специфического связывания ^3H -ДГА могут быть идентифицированы как β-адренергические рецепторы, так как величины IC_{50} для адреналина и порадреналина были близки по величине и приблизительно в 9 раз больше, чем для изопротеренола (Изо). Следует отметить, что Адх в концентрации 10^{-4} М не влиял на специфическое связывание ^3H -ДГА. Коэффициент Хилла для связывания ^3H -ДГА равен 1,0, что согласуется с представлением о наличии одного класса мест связывания. То, что коэффициент Хилла для других агонистов и антагонистов равен 0,7, остается загадкой, так как обычно он составляет 1,0 для антагонистов и 0,5 для агонистов [46]. Аналогичные результаты о насыщаемости и обратимости связывания ^3H -ДГА и вытеснения ^3H -ДГА агонистами и антагонистами были получены на фракции гомогената миокарда новорожденных крысят, полученной центрифугированием при 30 000 g [47], и на фракции гомогената миокарда куриных эмбрионов, полученной центрифугированием при 50 000 g [48]. Специфическое связывание ^3H -ДГА составляет от 50 [45] до 80% [47, 48] от общего связывания. В экспериментах на препаратах плазматических мембран, выделенных из сердца крысы, изучали также специфическое связывание (\pm) — ^{125}I -йодогидроксibenзилпиндолола ((\pm) ^{125}I -ГБП) — β-адренергического антагониста, который удается получить с очень высокой удельной радиоактивностью [49]. Результаты этих экспериментов подтвердили данные, полученные с помощью ^3H -ДГА, относительно идентификации β-адренергических рецепторов. Величина V_{\max} для связывания ^3H -ДГА составила соответственно 64 и 36 фмоль/мг белка в сердце плода и взрослого животного: аналогичные величины для V_{\max} с ^{125}I -ГБП были равны 53 и 16 фмоль/мг белка

соответственно [49]. Однако авторы отметили, что относительное отличие числа β -адренергических мест связывания не зависит от типа используемого радиоактивного лиганда. Следует отметить, что β -адренергические рецепторы составляют в общей популяции мест связывания 75 и 25% соответственно [49]. Фентоламин в концентрации 10^{-5} М не влиял на связывание ^3H -ДГА [47]. Наличие $\text{Gpp}(\text{NH})\text{p}$ в концентрации 10^{-4} М не изменяет максимального числа специфических мест связывания ^3H -ДГА в сердце куриного эмбриона, изолированного на 5-й или 13-й день инкубации [48]. Не известно, изменяются ли в присутствии $\text{Gpp}(\text{NH})\text{p}$ кривые зависимости вытеснения лиганда от концентрации антагониста, однако присутствие ГТФ уменьшает в сердце крысиного плода кажущееся сродство мест связывания ^{125}I -ГБП для агонистов и увеличивает коэффициент Хилла до 1,0 [49]. Это близко к тому, что наблюдается в сердце взрослых животных [2], поэтому можно сделать вывод, что в исследованиях связывания радиоактивных лигандов в сердце эмбрионов птиц и млекопитающих изучаются свойства именно β -адренергических рецепторов.

Изменение свойств мест специфического связывания ^3H -ДГА в ходе онтогенеза, выявленное в результате систематических исследований β -адренергических рецепторов, характеризуется удивительным разнообразием возможных картин. У мыши между величинами K_D для связывания ^3H -ДГА в сердце плода и сердце взрослого животного нет существенного различия [45]. На поздних стадиях внутриутробного развития происходит значительное увеличение максимального числа мест связывания, которое достигает уровня взрослого животного (100%) через 1 день после рождения, потом резко возрастает до 178% между 3-м и 14-м днями после рождения и лишь затем снова возвращается к уровню взрослого животного ($2,24 \pm 0,1$ фмоль/мг ткани) [23]. Такая же картина изменений была получена и в другой серии экспериментов [50]. Был сделан вывод, что число β -адренергических рецепторов уменьшается после окончания периода вскармливания молоком вследствие развития симпатической адренергической иннервации, сопровождающейся увеличением содержания норадреналина в сердце [23]. Эти результаты согласуются с «регуляцией вниз»¹ числа β -адренергических рецепторов, вызванной увеличением поступления нейромедиатора [2, 46].

Аналогичный вывод был сделан при изучении изменений свойств β -адренергических рецепторов в сердце куриного эмбриона между 5-м и 17-м днями инкубации [48]. Авторы обсуждают предположение о том, что значительное уменьшение числа мест специфического связывания ^3H -ДГА может быть вызвано появлением норадренергических нейронов, так как именно в это время происходит установление нейроэффекторной связи между мио-

¹ Термин «регуляция вниз» (down-regulation — англ.) в данном случае означает уменьшение числа рецепторов под влиянием регуляторных воздействий. — Примеч. пер.

вардом и вегетативной нервной системой. Это предположение подтверждается тем, что между 7-м и 10-м днями инкубации в миокарде значительно увеличивается содержание норадреналина (НА) [51]. Эксперименты, проведенные в лаборатории авторов, показали, что поглощение НА, чувствительное к кокаину, впервые выявляется на 12-й день инкубации, когда небольшое число адренергических аксонов, наконец, достигает миокарда и получает способность освобождать НА в результате процесса, зависящего от поступления ионов Ca^{2+} при деполяризации, вызываемой ионами K^+ [52]. Поэтому к 13-му дню инкубации секреторные механизмы адренергических нейронов могут оказаться достаточно развиты для того, чтобы вызвать «регуляцию вниз» числа β -адренергических рецепторов. Однако секреция НА при электрической стимуляции или повышении внеклеточной концентрации K^+ резко увеличивается (в 20 раз) между 12-м и 16-м днями инкубации [52]. В течение этого времени не происходит никаких изменений числа β -адренергических рецепторов в сердце цыпленка (см. табл. 23.2). В эритроцитах куриного эмбриона число специфических мест связывания 3H -ДГА было относительно постоянным между 8-м и 17-м днями инкубации, затем резко уменьшалось на 18-й день и оставалось на низком уровне и у вылупившихся цыплят, и у взрослых кур (см. табл. 23.2) [53]. Уменьшение плотности β -адренергических рецепторов на мембране эритроцитов, возможно, является следствием «регуляции вниз» из-за повышения уровня и усиления секреции катехоламинов в нейронах, которые появляются в это время (см. выше). Согласно данным Alexander с соавт. [48], уменьшение числа β -адренергических рецепторов было более выражено между 7-м и 9-м днями инкубации, чем между 9-м и 13-м днями. Имеется очень мало данных в пользу предположения о появлении к 9-му дню инкубации структур, обладающих свойствами симпатических адренергических аксонов [52]. Наконец, Ignatto и Shideman [51] сообщили, что в ходе эмбриогенеза цыпленка увеличение содержания НА в миокарде происходит дважды: первый раз между 7-м и 10-м днями инкубации и второй — между 14-м и 18-м. Максимальное содержание НА в ткани на 10-й и 18-й дни инкубации практически совпадают; необходимо отметить, что второе повышение содержания НА совпадает по времени с установлением адренергических нейроэффекторных связей в миокарде желудочков [54]. Прежде чем допустить, что результаты Alexander с соавт. [48] объясняются «регуляцией вниз» числа β -адренергических рецепторов вследствие развития симпатической адренергической иннервации, необходимо удостовериться, что число β -адренергических рецепторов остается низким и после установления адренергических нейроэффекторных связей, а также, что плотность β -адренергических рецепторов уменьшается при симпатической адренергической денервации.

Регуляция числа β -адренергических рецепторов в ходе онтогенеза была исследована также в миокарде крысы. Максимальное связывание 3H -ДГА на 1 мг белка снижается с $58,3 \pm 6,3$ фмоль

в сердце плода до $36,8 \pm 4,1$ фмоль в сердце взрослой крысы [49]. Этот результат был подтвержден в исследовании, посвященном изучению роли тиреоидных гормонов в регуляции числа β -адренергических рецепторов [47], которое являлось продолжением исследования, начатого другими учеными [55]. Bhalla с соавт. сообщили, что число β -адренергических рецепторов на 1 мг белка у крысы снижается с возрастом в диапазоне от 3 до 12 нед после рождения (см. табл. 23.2). Уменьшение V_{\max} в этом случае оказалось больше, чем было зарегистрировано в другой работе [47], хотя качественно результаты этих двух работ совпадают. В отличие от Whitsett с соавт. [47] Bhalla с соавт. обнаружили увеличение сродства β -адренергических рецепторов к $^3\text{[H]-ДГА}$ в течение исследуемого периода (от 3 до 12 нед). Причины такого расхождения результатов остаются неясными.

Несмотря на то, что число мест специфического связывания $^3\text{[H]-ДГА}$ в сердце возрастает с увеличением его массы [49, 55], содержание белка и активность (Na^+ , K^+ -АТФазы, 5-нуклеотидазы и аденилатциклазы) возрастают быстрее, чем масса сердца [49]. Эти результаты, вместе со стереометрическими оценками отношения площади поверхности клетки к ее объему, указывают, что число β -адренергических рецепторов на единицу площади мембраны сарколеммы не изменяется, а сама величина этой площади уменьшается в ходе развития сердца крысы [49, 55]. Обсуждалось предположение об отсутствии какого бы то ни было заметного влияния мужских и женских половых гормонов на число β -адренергических рецепторов [55], однако дефицит или избыток тиреоидных гормонов несомненно связан с уменьшением или увеличением соответственно величины V_{\max} для специфического связывания $^3\text{[H]-ДГА}$ в сердце крысят [47, 57—59]. Был сделан вывод, что тиреоидные гормоны или зависящие от них факторы способны участвовать в регуляции числа β -адренергических рецепторов, а также в гипертрофическом росте сердца крысы после рождения.

Влияние на электрическую и сократительную активность миокарда

Изопротеренол (Изо), адреналин (Адр) и норадреналин (НА) увеличивают ЧСС и силу сердечных сокращений за счет взаимодействия с β -адренергическими рецепторами в сердце эмбрионов птиц и млекопитающих (см. обзоры Pappano [3, 4], Roeske и Wildenthal [23], Sperelakis [60]). Ниже обсуждается роль стимуляции аденилатциклазы и накопления цАМФ в развитии положительных инотропных и хронотропных эффектов катехоламинов.

Активация β -адренергических рецепторов увеличивает амплитуду, длительность и скорость нарастания (\dot{V}_{\max}) кальциевых потенциалов действия в сердце куриного эмбриона [24, 61]. Этот эффект является отражением увеличения проводимости мембраны для ионов Ca^{2+} по каналам медленного входящего тока (g_{si}).

Если построить зависимость $(V_{\max})^{-1}$ от $[Ca^{2+}]_0^{-1}$, то она оказывается прямолинейной [33], что согласуется с гипотезой зависимости поступления Ca^{2+} в клетку от концентрации Ca^{2+} на поверхности мембраны, впервые предложенной для объяснения данных, полученных на скелетных мышечных волокнах усонюгих рыбок [62]. Изо увеличивает максимально достижимую величину V_{\max} , не влияя на кажущуюся константу диссоциации Ca^{2+} с местами связывания на мембране, имеющими отношения к регуляции кальциевого тока [26]. Этот результат показывает, что выявленное катехоламинами увеличение g_{si} , как и в миокарде желудочков сердца взрослых животных, связано с увеличением количества медленных кальциевых каналов, активируемых при данном потенциале, без изменения селективности этих каналов для ионов Ca^{2+} (см. обзор Renter [25]). Результаты измерений I_{Ca} в экспериментах по фиксации потенциала на реагрегатах кардиомиоцитов желудочков сердца куриного эмбриона в присутствии Изо согласуются с этой гипотезой [31]. Выходящий кальциевый ток (I_x) в клетках желудочков сердца эмбрионов не изменяется под действием Изо [31]. Эти результаты существенно отличаются от данных, полученных на предсердных волокнах [63] и волокнах Пуркинью [64, 65], где активация β -рецепторов вызывает увеличение I_x .

На миокарде животных нескольких видов была изучена связь между онтогенетическим изменением числа β -адренергических рецепторов и фармакологическими эффектами. В сердце эмбриона мыши увеличение числа β -адренергических рецепторов в ходе эмбрионального развития (см. табл. 23.2) было связано с увеличением чувствительности СП водителя ритма к Изо [45]. В этой работе было также установлено, что Изо не вызывает положительного хронотропного эффекта в миокарде сердца 14-дневного плода мыши, когда специфическое связывание 3H -ДГА составляет 14% от связывания в миокарде взрослой мыши. Этим данным противоречат результаты исследований на кардиомиоцитах, изолированных из плода мыши на 9-й день внутриутробного развития и содержащихся в течение 2 дней в условиях культуры, где Изо увеличивает частоту спонтанных возбуждений [27]. Наличие специфического связывания 3H -ДГА в таких кардиомиоцитах было показано лишь методом автордиографии, так как оценить число β -адренергических рецепторов оказалось невозможно вследствие большого процента неспецифического связывания 3H -ДГА. В ходе эмбрионального развития сердца происходит увеличение чувствительности к β -адренергическим агонистам, но это нельзя соотносить с повышением плотности β -адренергических рецепторов [27]. Быстрое увеличение числа β -адренергических рецепторов и чувствительности миокарда к Изо, происходящее в ходе эмбрионального развития, не сопровождалось изменением K_D к антагонистам [45]. (Связь между увеличением числа β -рецепторов в миокарде после рождения мыши (табл. 23.2) и увеличением чувствительности миокарда мыши к β -адренергическим агонистам не была изучена.) Интересно было бы выяснить,

можно ли исключить изменения сродства рецепторов к β -агонистам из объяснения повышения чувствительности миокарда к Изо. Наконец, эти исследования не исключили того, что в ходе эмбрионального развития сердца мыши возможно изменение механизма сопряжения аналогично процессам, оказывающим существенное влияние на чувствительность сердца цыпленка к активации β -рецепторов (см. следующий раздел).

В сердце куриного эмбриона чувствительность СП водителя ритма [22] и миокарда желудочков [54] к положительным инотропным и хронотропным эффектам катехоламинов уменьшается в течении последних 5 дней развития в яйце, а затем возрастает после вылупления. Такое снижение чувствительности к β -адренергическим агонистам, которое по времени, но не причинно связано с установлением адренергической нейроэффektorной связи, может быть объяснено модификацией β -адренергических рецепторов, каталитической субъединицы аденилатциклазы или ГТФ-связывающего регуляторного белка, который осуществляет сопряжение рецептора с каталитической субъединицей (см. следующий раздел).

Уменьшения числа β -адренергических рецепторов может быть недостаточно для объяснения такого типа снижения чувствительности миокарда к активации β -адренергических рецепторов. Согласно Alexander с соавт. [48], плотность β -адренергических рецепторов не изменяется между 13-м и 17-м днями инкубации, в то время как чувствительность к Изо на 13-й день высока, а на 17-й день — низка [54]. В течение 1-й нед после вылупления можно было бы ожидать дальнейшего уменьшения числа β -адренергических рецепторов, когда освобождение адренергического медиатора и нейроэффektorная связь достигают полного развития [52, 54] и можно ожидать дальнейшего проявления «регуляции вниз». Эта проблема не может быть решена пока не будут проведены измерения специфического связывания ^3H -ДГА на миокарде вылупившихся цыплят.

Эксперименты на сердце цыплят показывают, что чувствительность β -адренергических рецепторов к агонистам на этом этапе эмбрионального развития меняется сходным образом как в миокарде предсердий, так и в миокарде желудочков (см. обзор Parrano и Higgins [5], Higgins [6]). Чувствительность СП водителя ритма сердца крысы к НА не изменяется с момента рождения до 6—8-недельного возраста, в то время как чувствительность левого предсердия [66] или папиллярной мышцы снижается [67]. Чувствительность этих миокардиальных препаратов к Изо в то же время не изменяется. (Эти результаты находятся в противоречии с данными других исследователей, которые обнаружили, что чувствительность СП водителя ритма сердца крысы к Изо, определенная *in vivo*, существенно снижается после рождения, а затем к 16-му дню возрастает до уровня, уже не отличающегося от уровня чувствительности миокарда взрослого животного [68]. Еще одно расхождение было обнаружено в экспериментах Nukari—Siltovuori [29], получившего снижение

максимального эффекта Изо на изолированный СП узел сердца крысы, без изменения чувствительности [ED_{50} постоянна].) Так как Изо не поглощается адренергическими нервными окончаниями, а нейроэффекторная связь в СП узле устанавливается уже к моменту рождения, в отличие от более позднего его развития в левом предсердии и папиллярной мышце, был сделан вывод, что сниженная чувствительность двух последних препаратов к НА обусловлена поглощением НА нервными окончаниями, что эффективно уменьшает его концентрацию вблизи постсинаптических β -адренергических рецепторов [66, 67]. Эта гипотеза подтверждается результатами, полученными Ishii с соавт. [69], которые показали, что химическая симпатическая денервация (с помощью β -гидроксидопамина) или иммунная симпатическая денервация (с помощью антител к фактору роста нервов) предсердия новорожденного крысенка увеличивает его чувствительность к НА. Тот факт, что чувствительность постсинаптических β -адренергических рецепторов к Изо не изменяется с момента рождения до 8 недельного возраста [67], по-видимому, противоречит наблюдениям об увеличении числа рецепторов на одну клетку [49]. Ishii с соавт. [69] не подтвердили результатов Mackenzie и Standen [67], полученных на папиллярной мышце, в том, что касается отсутствия изменений чувствительности миокарда к НА на том этапе развития животного, во время которого, согласно представлениям обеих групп исследователей, происходит развитие адренергической иннервации миокарда. Можно предположить, что увеличение чувствительности постсинаптических клеток к β -адренергическим агонистам маскируется нейронным транспортом, который обуславливает поглощение НА, но не Изо. Чувствительность папиллярной мышцы к Изо также увеличивается при денервации, следовательно, в этих условиях определенный вклад в гиперчувствительность к β -адренергическим агонистам вносят процессы, происходящие в постсинаптической области [69]. Гипотеза Ishii с соавт. [69] о постсинаптическом компоненте гиперчувствительности к β -адренергическим агонистам согласуется с данными о том, что максимальная каталитическая активность аденилатциклазы (адреналин + гуанилимидодифосфат) выше в миокарде взрослых животных, чем в миокарде новорожденных [49].

Роль циклических нуклеотидов в действии β -адренергических агонистов

Существует ряд обзоров, посвященных предполагаемому участию цАМФ в воздействии β -адренергических агонистов на кардиомиоциты эмбрионов [4, 23, 60]. В пользу этого предположения также свидетельствуют данные о хорошей корреляции между увеличением \dot{V}_{\max} (пропорциональна i_{s1}) и повышенном содержании цАМФ в клетках желудочков сердца куриного эмбриона при действии ряда β -адренергических агонистов [70]. Такие результаты согласуются с гипотезой о том, что число ионов Ca^{2+} , входящих по медленным кальциевым каналам, регулируется

внутриклеточным уровнем цАМФ. Эта гипотеза подтверждается также тем, что пропранолол противодействует влиянию катехоламинов как на накопление в клетках цАМФ, так и на \dot{V}_{max} кальциевого потенциала действия, в то время как верапамил (блокатор кальциевых каналов) предотвращает только стимулирующее действие катехоламинов на кальциевый потенциал действия [70].

В сердце эмбрионов связь между β -адренергическими рецепторами и активностью аденилатциклазы была изучена несколькими методами. Число β -адренергических рецепторов в сердце куриного эмбриона уменьшается между 7-м и 13-м днями инкубации (см. табл. 23.2) [48]. В этот период времени не происходит никаких изменений ни базальной активности аденилатциклазы (пмоль цАМФ/10 мин·мг белка), ни стимуляции активности фермента изопротеренолом, Gpp(NH)p или комбинацией Изо + Gpp(NH)p. Был сделан вывод, что на этой стадии эмбрионального развития сердца куриного эмбриона отсутствует координация регуляции β -адренергических рецепторов и аденилатциклазы [48]. Ранее в этой главе отмечалось, что возможна регуляция плотности β -адренергических рецепторов в зависимости от степени развития симпатической адренергической иннервации. Так как уменьшение числа β -адренергических рецепторов в ходе онтогенеза не сопровождается уменьшением степени стимуляции аденилатциклазы под действием Изо, уменьшение накопления цАМФ, вызываемого Изо в интактных клетках [71, 72], не может быть связано с ослаблением реакции аденилатциклазы на стимулирующее действие β -адренергических агонистов [48].

Эксперименты на сердце новорожденных крысят продемонстрировали значение изменений числа β -адренергических рецепторов в развитии фармакологических реакций на агонисты. Введение новорожденным крысятам трийодтиронина (T_3) ускоряет развитие адренергической нейроэффektorной передачи в сердце [57]. Трийодтиронин, кроме того, увеличивает чувствительность миокарда крысы на 4-й день после рождения к Изо, что выражается в усилении положительного хронотропного эффекта. Эти результаты подтверждают данные, полученные на кардиомиоцитах новорожденных крысят в культуре, о том, что T_3 оказывает значительное влияние на постсинаптическую область, увеличивая число β -адренергических рецепторов и повышая чувствительность клеток к стимулирующему действию адреналина на аденилатциклазу [59]. Чувствительность миокарда животных, которым вводят T_3 , к Изо в конце концов к 11-му дню после рождения становится меньше, чем у контрольных животных [57]. Периоды повышенной (4—8-й дни) и пониженной (14—18-й дни) чувствительности к Изо (судя по положительному хронотропному эффекту) миокарда животных, которым вводили T_3 , были прямо связаны с увеличением V_{max} мест связывания ^3H -ДГА по сравнению с контрольными животными [57]. Между миокардом контрольных животных и животных, которым вводили T_3 , не обнаружено никаких заметных различий в K_D для ^3H -ДГА (7—11 нМ).

В миокарде крыс, у которых гипертириоз вызывали введением пропилтиоурацила, уменьшается как V_{\max} для связывания ^3H -ДГА, так и чувствительность СП узла к Изо [58]. Хотя результаты этой работы и данные других исследователей [47] качественно согласуются в том, что касается V_{\max} для связывания ^3H -ДГА в сердце контрольных животных и животных с гипертириозом, Lau и Slotkin [58] наблюдали значительное увеличение K_D для ^3H -ДГА в миокарде животных, которым вводили пропилтиоурацил, на 3-й и 15-й дни после рождения. Значение этих результатов пока неясно.

Влияние β -адренергических агонистов на активность аденилатциклазы может регулироваться способом, не зависящим от числа β -адренергических рецепторов. Инкубация миокарда желудочков 10-дневного куриного эмбриона с Изо в течение 30 мин снижает стимуляцию активности аденилатциклазы, вызываемую последующим добавлением той же самой концентрации Изо, до 35-48% от первоначальной реакции [73]. Эта процедура уменьшает также влияние Изо на сократимость. Такая десенсибилизация, которая, по-видимому, является специфической для β -адренергических агонистов, не связана ни с изменением числа мест специфического связывания ^3H -ДГА, ни с незначительным, но достоверным уменьшением средства рецептора к ^3H -ДГА ($5,2 \pm 0,3$ нМ по сравнению с $7,0 \pm 0,3$ нМ), ни с отсутствием явного изменения средства рецептора к Изо [73]. Такое состояние пониженной чувствительности можно привести к норме путем добавления $\text{Gpp}(\text{NH})\text{p}$ к фракции изолированных мембран. Поэтому десенсибилизация системы, состоящей из β -адренергического рецептора и аденилатциклазы, была отнесена за счет разобщения компонентов этой системы, которая предотвращается влиянием гуанинового нуклеотида на регуляторный белок, который сопрягает рецептор с каталитической субъединицей.

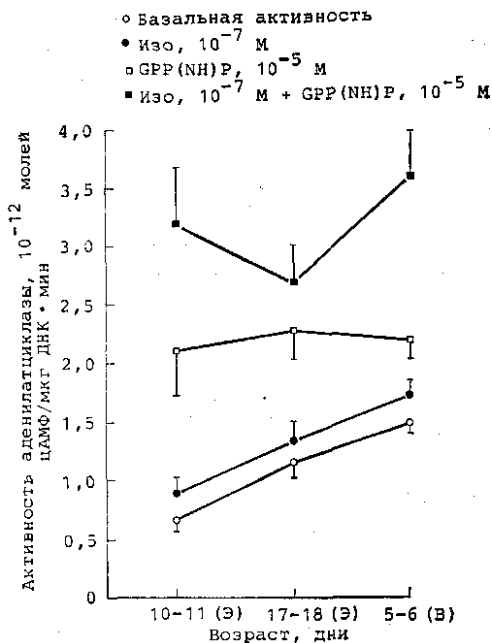
Эксперименты на кардиомиоцитах желудочков сердца куриного эмбриона в культуре показали, что десенсибилизация системы β -адренорецептор—аденилатциклаза может быть обусловлена уменьшением сопряжения рецептора с ферментом и уменьшением числа рецепторов [74]. Воздействие Изо в течение 1 ч даже в подпороговой концентрации (10^{-7} М) снижает степень стимуляции активности аденилатциклазы в препарате разрушенных клеток и уменьшает накопление цАМФ в интактных клетках при действии Изо в концентрации $5 \cdot 10^{-5}$ М. В результате 1-часового воздействия Изо число β -адренергических рецепторов (места связывания ^{125}I -ГБП) не изменялось, что соответствует данным Marsh с соавт. [73]. Vobik с соавт. [74] объяснили такую кратковременную десенсибилизацию разобщением β -адренергического рецептора и каталитической субъединицы аденилатциклазы, что было осуществлено в экспериментах Marsh с соавт. [73]. Кратковременное снижение чувствительности к Изо не сопровождалось изменением активности фосфодиэстеразы цАМФ [74]. Однако $\text{Gpp}(\text{NH})\text{p}$ не предотвращал развития кратковременной десенсибилизации, вызванной Изо [74], в отличие от результатов, полу-

ченных другими исследователями [73]. Десенсбилизация, вызываемая долговременным (16 ч) воздействием Изо, сопровождается уменьшением числа мест специфического связывания ¹²⁵I]-ГБП, поэтому был сделан вывод, что в десенсбилизацию такого типа определенный вклад вносит «регуляция вниз» числа β -адренергических рецепторов [74]. Чувствительность этих клеток к Изо восстанавливалась до 50 и 100% от нормы соответственно через 6 ч и 24 ч после удаления Изо из раствора. Этот результат согласуется с пока еще не проверенным предположением о том, что для регенерации β -адренергических рецепторов и восстановления таким образом способности клеток к активации β -адренергических рецепторов необходим синтез белка.

Другой тип снижения чувствительности миокарда к β -адренергическим агонистам был описан в миокарде желудочков сердца цыпленка. В работе [54] описано кратковременное снижение чувствительности миокарда к положительному инотропному действию Изо, которое происходит между 16-м и 21-м днями инкубации. Такое снижение чувствительности сопровождалось увеличением ED₅₀ для положительного инотропного действия Изо без изменения величины максимального эффекта [36]. Следовательно, этот тип снижения чувствительности к β -адренергическим агонистам отличается от кратковременной десенсбилизации, наблюдавшейся другими исследователями, когда величина ED₅₀ для положительного инотропного эффекта Изо не изменялась, а максимальная величина положительного инотропного эффекта, наоборот, существенно уменьшалась [73]. Дополнительные свидетельства в пользу того, что уменьшение чувствительности к Изо, наблюдавшееся нами в миокарде куриного эмбриона на поздней стадии эмбрионального развития, отличается от кратковременной десенсбилизации, могут быть получены путем измерения активности аденилатциклазы во фракции, полученной при центрифугировании гомогената миокарда желудочка сердца цыпленка (рис. 23.1). Базальная активность аденилатциклазы увеличивается с возрастом, и Изо оказывает незначительное стимулирующее влияние на активность фермента, по-видимому, вследствие отсутствия ГТФ в препарате, полученной промывкой фракции, осаждаемой при 12 000 g. В присутствии Gpp(NH)p во всех трех исследованных возрастных группах активность аденилатциклазы была примерно одинаковой. Однако стимулирующее действие Изо в присутствии Gpp(NH)p было выше в миокарде 10—11-дневных эмбрионов и в миокарде желудочков цыплят на 5—8-й день после вылупления по сравнению с миокардом 17—18-дневных эмбрионов. Поэтому снижение чувствительности интактного миокарда желудочков сердца 17—18-дневного эмбриона выявляется также при определении активности аденилатциклазы. Неспособность Gpp(NH)p восстановить величину стимулирующего действия Изо на аденилатциклазу миокарда 17—18-дневных эмбрионов до уровня, наблюдаемого в других группах, указывает, что снижение чувствительности в этом случае не связано с проявлением кратковременной десенсбилизации, описанной Marsh с соавт.

Рис. 23.1. Определение активности аденилатциклазы во фракции, осаждаемой при 22.000 g из гомогената миокарда желудочков сердца куриных эмбрионов на 10–11-й день эмбрионального (Э) развития (N=8), на 17–18-й день эмбрионального (Э) развития (N=8) и цыплят на 5–8-й день (В) после вылупления (N=6).

Подробности методики оценки активности приведены в работе Раррапо с соавт. [37]. По оси ординат — активность аденилатциклазы (фмоль/мкг ДНК · мин). По оси абсциссы — возраст цыпленка или эмбриона. Активность фермента показана в основных условиях (светлые кружки), в присутствии 10^{-7} М Изо (темные кружки), в присутствии 10^{-5} ГРР (NH)P (светлые квадраты) и в присутствии 10^{-7} Изо + 10^{-5} М ГРР(NH)P (темные квадраты).



[73]. Понимание механизма снижения чувствительности к Изо, происходящего на поздней стадии эмбрионального развития, может натолкнуть исследователей на догадку относительно онтогенетической регуляции активности аденилатциклазы, которая вносит определенный вклад в изменение чувствительности миокарда к β -адренергическим агонистам.

Внутриклеточная регуляция реакций миокарда на β -адренергические агонисты включает в себя участие цАМФ-зависимых процессов, что также характерно для реакций кардиомиоцитов на агонисты мускариновых рецепторов. Есть несколько примеров участия цАМФ-зависимой протеинкиназы в регуляции реакций сердца эмбрионов на стимуляцию β -адренергических рецепторов.

В ходе онтогенеза содержание цАМФ в кардиомиоцитах куриного эмбриона возрастает (см. обзор Sperelakis [60]). Измерения активности цАМФ-зависимой протеинкиназы в миокарде куриного эмбриона выявили наличие одного типа изоферментов (тип I), полученного методом хроматографии на DEAE-целлюлозе [74]. Коэффициент базальной активности цАМФ-зависимой протеинкиназы снизился с $0,56 \pm 0,05$ до $0,25 \pm 0,004$ параллельно снижению содержания цАМФ (нмоль/мг белка) с $39,0 \pm 2,5$ до $9,1 \pm \pm 0,6$ в миокарде 7-дневных эмбрионов по сравнению с вылупившимися цыплятами. Увеличение содержания цАМФ при действии Изо в концентрации 10^{-5} М также уменьшается с возрастом (см. также работу Renand с соавт. [72]). Однако этот эффект нельзя объяснить соответствующим ослаблением стимулирующего действия Изо на активность аденилатциклазы. Следовательно, уменьшение инотропной реакции на β -адренергические агонисты

в ходе онтогенеза куриного эмбриона может быть результатом не только изменения числа β -адренергических рецепторов и их сопряжения с каталитической субъединицей аденилатциклазы, но и угнетения внутриклеточного эффектора — цАМФ-зависимой протеинкиназы [75]. В то время как базальный уровень активности фосфодиэстеразы в миокарде 7—9-дневного эмбриона не отличался от уровня активности в миокарде вылупившегося цыпленка, при добавлении ингибитора фосфодиэстеразы (RO-20-1724) величина накопления цАМФ в миокарде вылупившегося цыпленка при действии Изо становится сравнима с величиной, наблюдаемой в миокарде эмбриона при аналогичном воздействии [75]. Поэтому было высказано предположение, что важную роль в уменьшении реакции миокарда вылупившихся цыплят на β -адренергические агонисты играет изменение активности цАМФ-зависимой фосфодиэстеразы.

При использовании метода хроматографии на DEAE-целлюлозе, как и в случае сердца цыпленка, в миокарде мыши были выявлены 2 типа изоферментов цАМФ-зависимой протеинкиназы: тип I и тип II [76]. Полная активность цАМФ-зависимой протеинкиназы (в нмоль ^{32}P /мин·мг белка) составил $1,95 \pm 0,01$ в миокарде 15—16-дневного эмбриона мыши, которая до 7-го дня после рождения возрастала до $7,0 \pm 0,89$, а затем снижалась до $2,5 \pm 0,14$ в миокарде взрослой мыши. Отношение изоферментов (тип I/тип II) увеличивалось с $1,10 \pm 0,19$ (15—16-дневные эмбрионы) до $3,00 \pm 0,16$ (7-й день после рождения), а затем снижалось до $0,94 \pm 0,12$ (взрослая мышь). Изменение отношения изоферментов преимущественно обусловлено изменением активности изофермента типа I [76]. Роль каждого из изоферментов в развитии реакции на β -адренергические агонисты не изучалась, хотя и было высказано предположение, что изоферменты могут обладать различными функциями в регуляции роста и дифференциации. Клаусомб [77] предположил, что постепенное ослабление синтеза ДНК и дифференциация клеток сердца новорожденных крысят связаны с развитием адренергической иннервации, что в конечном итоге приводит к регуляции уровня цАМФ в миокарде под действием нейромедиатора НА. Однако не известно, какой из типов изоферментов цАМФ-зависимой протеинкиназы (тип I или тип II) принимает участие в регуляции синтеза ДНК и дифференциации клеток.

Содержание цАМФ в миокарде крысы снижается с $0,82 \pm 0,08$ нмоль/мг сырого веса сердца на 2-й день после рождения до $0,51 \pm 0,07$ на 20-й день [78]. Сердце 2-дневного крысенка более чувствительно к Адр, чем 20-дневного, так как при действии одной и той же концентрации Адр содержание цАМФ в миокарде первой возрастной группы повышается на 100%, а второй — на 40%. Однако Адр не вызывает положительного инотропного эффекта в миокарде желудочков сердца 2-дневного крысенка, а на 20-й день увеличение силы сокращения уже линейно зависит от повышения содержания цАМФ. Результаты, полученные на миокарде 2-дневных крысят, можно объяснить отсутствием внут-

рицеточных рецепторов для цАМФ (протеинкиназ?), хотя нельзя также исключить компарментализацию β -адренергических рецепторов и (или) цАМФ [78]. В гомогенате ткани миокарда целого сердца у крысы β -адренергические рецепторы, ГТФ-зависимый регуляторный белок и каталитическая субъединица аденилатциклазы присутствуют уже у эмбриона [79]. Так как базальная активность аденилатциклазы непрерывно увеличивается, начиная с 16-го дня внутриутробного развития и до полного взросления [79], поэтому снижение фонового уровня содержания цАМФ в миокарде, обнаруженное другими исследователями [78], может быть связано с усилением гидролиза цАМФ, катализируемого фосфодиастеразой. Стимулирующее действие Адр увеличивается к моменту рождения, затем снижается в течение 1-й нед после рождения и, наконец, снова увеличивается. Однако реакция сердца взрослого животного на $\text{Адр} + \text{Gpp}(\text{NH})\text{p}$ меньше, чем наблюдаемая сразу после рождения [79]. Этот результат не противоречит механизму, предложенному другими исследователями [78] для объяснения запаздывания появления положительной инотропной реакции на Адр, однако изменение стимулирующего действия $\text{Адр} + \text{Gpp}(\text{NH})\text{p}$ на аденилатциклазу в ходе онтогенеза, обнаруженное Clark с соавт. [79], качественно отличается от результатов других исследователей [49]. Поэтому пока еще трудно отделить ту роль изменений в активации аденилатциклазы от роли изменений цАМФ-зависимых процессов в развитии положительных инотропных реакций сердца крысы на Адр.

Возможность регуляции реакций на активацию β -адренергических процессов с помощью цАМФ-зависимых процессов была выявлена в результате экспериментов на сердце новорожденных щенков [80]. Величина максимального положительного инотропного эффекта при действии Иза была меньше у новорожденных, чем у взрослых собак. Однако величина ED_{50} , характеризующая положительный инотропный эффект, была у новорожденных меньше, что согласуется с тем, что у них ED_{50} активации аденилатциклазы (0,02 мкМ) значительно меньше, чем в сердце взрослых собак (0,15 мкМ). Более того, плотность β -адренергических рецепторов снижается с $147 \pm ?$ фмоль/мг белка у новорожденных до 60 ± 19 у взрослых. Не было обнаружено никаких изменений K_D для ^3H -ДГА в зависимости от возраста; также не изменяется величина IC_{50} для вытеснения ^3H -ДГА из мест специфического связывания [80].

Предполагается, что повышение уровня цАМФ, вызванное активацией β -адренергических рецепторов, играет определенную роль в регуляции роста и клеточной дифференциации сердца новорожденных крысят [77]. Показано также, что β -адренергические рецепторы принимают участие в патогенезе аномалий развития сердечно-сосудистой системы у куриного эмбриона [81]. Введение пропранолола позволило предотвратить развитие аномалий дуги аорты и пороков сердца (дефект межжелудочковой перегородки, раздвоение выводящего тракта правого желудочка), частота появления которых увеличивается при избытке катехоламинов

[81]. Важная роль β -адренергических рецепторов в развитии патологических изменений анатомии сердца и сосудистой системы у куриного эмбриона была подтверждена Ostadal с соавт. [82], которые отметили, что патологические повреждения возникают в определенные критические моменты эмбрионального развития. Показано также, что при введении Изо внутрь яйца происходит значительное увеличение содержания цАМФ в миокарде эмбриона [84], что было впоследствии подтверждено в работе Janotova с соавт. [83]. Фоновый уровень цАМФ в миокарде и его увеличение под действием Изо были значительно больше у 7-дневных куриных эмбрионов, чем у 15-дневных [84]. Кардиотоксичность Изо может быть связана с увеличением внутриклеточного содержания цАМФ. Было отмечено также, что введение дибутирил-цАМФ внутрь яйца вызывает аналогичные патологические изменения структуры сердца куриного эмбриона [83]. Однако смертность, обусловленная аномалиями развития сердечно-сосудистой системы, не коррелировала с величиной дозы дибутирил-цАМФ и была ниже, чем при воздействии Изо. Таким образом, роль цАМФ в реализации токсических эффектов β -адренергических агонистов на миокард эмбрионов выяснена в меньшей степени, чем его участие в развитии фармакологических эффектов.

α -АДРЕНЕРГИЧЕСКИЙ РЕЦЕПТОР

Изучение связывания рецептора

Биохимические свойства α -адренергического рецептора были изучены на миокарде мыши (см. обзор Roeske и Wildenthal [23]). Для идентификации α_1 -адренергических рецепторных мест связывания использовали специфический α_1 -адренергический агонист ^3H -WB4101 (2-N[2,6-диметоксифенотоксил]аминометил-1,4-бензодиоксан). Более 50% от общего связывания ^3H -WB4101 при концентрации $4 \cdot 10^{-10}$ М обусловлено специфическим связыванием. Максимальное связывание (V_{max} , плотность рецепторов в фмоль/мг ткани) увеличивается, начиная с 13-го дня эмбрионального развития, достигает максимума через 2 нед после рождения (2 фмоль/мг ткани), а затем снижается до уровня, характерного для взрослого животного (≈ 1 фмоль/мг ткани) [85]. При определении содержания НА в миокарде, принятого в качестве показателя уровня развития симпатической адренергической иннервации сердца мыши, было показано, что количество НА постепенно увеличивается, начиная с 7-го дня после рождения и к 21-му дню после рождения достигает уровня, характерного для взрослого животного ($\approx 0,6$ мкг/г сырой массы сердца). Уменьшение специфического связывания ^3H -WB4101, которое начинается между 14-м и 21-м днями после рождения, объясняется «регуляцией вниз» числа α_1 -адренергических рецепторов под действием НА, медиатора симпатической адренергической системы (см. Roeske и Wildenthal [23]). Был сделан вывод, что в сердце мыши «взросление» α -адренергического рецептора наступает раньше, чем β -адренергического рецептора. Однако при развитии

симпатической адренергической иннервации начинает уменьшаться плотность рецепторов обоих типов. Воздействие 6-гидро-исидонамина, разрушающего адренергические нервные окончания, сопровождается увеличением плотности α - и β -адренергических рецепторов (см. обзор Roeske и Wildenthal [23]). Gpp(NH)p увеличивает концентрацию Адр, необходимую для вытеснения ^{3}H WB4101 из мест специфического связывания, и в то же время Gpp(NH)p не влияет на сродство этих мест связывания с антагонистами [86]. Следует отметить, что карбахол, агонист мускариновых рецепторов, в присутствии Gpp(NH)p повышает сродство α -адренергических рецепторов к Адр, но не к WB4101 [86]. Этот результат аналогичен данным, полученным для взаимодействия между β -адренергическими и мускариновыми холинергическими рецепторами в сердце взрослых животных [35].

Активация рецептора

Опубликован критический обзор фармакологических свойств, характеризующих активацию α -адренергических рецепторов в сердце взрослых животных [87]. Однако фармакологическим эффектам α -адренергических агонистов в миокарде эмбрионов и поворожденных посвящено лишь несколько работ. Адр и НА увеличивают частоту спонтанных сокращений миокардиальных клеток эмбриона мыши в условиях культуры, взаимодействуя с α - и β -адренергическими рецепторами, так как их положительные хронотропные эффекты блокируются комбинацией пропранолола и фентоламина, но не одним из них в отдельности [27]. Эксперименты с использованием Изо и фенилэфрина, которые преимущественно взаимодействуют селективно с β - и α -адренергическими рецепторами соответственно, показали, что в кардиомиоцитах присутствуют адренергические рецепторы обоих типов.

Фенилэфрин вызывает положительную инотропную реакцию миокарда взрослой курицы, хотя она менее выражена, чем при действии НА [88]. Однако неизвестно, действует ли фенилэфрин исключительно на α -адренергические рецепторы сердца взрослых птиц, а также когда рецепторы этого типа появляются на постсинаптических мембранах и начинают влиять на работу миокардиальных клеток. Пресинаптические α -адренергические рецепторы, активация которых вызывает угнетение освобождения НА из адренергических нервных окончаний в миокарде желудочков сердца цыпленка, выявляются уже через 3 дня после вылупления [89].

Проявление активации α -адренергических рецепторов было показано на волокнах Пуркинье сердца поворожденных щенков [90]. Фенилэфрин в низких концентрациях (10^{-9} — 10^{-7} М) уменьшает частоту спонтанных возбуждений, причем этот эффект претворался фентоламином, антагонистом α -адренергических рецепторов. В высоких концентрациях ($>10^{-5}$ М) фенилэфрин увеличивает частоту спонтанной генерации потенциалов действия, влияя на β -адренергические рецепторы, чувствительные к

пропранололу [90]. Кривые доза—эффект для этого типа действия фенилэфрина не отличались у новорожденных щенков (0—7 дней после рождения) и взрослых собак. Следует отметить, что Изо, который обычно считается селективным агонистом β -адренергических рецепторов, в низких концентрациях ($\approx 10^{-10}$ М) уменьшает частоту спонтанных возбуждений в волокнах Пуркинье, как у новорожденных, так и у взрослых собак, причем этот эффект блокируется фентоламином. Подобный результат противоречит предположению о том, что автоматизм волокон Пуркинье сердца взрослых животных при отрицательных потенциалах (от -60 до -100 мВ) зависит от β -, но не от α -адренергических рецепторов [91]. Вполне вероятно, что α -адренергические рецепторы способны участвовать в регуляции автоматизма, влияя на мембранные токи в области потенциалов плато (от 0 до -50 мВ), но это пока не подтверждено экспериментально.

Роль циклических нуклеотидов в стимулирующем влиянии α -адренергических агонистов. Эксперименты на сердце взрослых животных показали, что стимулирующее действие α -адренергических агонистов не опосредовано стимуляцией аденилатциклазы или накоплением цАМФ [87]. На сердце эмбрионов никаких данных получено не было.

ВЫВОДЫ

В данной главе приведен обзор физиологических и биохимических свойств мускариновых холинергических и α - и β -адренергических рецепторов и изменение свойств рецепторов в ходе онтогенеза. В свете гипотезы о регуляторной роли циклических нуклеотидов рассмотрены изменения электрических и механических свойств миокарда эмбрионов и новорожденных при активации рецепторов к медиаторам вегетативной нервной системы. Имеется большое количество данных, подтверждающих гипотезу участия цАМФ в развитии ингибирующего действия активации мускариновых рецепторов и стимулирующего действия активации β -адренергических рецепторов на сердце эмбрионов. Относительно роли цГМФ в развитии ингибирующего действия мускариновых агонистов, напротив, имеется очень мало сведений. Механизм действия α -адренергических агонистов на миокард эмбрионов выяснен в меньшей степени вследствие недостаточного объема исследований этого важного вопроса. Систематическое изучение эффектов α -адренергических агонистов и антагонистов не только восполнит дефицит информации, но также позволит получить дополнительные идеи относительно регуляции работы сердца симпатической адренергической нервной системы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hulme E. C., Berrie C. P., Birdsall N. J. M., Burgen A. S. V. Interactions of muscarinic receptors with guanine nucleotides and adenylate cyclase.— In: Drug receptors and their effectors/Ed. N. J. M. Birdsall, London: Mac-Millan, 1981, p. 23—24.

2. *Watanabe A. M., Jones L. R., Manalan A. S., Besch H. R. Jr.* Cardiac autonomic receptors: recent concepts from radiolabeled ligand-binding studies.— *Circ. Res.*, 1982, vol. 50, p. 161—174.
3. *Pappano A. J.* Ontogenetic development of autonomic neuroeffector transmission and transmitter reactivity in embryonic and fetal hearts. — *Pharmacol. Rev.*, 1977, vol. 29, p. 3—33.
4. *Pappano A. J.* Adrenergic receptors and adrenergic mechanisms in the embryonic and fetal heart. — In: *Adrenoceptors and catecholamine action*/Ed. G. Kunos. New York: John Wiley and Sons, 1984, p. 69—97.
5. *Pappano A. J., Higgins D.* Initiation of transmitter secretion by adrenergic neurons and its relation to morphological and functional innervation of the embryonic chick heart. — In: *Cardiac rate and rhythm. Vol. 17: Developments in cardiovascular medicine*/Ed. L. N. Bouman, H. J. Jongsma. Boston: Martinus Nijhoff, 1982, p. 631—651.
6. *Higgins D.* The ontogeny of the response of the chick embryo heart to autonomic transmitters and to neurotransmitter-like drugs. — *Pharmacol. Ther.*, 1983, vol. 20, p. 53—77.
7. *Lakatta E. G.* Age-related alterations in the cardiovascular response to adrenergic mediated stress. — *Fed. Proc.*, 1980, vol. 39, p. 3173—3177.
8. *Sastre A., Gray D. B., Lane M. A.* Muscarinic cholinergic binding sites in the developing avian heart. — *Dev. Biol.*, 1977, vol. 55, p. 201—205.
9. *Galper J. R., Klein W., Catterall W. A.* Muscarinic acetylcholine receptors in developing chick heart. — *J. Biol. Chem.*, 1977, vol. 252, p. 8692—8699.
10. *Renaud J. F., Barhanin J., Cavey D., Fosser M., Lazdunski M.* Comparative properties of the in vivo and in vitro differentiation of the muscarinic cholinergic receptor in embryonic heart cells. — *Dev. Biol.*, 1980, vol. 78, p. 184—200.
11. *Hosey M. M., Fields J. Z.* Quantitative and qualitative differences in muscarinic cholinergic receptors in embryonic and newborn chick hearts. — *J. Biol. Chem.*, 1981, vol. 256, p. 6395—6399.
12. *Roeske W. R., Yamamura H. I.* Maturation of mammalian myocardial muscarinic cholinergic receptors. — *Life Sci.*, 1978, vol. 23, p. 127—132.
13. *Fields J. Z., Roeske W. R., Morkin E., Yamamura H. I.* Cardiac muscarinic cholinergic receptors: biochemical identification and characterization. — *J. Biol. Chem.*, 1978, vol. 253, p. 3251—3258.
14. *Galper J. B., Smith T. W.* Agonist and guanine nucleotide modulation of muscarinic cholinergic receptors in cultured heart cells. — *J. Biol. Chem.*, 1980, vol. 255, p. 9571—9579.
15. *Hosey M. M.* Regulation of antagonist binding to cardiac muscarinic receptors. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1982, vol. 107, p. 314—321.
16. *Siegel R. E., Fischbach G. D.* Muscarinic receptors in intact chick heart cells in culture. — *Soc. Neurosci.*, 1980, vol. 6, p. 358.
17. *Halvorsen S. W., Nathanson N. M.* In vivo regulation of muscarinic acetylcholine receptor number and function in embryonic chick heart. — *J. Biol. Chem.*, 1984, vol. 256, p. 7944—7948.
18. *Pappano A. J.* Sodium-dependent depolarization of non-innervated embryonic chick heart by acetylcholine. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1972, vol. 180, p. 340—350.
19. *Sperelakis N.* Electrical properties of embryonic heart cells. — In: *Electrical phenomena in the heart*/Ed. W. C. De Mello. New York: Academic, 1972, p. 1—61.
20. *Carmeliet E. E., Horres C. R., Lieberman M., Vereecke J. S.* Developmental aspects of potassium flux and permeability of the embryonic chick heart. — *J. Physiol. (Lond.)*, 1976, vol. 254, p. 673—692.
21. *Pappano A. J., Skowronek C. A.* Reactivity of chick embryo heart to cholinergic agonists during ontogenesis: decline in desensitization at the onset of cholinergic transmission. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1974, vol. 181, p. 109—118.
22. *Loffelholz K., Pappano A. J.* Increased sensitivity of sinoatrial pacemaker to acetylcholine and to catecholamines at the onset of autonomic neuroeffector transmission in chick embryo heart. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1974, vol. 191, p. 479—486.

23. *Roeske W. R., Wildenthal K.* Responsiveness to drugs and hormones in the murine model of cardiac ontogenesis. — *Pharmacol. Ther.*, 1981, vol. 14, p. 55—66.
24. *Biegen R. L., Pappano A. J.* Dual mechanism for inhibition of calcium-dependent action potentials by acetylcholine in avian ventricular muscle: relationship to cyclic AMP. — *Circ. Res.*, 1980, vol. 46, p. 353—362.
25. *Reuter H.* Effects of neurotransmitters on the slow inward current. — In: *The slow inward current and cardiac arrhythmias*/Ed. D. P. Zipes, J. C. Bailay, V. Elharra. Boston: Martinus Nijhoff, 1980, p. 205—219.
26. *Inoue D., Hachisu M., Pappano A. J.* Acetylcholine increases K⁺ conductance in atrial but not in ventricular muscle during direct inhibition of Ca²⁺-dependent action potential in chick heart. — *Circ. Res.*, 1983, vol. 53, p. 158—167.
27. *Lane M. A., Sastre A., Law M., Salpeter M.* Cholinergic and adrenergic receptors on mouse cardiocytes in vitro. — *Dev. Biol.*, 1977, vol. 57, p. 254—269.
28. *Pager J., Bernard C., Gargouil Y.* Evolution, au cours de la croissance foetale, des effets de l'acetylcholine au niveau de l'oreillette du Rat. — *C. R. Soc. Biol. (Poitiers)*, 1965, vol. 159, p. 2470—2475.
29. *Nukari-Siltovuori A.* Postnatal development of adrenergic and cholinergic sensitivity in the isolated rat atria. — *Experientia*, 1977, vol. 33, p. 1611—1612.
30. *Pappano A. J., Biegen R. L.* Mechanisms for muscarinic inhibition of calcium-dependent action potentials and contractions in developing ventricular muscle: the role of cyclic AMP. — In: *Normal and abnormal conduction of the heart*/Ed. A. P. Paes de Carvalho, B. F. Hoffman, M. Lieberman. Mt Kisco NY: Futura, 1983, p. 327—344.
31. *Josephson I., Sperelakis N.* On the ionic mechanism underlying adrenergic-cholinergic antagonism in ventricular muscle. — *J. Gen. Physiol.*, 1982, vol. 79, p. 69—86.
32. *Reuter H.* Uber die Abhangigkeit der Acetylcholinwirkung von der ausseren Ca-Konzentration bei isolierten Meerschweinchenvorhofen. — *Experientia*, 1966, vol. 22, p. 39—40.
33. *Hachisu M., Pappano A. J.* A comparative study of the blockade of calcium-dependent action potentials by verapamil, nifedipine and nimodipine in ventricular muscle. — *J. Pharmacol. Ther.*, 1983, vol. 225, p. 142—130.
34. *Rodbell M.* The role of hormone receptors and GTP-regulatory proteins in membrane transduction. — *Nature*, 1980, vol. 284, p. 17—22.
35. *Watanabe A. M., McCannaughy M. M., Strawbridge R. A., Fleming J. W., Jones L. R., Besch H. R. Jr.* Muscarinic cholinergic receptor modulation of beta-adrenergic receptor affinity for catecholamines. — *J. Biol. Chem.*, 1978, vol. 253, p. 4833—4836.
36. *Biegen R. L., Epstein P. M., Pappano A. J.* Muscarinic antagonism of the effects of a phosphodiesterase inhibitor (methylisobutylxanthine) in embryonic chick ventricle. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1980, vol. 215, p. 348—356.
37. *Pappano A. J., Hartigan P. M., Coutu M. D.* Acetylcholine inhibits the positive inotropic effect of cholera toxin in ventricular muscle. — *Am. J. Physiol.*, 1983, vol. 243, p. H434—H441.
38. *Linden J., Vogel S., Sperelakis N.* Sensitivity of Ca-dependent slow action potentials to methacholine is induced by phosphodiesterase inhibitors in embryonic chick ventricles. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1982, vol. 222, p. 383—388.
39. *Ingbretsen C. G.* Interaction between alpha and beta adrenergic receptors and cholinergic receptors in isolated perfused rat heart: effects on cAMP-protein kinase and phosphorylase. — *J. Cyclic. Nucleotide Res.*, 1980, vol. 6, p. 121—132.
40. *Keely S. L. Jr., Lincoln T. M., Corbin J. D.* Interaction of acetylcholine and epinephrine on heart cyclic AMP-dependent protein kinase. — *Am. J. Physiol.*, 1978, vol. 234, p. H432—H438.
41. *Linden J., Brooker G.* The questionable role of cyclic guanosine 3':5'-monophosphate in heart. — *Biochem. Pharmacol.*, 1979, vol. 28, p. 3351—3360.
42. *Lincoln T. M., Keely S. L.* Effects of acetylcholine and nitroprusside on

- ct:MP-dependent protein kinase in the perfused rat heart. — *J. Cyclic. Nucleotide Res.*, 1980, vol. 6, p. 83—91.
43. *Furchgott R. F., Zawadzki J. V.* The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. — *Nature (Lond.)*, 1980, vol. 288, p. 373—376.
 44. *Demey J. G., Claeys M., Vanhoutte P. M.* Endothelium-dependent inhibitory effects of acetylcholine, adenosine triphosphate, thrombin and arachidonic acid in the canine femoral artery. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1982, vol. 222, p. 166—173.
 45. *Chen F.-C. M., Yamamura H. I., Roeske W. R.* Ontogeny of mammalian myocardial beta-adrenergic receptors. — *Eur. J. Pharmacol.*, 1979, vol. 58, p. 255—264.
 46. *Williams L. T., Lefkowitz R. J.* Receptor binding studies in adrenergic pharmacology, chap. 9, New York: Raven, 1978.
 47. *Whitsett J. A., Pollinger J., Matz S.* Beta-adrenergic receptors and catecholamine sensitive adenylate cyclase in developing rat ventricular myocardium: effect of thyroid status. — *Pediatr. Res.*, 1982, vol. 16, p. 463—469.
 48. *Alexander R. W., Galper J. B., Neer E. J., Smith T. W.* Non-co-ordinate development of beta-adrenergic receptors and adenylate cyclase in chick heart. — *Biochem., J.*, 1982, vol. 204, p. 825—830.
 49. *Whitsett J. A., Darovec-Beckerman C.* Developmental aspects of beta-adrenergic receptors and catecholamine-sensitive adenylate cyclase in rat myocardium. — *Pediatr. Res.*, 1981, vol. 15, p. 1363—1369.
 50. *Chen F.-C. M., Yamamura H. I., Roeske W. R.* Adenylate cyclase and beta adrenergic receptor development in the mouse heart. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1982, vol. 222, p. 7—13.
 51. *Ignarro L. J., Shideman F. E.* Appearance and concentration of catecholamines and their biosynthesis in the embryonic and developing chick. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1968, vol. 159, p. 38—48.
 52. *Higgins D., Pappano A. J.* Development of transmitter secretory mechanisms by adrenergic neurons in the embryonic chick heart ventricle. — *Devel. Biol.*, 1981, vol. 87, p. 148—162.
 53. *Wacholtz M. C., Sha'afi R. I.* Alprenol binding and cyclic AMP production in embryonic chick red cells during erythropoiesis. — *Membr. Biochem.*, 1980, vol. 3, p. 259—270.
 54. *Higgins D., Pappano A. J.* Developmental changes in the sensitivity of the chick embryo ventricle to beta-adrenergic agonist during adrenergic innervation. — *Circ. Res.*, 1981, vol. 48, p. 245—253.
 55. *Baker S. P., Potter L. T.* Cardiac beta-adrenoreceptors during normal growth of male and female rats. — *Br. J. Pharmacol.*, 1980, vol. 68, p. 65—70.
 56. *Bhalla R. C., Sharma R. V., Ramanathan S.* Ontogenetic development of isoproterenol subsensitivity of myocardial adenylate cyclase and beta-adrenergic receptors in spontaneously hypertensive rats. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1980, vol. 632, p. 497—506.
 57. *Lau C., Slotkin T. A.* Maturation of sympathetic neurotransmission in the rat heart. II. Enhanced development of presynaptic and postsynaptic components of noradrenergic synapses as a result of neonatal hyperthyroidism. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1980, vol. 212, p. 126—130.
 58. *Lau C., Slotkin T. A.* Maturation of sympathetic neurotransmission in the rat heart. VIII. Slowed development of noradrenergic synapses resulting from hypothyroidism. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1982, vol. 220, p. 629—636.
 59. *Tsai J. S., Chen A.* Effect of L-triiodothyronine on (—)³H-dihydroalprenolol binding and cyclic AMP response to (—) adrenaline in cultured heart cells. — *Nature*, 1978, vol. 275, p. 133—140.
 60. *Sperelakis N.* Changes in membrane electrical properties during development of the heart. — In: *The slow inward current and cardiac arrhythmias/* Ed. D. P. Zipes, J. C. Bailey, V. Elharrar. Boston: Martinus Nijhoff, 1980, p. 221—262.
 61. *Shigenobu K., Sperelakis N.* Calcium current channels induced by catecholamines in chick embryonic hearts whose fast sodium channels are blocked by tetrodotoxin or elevated potassium. — *Circ. Res.*, 1972, vol. 31, p. 932—952.

Глава 24

МЕХАНИЗМЫ АДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ И ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА

А. М. ВАТАНАБЕ, Дж. П. ЛИНДЕМАНН (А. М. WATANABE,
J. P. LINDEMANN)

ВВЕДЕНИЕ

Вегетативная нервная система является основной внешней по отношению к сердцу системой, которая участвует в регуляции сократимости миокарда. На основании различий в анатомическом строении, функциональных эффектах и нейромедиаторах, освобождаемых из постганглионарных нервных окончаний, эту систему можно подразделить на два основных отдела: симпатическую и парасимпатическую нервные системы (рис. 24.1). Повышение активности симпатических нервов стимулирует работу сердца (повышается частота сердечных сокращений, возрастает скорость проведения по специализированным проводящим тканям и увеличивается сократимость миокарда), в то время как усиление парасимпатической активности действует на сердце угнетающе (снижается частота сердечных сокращений, атриовентрикулярная проводимость и сократимость миокарда). Сердце иннервируется симпатическими нервами и блуждающим нервом, который обеспечивает парасимпатическую иннервацию. Нейромедиатором, освобождающимся из преганглионарных нервных волокон, в симпатической, так и в парасимпатической нервной системе является ацетилхолин. Норадреналин служит нейромедиатором, выделяющимся из постганглионарных симпатических волокон, иннервирующих сердце. Нейромедиатором, выделяющимся из нервных окончаний постганглионарных парасимпатических волокон, является ацетилхолин (см. рис. 24.1). Норадреналин и ацетилхолин оказывают свое воздействие локально, непосредственно в том участке ткани, в котором они выделяются, т. е. они действуют как нейромедиаторы. Адреналин является катехоламином, образующимся в мозговом веществе надпочечников и поступающим к органам-мишеням с током крови, т. е. действует как гормон.

Симпатическая и парасимпатическая нервные системы оказывают свое влияние на работу сердца через катехоламины и ацетилхолин, которые взаимодействуют с определенными белками, или рецепторами, расположенными на сарколемме миокардиальных клеток (см. рис. 24.1). Рецепторы симпатической нервной

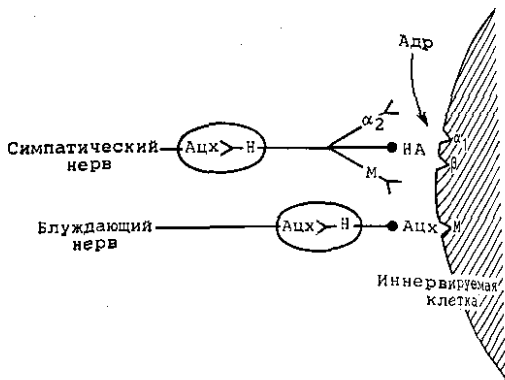


Рис. 24.1. Схема, показывающая взаимодействие между симпатическими нервными окончаниями и рецепторы, взаимодействуют соответствующие нейромедиаторы. Ацетилхолин (Ацх) стимулирует никотиновые (Н) рецепторы ганглиев и мускариновые (М) рецепторы. Норадреналин (НА) или симпатических нервных окончаний, и адреналин (Адр) стимулирует β-рецепторы.

системы подразделяются на два класса α- и β-рецепторов, из которых делится на подклассы, обозначаемые α₁ и α₂. Норадреналин стимулирует α- и β₁-рецепторы, а адреналин стимулирует α- и оба подкласса β-рецепторов. Ацетилхолин взаимодействует с мускариновыми рецепторами.

В интактном животном или у бодрствующего человека реакция сердца на активацию вегетативной нервной системы сложна и зависит от множества взаимосвязанных факторов. К наиболее важным из этих факторов относятся адренергические реакции, адрено-холинергическое взаимодействие и сосудистые эффекты. Природа и степень взаимодействия факторов зависит от того, каким образом активирована нервная система. Например, если активация нервной системы происходит физиологическим способом (в случае физической нагрузки), скорее всего произойдет снижение парасимпатического тонуса, и адренергические реакции и взаимодействие симпатических эффектов может быть выражено сильнее. С другой стороны, если симпатическая система активирована искусственным путем (введение лекарственного препарата), то этих факторов может сыграть важную роль в развитии эффекта введения лекарства на сердечно-сосудистую систему интактного животного или человеку внутривенно норадреналин, то он активирует β-рецепторы сердца, а адренергические рецепторы гладких мышц сосудов. Активация адренергических рецепторов вызывает сужение артерий, что приводит к увеличению периферического сопротивления и повышению артериального давления. Такое повышение артериального давления, вызванное норадреналином, активирует барорецепторы.

с последующим повышением эфферентной активности в парасимпатических нервных волокнах. В результате усиливается стимуляция мускариновых рецепторов миокардиальных клеток под действием ацетилхолина, выделяющегося из нервных окончаний, что существенно влияет на развитие эффектов циркулирующего норадреналина, так что на самом деле частота сердечных сокращений снижается вместо того, чтобы увеличиться в ответ на стимуляцию β_1 -рецепторов, а увеличение сократимости миокарда оказывается выражено слабее. Сужение сосудов вследствие α -адренергической стимуляции также влияет на работу сердца за счет повышения сопротивления выбросу крови из желудочков (повышение постнагрузки). Если животному или человеку до введения норадреналина ввести атропин, то можно наблюдать симпатический эффект в чистом виде, на который не будут накладываться реакции клеток на активацию рефлексов и адрено-холинергическое взаимодействие. В этом случае частота сердечных сокращений повышается, а сократимость миокарда возрастает в большей степени в ответ на введение норадреналина, чем это наблюдается без атропина.

Таким образом, активация рефлексов, гемодинамические эффекты и адрено-холинергическое взаимодействие относятся к очень важным факторам, определяющим реакцию сердца на стимуляцию вегетативной нервной системы. Симпатическая и парасимпатическая нервная система динамически взаимодействуют друг с другом, согласованно регулируя работу сердца. Самый верхний уровень взаимодействия осуществляется в сосудодвигательном центре головного мозга, куда поступают и где обрабатываются афферентные сигналы из сердечно-сосудистой системы и где происходит регуляция эфферентной активности симпатической и парасимпатической нервной системы. Кроме такой интеграции на уровне центральной нервной системы, важную роль играет также взаимодействие между этими двумя отделами вегетативной нервной системы на уровне нервных окончаний (см. рис. 24.1). Гистологические исследования показали, что в некоторых областях сердца окончания симпатических и парасимпатических нервных волокон расположены близко друг к другу. Такая физическая взаимосвязь позволяет осуществлять взаимодействие между этими двумя системами на уровне нервных окончаний. Такое взаимодействие происходит как между нервами до синаптического контакта, так и на уровне мембран иннервируемых клеток, а также внутри клеток. Пресинаптический уровень взаимодействия обеспечивается тем, что ацетилхолин, освобожденный из нервных окончаний парасимпатических волокон, способен стимулировать мускариновые рецепторы, расположенные на окончаниях симпатических волокон, что приводит к ингибированию освобождения из них норадреналина (см. рис. 24.1) (см. обзор [1]). Таким образом, активность блуждающего нерва может модулировать симпатические эффекты путем ингибирования освобождения норадреналина. Кроме того, стимуляция мускариновых рецепторов на мембране иннервируемых клеток может

модулировать клеточную реакцию на стимуляцию β -адренергических рецепторов (см. рис. 24.1). Такое постсинаптическое взаимодействие позволяет осуществлять парасимпатическую регуляцию клеточной реакции на норадреналин, который освобождается из окончаний симпатических волокон, и на адреналин, находящийся в циркулирующей крови.

В этой главе обсуждаются клеточные и субклеточные механизмы, которые обеспечивают регуляцию функций кардиомиоцитов под действием катехоламинов и ацетилхолина, а также клеточные механизмы взаимодействия между симпатической и парасимпатической нервной системой.

МЕХАНИЗМЫ АДРЕНЕРГИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ НА СЕРДЦЕ

Адренергические рецепторы

Катехоламины стимулируют работу сердца путем взаимодействия с адренергическими рецепторами миоцитов. Эти рецепторы были первоначально выявлены и охарактеризованы при изучении реакций миокарда на действие ряда адренергических агонистов. Эти исследования выявили два четко различающихся ряда эффективности агонистов адренергических рецепторов, в связи с чем рецепторы были подразделены на два класса: α - и β -рецепторы. Последующие исследования с использованием новых химических соединений позволили предположить, что необходимо дальнейшее разделение классов рецепторов на подклассы. Функциональные реакции рецепторов на известные в настоящее время адренергические агонисты и антагонисты позволили подразделить адренергические рецепторы на β_1 , β_2 , α_1 и α_2 подклассы. В сердце млекопитающих преимущественно содержатся β_1 -рецепторы, в то время как в гладких мышцах сосудов, по-видимому, преобладают β_2 рецепторы. Подклассы α -рецепторов также по-разному распределены в разных органах. Гладкие мышцы сосудов преимущественно содержат α_1 -рецепторы. Кроме того, согласно результатам функциональных исследований и изучению связывания радиоактивных лигандов, подклассы α -рецепторов, по-видимому, имеют разное распределение в пред- и пост-синаптических участках симпатических нервных волокон (см. рис. 24.1). α_2 -Рецепторы расположены преимущественно в пресинаптических окончаниях симпатических волокон. Считается, что стимуляция этих рецепторов ингибирует освобождение норадреналина из окончаний. α_1 -Рецепторы являются основным типом рецепторов, обнаруживаемых в иннервируемых постсинаптических участках ткани сердца и сосудов.

Наиболее важная информация о свойствах адренергических рецепторов была получена в функциональных исследованиях, проведенных на интактных органах и тканях. Однако для выяснения ряда биохимических и молекулярных свойств этих рецеп-

Глава 24

МЕХАНИЗМЫ АДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ И ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА

А. М. ВАТАНАБЕ, Дж. П. ЛИНДЕМАНН (А. М. WATANABE,
J. P. LINDEMANN)

ВВЕДЕНИЕ

Вегетативная нервная система является основной внешней по отношению к сердцу системой, которая участвует в регуляции сократимости миокарда. На основании различий в анатомическом строении, функциональных эффектах и нейромедиаторах, освобождаемых из постганглионарных нервных окончаний, эту систему можно подразделить на два основных отдела: симпатическую и парасимпатическую нервные системы (рис. 24.1). Повышение активности симпатических нервов стимулирует работу сердца (повышается частота сердечных сокращений, возрастает скорость проведения по специализированным проводящим тканям и увеличивается сократимость миокарда), в то время как усиление парасимпатической активности действует на сердце угнетающе (снижается частота сердечных сокращений, атриовентрикулярная проводимость и сократимость миокарда). Сердце иннервируется симпатическими нервами и блуждающим нервом, который обеспечивает парасимпатическую иннервацию. Нейромедиатором, освобождающимся из преганглионарных нервных волокон, как в симпатической, так и в парасимпатической нервной системе является ацетилхолин. Норадреналин служит нейромедиатором, выделяющимся из постганглионарных симпатических волокон, иннервирующих сердце. Нейромедиатором, выделяющимся из нервных окончаний постганглионарных парасимпатических волокон, является ацетилхолин (см. рис. 24.1). Норадреналин и ацетилхолин оказывают свое воздействие локально, непосредственно в том участке ткани, в котором они выделяются, т. е. они действуют как нейромедиаторы. Адреналин является катехоламином, образующимся в мозговом веществе надпочечников и поступающим к органам-мишеням с током крови, т. е. действует как гормон.

Симпатическая и парасимпатическая нервные системы оказывают свое влияние на работу сердца через катехоламины и ацетилхолин, которые взаимодействуют с определенными белками, или рецепторами, расположенными на сарколемме миокардиальных клеток (см. рис. 24.1). Рецепторы симпатической нервной

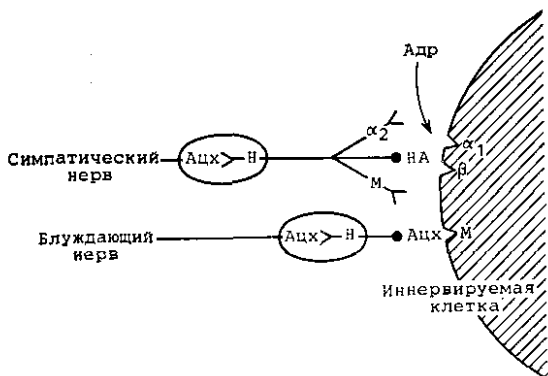


рис. 24.1. Схема, показывающая взаимодействие между симпатическими и парасимпатическими нервными окончаниями и рецепторы, с которыми взаимодействуют соответствующие нейромедиаторы.

Ацетилхолин (АцХ) стимулирует никотиновые (Н) рецепторы в ганглиях обоих отделов и мускариновые (М) рецепторы. Норадреналин (НА), освобождающийся на симпатических нервных окончаниях, и адреналин (Адр) стимулируют α₁, α₂- и β-рецепторы.

системы подразделяются на два класса α- и β-рецепторы, каждый из которых делится на подклассы, обозначаемые α₁, α₂, β₁ и β₂. Норадреналин стимулирует α- и β₁-рецепторы, а адреналин — α-рецепторы и оба подкласса β-рецепторов. Ацетилхолин, освобождающийся из окончаний парасимпатических нервных волокон, взаимодействует с мускариновыми рецепторами.

В интактном животном или у бодрствующего человека реакции сердца на активацию вегетативной нервной системы очень сложны и зависят от множества взаимосвязанных факторов. К наиболее важным из этих факторов относятся активация рефлекторных реакций, адрено-холинергическое взаимодействие и сосудистые эффекты. Природа и степень взаимодействия этих факторов зависит от того, каким образом активируется вегетативная нервная система. Например, если активация симпатической нервной системы происходит физиологическим способом, как в случае физической нагрузки, скорее всего произойдет одновременное снижение парасимпатического тонуса, и активация рефлекторных реакций и взаимодействие симпатических и парасимпатических эффектов может быть выражено слабо. С другой стороны, если симпатическая система активирована искусственным путем (введение лекарственного препарата), взаимодействие этих факторов может сыграть важную роль в развитии конечного эффекта введения лекарства на сердечно-сосудистую систему. Если интактному животному или человеку внутривенно ввести норадреналин, то он активирует β-рецепторы сердца, а также α-адренергические рецепторы гладких мышц сосудов. Активация α-адренергических рецепторов вызывает сужение артериол, что приводит к увеличению периферического сопротивления сосудов и повышению артериального давления. Такое повышение давления, вызванное норадреналином, активирует барорецепторный рефлекс

торов была необходима разработка более прямых методов изучения адренергических рецепторов с оценкой связывания радиоактивных лигандов. Некоторые из наиболее важных открытий, относящихся к сердечно-сосудистой системе, которые были сделаны с помощью оценки связывания лиганда, будут обсуждаться в этом разделе. Более подробно с ними можно ознакомиться по литературе [2—7].

β-Адренергические рецепторы. Первыми рецепторами к медиаторам вегетативной нервной системы из общего числа рецепторов (β-, α- и мускариновые), для которых был разработан метод оценки связывания радиоактивных лигандов, были β-адренергические рецепторы. По-видимому, именно вследствие этого из всех трех основных типов рецепторов больше всего известно об основных биохимических свойствах β-рецепторов. Большинство таких исследований было проведено на миокарде, так как важность симпатической нервной системы для регуляции работы сердца хорошо известна. Поэтому большинство новейших открытий, полученных методом оценки связывания лиганда с β-рецепторами, имеют прямое отношение к физиологии и фармакологии сердечно-сосудистой системы.

β-Адренергические рецепторы расположены на сарколемме клеток миокарда. Это было доказано после разработки метода получения препаратов высокоочищенной сарколеммы и внутренних мембранных систем (включая саркоплазматический ретикулум) сердца [7—9]. Путем сравнения распределения β-адренергических рецепторов и маркерных ферментов, для которых известно, что они расположены в сарколемме, саркоплазматическом ретикулуме или в митохондриях, было показано, что β-рецепторы находятся только на сарколемме. Обнаружение β-рецепторной активности на любых внутриклеточных мембранах, например на саркоплазматическом ретикулуме, можно объяснить загрязнением препарата ретикулума фрагментами сарколеммы [7—9]. Расположение β-рецепторов на внешней поверхности сарколеммы делает их легко доступными для норадреналина, освобождающегося из окончаний симпатических нервных волокон, или для адреналина, поступающего из крови.

β-Адренергические рецепторы в миокарде представляют собой не неизменные образования, а скорее динамическую структуру, свойства которой могут варьировать в ответ на физиологические нагрузки, заболевание или прием лекарственных препаратов [3, 5—7]. Из всех физиологических свойств β-рецепторов проще всего определяется и наиболее широко изучается их плотность на плазматической мембране. Число β-рецепторов, по-видимому, изменяется в зависимости от интенсивности их стимуляции. В сильно упрощенном виде эти изменения проявляются в увеличении плотности β-рецепторов при низком уровне стимуляции («регуляция вверх») ¹ и уменьшается при высоком уровне стиму-

¹ Термин «регуляция вверх» (up-regulation — англ.) в данном случае означает увеличение числа рецепторов под влиянием регуляторных воздействий. — Примеч. пер.

лиции («регуляция вниз») [3—7]. Такие изменения плотности рецепторов представляют собой одно из возможных проявлений разнообразных изменений, которые могут происходить в органах и которые делают их либо гипочувствительными, либо гиперчувствительными к катехоламинам. Изменения плотности рецепторов могут отмечаться и при физиологических вариациях симпатической активности. Например, когда ежедневное поступление натрия в организм человека возрастает от 10 до 400 мЭкв, что снижает активность симпатической нервной системы, плотность β -адренергических рецепторов на мембране лейкоцитов возрастает приблизительно на 50% [10]. Считается, что изменение плотности лейкоцитарных рецепторов отражает изменение плотности рецепторов в сердечно-сосудистой системе, так как, согласно наблюдениям, в этом случае усиливается положительный хронотропный эффект изопроterenола на сердце человека [10]. Плотность β -адренергических рецепторов на мембранах лейкоцитов у здоровых людей отрицательно коррелировала с уровнем катехоламинов в крови и в суточной моче [10]. Уровень катехоламинов в крови и в моче, по-видимому, отражает активность симпатических нервных волокон. Таким образом, чем выше уровень активности симпатической нервной системы (выше концентрация катехоламинов в области рецепторов), тем сильнее выражена «регуляция вниз». Изменение плотности рецепторов может также происходить в ответ на прием лекарственных препаратов [3—6]. Препараты, уменьшающие стимуляцию β -рецепторов путем предупреждения симпатических нервных волокон и (или) путем истощения запасов катехоламинов (например, 6-гидроксидопами или гуанетидин), вызывают развитие «регуляции вверх». Блокаторы β -рецепторов также вызывают увеличение плотности рецепторов. С другой стороны, хроническая фармакологическая стимуляция β -рецепторов приводит к уменьшению плотности рецепторов.

Плотность β -рецепторов также изменяется при некоторых заболеваниях. Наиболее интенсивно такая зависимость изучалась у лиц с аномальной функцией щитовидной железы. У больных гипертиреозом наблюдаются признаки гиперактивности симпатической нервной системы, а у больных с гипотиреозом наблюдается противоположное явление. Например, при гипертиреозе обычно развивается тахикардия, повышается минутный объем сердца и возникает дрожание конечностей. У больных гипотиреозом наблюдается брадикардия. Эксперименты на животных показали, что при гипертиреозе плотность β -адренергических рецепторов увеличивается на 50—100%, а при гипотиреозе плотность β -адренергических рецепторов существенно уменьшается [11, 12]. В клинических исследованиях было показано, что введение трифлюродина здоровым добровольцам вызывает увеличение плотности β -адренергических рецепторов на мембране лейкоцитов [13]. Предполагается, что такие изменения плотности рецепторов на мембране лейкоцитов отражают изменения их плотности в сердце [13]. Таким образом, плотность β -рецепторов в сердце связана с состоянием щитовидной железы, и изменения плотности рецепто-

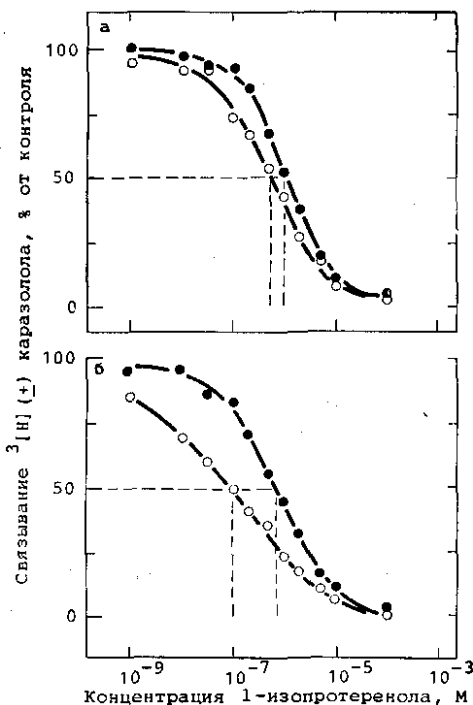


Рис. 24.2. Кривые, характеризующие конкуренцию 1-изопроптеренола с ^3H (+) каразололом за связывание с β -адренергическими рецепторами мембран сердца (а) и легких (б) собаки.

Светлые кружки — без адениннуклеотидов, темные кружки — с добавлением 10^{-8} М Gpp(NH)p. Обратите внимание, что как в мембранах кардиомиоцитов, так и в мембранах пневмоцитов добавление Gpp(NH)p приводит к сдвигу кривой конкуренции изопроптеренола, так что кривая проходит круче (коэффициент наклона увеличивается от 0,73 до 0,86 в миокарде и от 0,42 до 0,74 в ткани легких) и средство становится меньше (K_D изменяется от 0,17 до 0,29 мкМ в миокарде и от 0,026 до 0,23 мкМ в ткани легких). Так как в отсутствие Gpp(NH)p кривая для легких проходит более полого, чем для миокарда, вызываемое гуаниннуклеотидами изменение формы кривой сильнее выражено в первом случае, чем во втором.

ров способны, по крайней мере частично, объяснить изменения в сердечно-сосудистой системе, которые сопровождают это состояние.

В исследованиях с использованием радиоактивных лигандов было обнаружено, что молекулярные механизмы взаимодействия агонистов и антагонистов с β -адренергическими рецепторами различаются. Эти отличия наблюдались при анализе влияния гуаниннуклеотидов на кривые конкуренции агонистов. Добавление гуаниннуклеотидов, ГТФ или Gpp(NH)p в среду, где оценивается связывание, уменьшает средство β -рецепторов к агонистам, но не влияет на их средство к антагонистам (рис. 24.2 и табл. 24.1) [2—7]. Средство к частичным агонистам изменяется пропорционально их активности. Это результаты, первоначально полученные в модельных системах, затем были подтверждены при исследовании множества различных тканей, в том числе и миокарда (см. рис. 24.2 и табл. 24.1). С точки зрения взаимодействия β -рецепторов с агонистами рецепторы могут существовать в двух состояниях [3—7]. В мембранных препаратах, лишенных гуаниннуклеотидов, рецепторы существуют в обоих состояниях, как в низкоаффинном, так и в высокоаффинном [3—7]. Такое одновременное существование двух состояний рецепторов проявляется при изучении связывания радиоактивных лигандов в виде пологих кривых конкуренции агонистов, нелинейных кривых в координатах Скэтчарда и коэффициентах наклона < 1 (см. рис. 24.2

Таблица 24.1. Влияние гуаниннуклеотидов на взаимодействие β-адренергических рецепторов с пропранололом и катехоламинами

Вещество	Коэффициент наклона		K _D	
	-Gpp(NH)p	+Gpp(NH)p	-Gpp(NH)p	+Gpp(NH)p
Пропранолол	0,91	0,91	5,8	5,6
Изопротеренол	0,73	0,86	0,17	0,29
Адреналин	0,81	0,90	3,3	4,7
Норадреналин	0,76	0,82	2,2	3,2

Приведены средние величины для 3–9 экспериментов, K_D для пропранолола 10⁻⁹ М, для катехоламинов 10⁻⁸ М.

в табл. 24.1). Считается, что при добавлении к таким препаратам экзогенных гуаниннуклеотидов большинство (или все) рецепторов переходит в низкоаффинное состояние, что отражается в трансформации формы кривой конкуренции агонистов, которая приобретает большую крутизну, а также в увеличении констант диссоциации (меньшее средство) (см. рис. 24.2 и табл. 24.1) [3–7]. Данные, приведенные на рис. 24.2, получены на мембранных кардиомиоцитах (а) и мембранах пневмоцитов (б); в первом случае действие гуаниннуклеотидов не приводит к существенно изменению наклона кривой и средства.

Несмотря на то что изменения средства рецепторов миокарда к агонистам малы по сравнению с теми, которые наблюдаются в легких и некоторых других тканях, такие изменения наблюдаются всегда и их величина воспроизводима. Кривые конкуренции агонистов для миокарда всегда имеют крутой наклон и являются однофазными, независимо от присутствия или отсутствия гуаниннуклеотидов; форма этих кривых не изменяется при добавлении гуаниннуклеотидов (рис. 24.3 и табл. 24.1).

Такое конформационное изменение состояния рецептора, специфическое для агонистов, по-видимому, представляет собой процесс *in vitro* изменения свойств рецептора, вызванное веществами, естественно присутствующими в организме. В определенных условиях эти изменения приводят к активации аденилатциклазы [3–5]. Выдвинуто предположение, что агонисты β-рецепторов могут индуцировать переход рецептора в высокоаффинное состояние, следствием чего является образование комплекса рецептор–агонист, который затем взаимодействует с третьим компонентом системы — сопрягающим белком. После того как такой трехэлементный комплекс гормона, рецептора и сопрягающего белка взаимодействует с гуаниннуклеотидом, играющим регуляторную роль, происходит возврат рецептора в низкоаффинное состояние и диссоциация гормонорецепторного комплекса; одновременно происходит активация аденилатциклазы [3, 5]. Антагонисты (вещества, не обладающие естественной активностью) не способны индуцировать переход рецептора в высокоаффинное состояние, и, конечно, не вызывают активации аденилатциклазы.

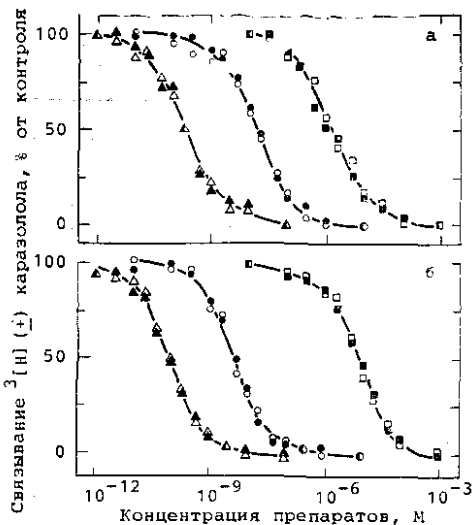


Рис. 24.3. Конкуренция между β -адренергическими антагонистами и $[^3\text{H}] (+)$ каразололом за связывание с β -адренергическими рецепторами везикул мембран, выделенных из миокарда желудочков сердца (а) и из ткани легких (б) собаки.

Треугольники — (-) каразолол, кружки — (-) пропранолол, квадраты — (+) метопролол. Наличие (темные символы) или отсутствие (светлые символы) 10^{-4} М 5'-гуанилинимидофосфата не сказывалось на положении или форме кривых конкуренции антагонистов с радиоактивным лигандом. (Займствовано из работы [75].)

Эта концепция более подробно обсуждается в следующих разделах данной главы.

α -Адренергические рецепторы. Убедительно доказано наличие α -адренергических рецепторов в гладких мышцах сосудов, а также изучено их физиологическое значение. Их существование и роль в миокарде пока что остается спорным вопросом [14]. Функциональные исследования показали, что α -агонисты способны увеличивать сократимость миокарда у животных некоторых видов, таких как крыса и кролик [14]. Механизм увеличения механической активности под действием α -агонистов отличается от механизма действия β -агонистов, что говорит о различии биохимических процессов, посредством которых стимуляция рецепторов этих двух типов приводит к изменению механической активности. Например, α -агонисты не увеличивают скорость расслабления миокарда, как это наблюдается при действии β -агонистов [14]. Электрофизиологические эффекты, вызываемые α -агонистами на изолированных миокардиальных препаратах *in vitro*, также отличаются от эффектов β -агонистов.

С появлением методов оценки связывания радиоактивных лигандов удалось прямо подтвердить существование α -рецепторов в миокарде, однако их роль в развитии инотропных эффектов катехоламинов до сих пор неясна. Более того, практически неизвестны биохимические механизмы, обуславливающие изменения работы сердца при стимуляции α -адренергических рецепторов [14].

Аденилатциклаза

Аденилатциклаза является ферментом, представляющим собой биохимический эффектор, с которым должны взаимодействовать β -адренергические рецепторы, осуществляя свое влияние на работу сердца. Аденилатциклаза расположена в сарколемме, как и

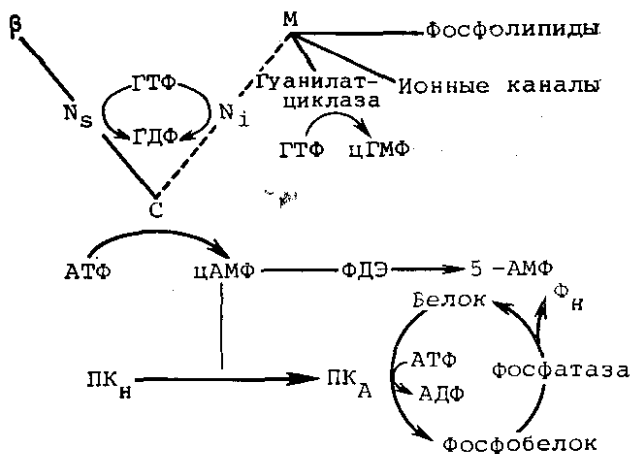


Рис. 24.4. Схема взаимосвязей вегетативных рецепторов с внутриклеточными эффекторами.

Катехоламины взаимодействуют с β -адренергическими рецепторами (β), что приводит к стимуляции через гуаниннуклеотид-связывающий белок (N_s) каталитической (C) субъединицы аденилатциклазы. Образующийся в результате цАМФ взаимодействует с протеинкиназой (PK_H) и активирует ее, переводя в форму (PK_A). Затем освобожденная каталитическая субъединица протеинкиназы (PK_A) катализирует фосфорилирование белков. Белки дефосфорилируются с помощью фосфатазы фосфобелков. Мускариновые (M) рецепторы также сопряжены с аденилатциклазой, вероятно, с помощью ингибиторного гуаниннуклеотид-связывающего белка (N_i). Кроме того, мускариновые рецепторы сопряжены с гуанилатциклазой (ГЦ), ионными каналами и могут регулировать обмен фосфолипидов мембраны.

β рецепторы, и не обнаруживается во внутренних мембранах, таких как саркоплазматический ретикулум [15]. Регулируемая гормонами аденилатциклаза состоит по крайней мере из трех основных субъединиц: рецептора, например β -адренергического рецептора, каталитической субъединицы, которая катализирует превращение АТФ в циклический АМФ (цАМФ), и сопрягающей, или регуляторной субъединицы, которая сопрягает рецептор с каталитической субъединицей и передает сигнал о взаимодействии гормона с рецептором к каталитической субъединице, активность которой при этом изменяется (рис. 24.4). Подробное изучение биохимии и молекулярной биологии аденилатциклазы первоначально было осуществлено на модельных системах без использования препаратов млекопитающих (общие данные по аденилатциклазе см. в работе Ross и Gilman [16]). Однако большинство свойств фермента, описанных при изучении этих систем, оказались теми же самыми и для аденилатциклазы млекопитающих.

В настоящее время точно установлено, что регуляция активности аденилатциклазы может осуществляться как путем ее стимуляции, так и путем ингибирования и что существуют рецепторы для нейромедиаторов и гормонов, которые определяют как стимуляцию, так и ингибирование работы фермента [17—19]. α_2 и мускариновые рецепторы взаимодействуют с ферментом таким образом, что его активность ингибируется [18, 20].

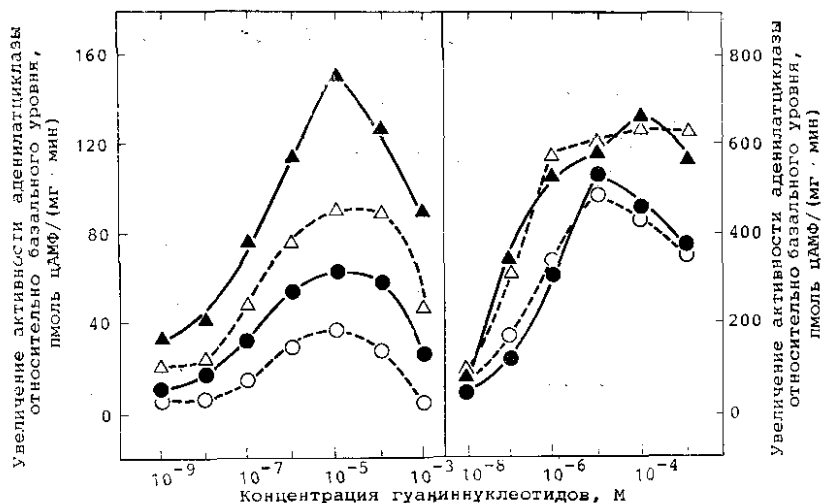


Рис. 24.5. Стимуляция активности аденилатциклазы мембранных везикул из сердца собаки под действием гуаниннуклеотидов.

В качестве гуаниннуклеотидов добавляли ГТФ (слева) и Gpp(NH)p (справа). Кругами обозначены величины, полученные при добавлении только гуаниннуклеотидов, треугольниками — гуаниннуклеотидов и 10⁻⁷ М изопротеренола. Светлые символы обозначают величины, полученные при добавлении 10⁻⁵ М метахолина к гуаниннуклеотидам или изопротерену. Обратите внимание, что метахолин существенно ингибирует активацию аденилатциклазы в присутствии ГТФ или комбинации ГТФ с изопротеренолом (слева), но не влияет на активность аденилатциклазы, если в качестве гуаниннуклеотида добавлен Gpp(NH)p (справа).

Субъединица, осуществляющая сопряжение рецепторов с каталитической субъединицей, называется G/F или N-белком, так как регуляция ее работы опосредована связыванием гуаниннуклеотидов [16] (см. рис. 24.4). N-Белок в свою очередь состоит из нескольких субъединиц, одна из которых, обозначаемая N_s, ответственна за передачу воздействий стимулирующих рецепторов, а другая, которая, вероятно, передает влияние ингибирующих рецепторов, обозначается N_i [17—19]. Обе субъединицы связывают гуаниннуклеотиды, например, ГТФ. Кроме того, обе субъединицы обладают ГТФазной активностью и, следовательно, способны гидролизовать ГТФ до ГДФ (см. рис. 24.4).

В большинстве исследованных систем, включая сердце, гуаниннуклеотиды необходимы для регуляции активности аденилатциклазы. На препаратах мембран миокардиальных клеток показано, что сами по себе гуаниннуклеотиды стимулируют активность этого фермента (рис. 24.5). Кроме того, гуаниннуклеотиды необходимы для регуляции активности фермента гормонами. Катехоламины не оказывают стимулирующего воздействия на фермент, если в системе отсутствуют гуаниннуклеотиды (либо ГТФ, либо его негидролизуемые аналоги) (см. рис. 24.5) [20]. Точно так же необходимо присутствие ГТФ для проявления ингибирующего влияния мускариновых рецепторов на активность аденилатциклазы кардиомиоцитов. В отличие от случая β-рецепторной стимуляции активности, которая наблюдается как в присутствии

ствии ГТФ, так и его негидролизуемых аналогов, ингибирование фермента под действием мускариновых рецепторов происходит только в том случае, если в качестве гуаниннуклеотидов в системе присутствует ГТФ [20] (см. рис. 24.5). Если используются негидролизуемые аналоги, то ингибирующего действия мускариновых рецепторов на активность аденилатциклазы не наблюдается (см. рис. 24.5) [20]. Этот результат позволил выдвинуть предположение, что агонисты мускариновых рецепторов способны ингибировать фермент за счет активации ГТФазы и снижая таким образом количество ГТФ, доступного для взаимодействия с N_s . Данные, полученные для немускариновых ингибирующих рецепторов на мембранах миокардиальных клеток и в других системах, согласуются с таким предположением. Однако еще предстоит установить, действительно ли таков механизм мускаринового ингибирования активности аденилатциклазы и существуют ли какие-либо дополнительные механизмы.

Таким образом, в сарколемме кардиомиоцитов содержатся как стимулирующие (β -адренергические), так и ингибиторные (мускариновые) рецепторы, которые взаимодействуют с N-белками. В число субъединиц, составляющих N-белок, входят стимулирующая субъединица (N_s) и предполагаемая ингибиторная субъединица (N_i), каждая из которых связывает ГТФ (см. рис. 24.4). Когда стимулирующие или ингибирующие рецепторы активированы в результате связывания соответствующих агонистов, активность каталитической субъединицы либо возрастает, либо снижается, причем такое изменение активности фермента опосредовано соответствующим N-белком (N_s или N_i). Вследствие этого внутриклеточная концентрация цАМФ либо увеличивается, либо уменьшается.

Внутриклеточный уровень цАМФ регулируется с помощью двух ферментов: аденилатциклазы и фосфодиэстеразы (см. рис. 24.4). Последний фермент превращает цАМФ в 5'-АМФ и таким образом восстанавливает внутриклеточный уровень цАМФ до уровня, имевшегося перед активацией аденилатциклазы. Пока нет доказательств того, что активация рецепторов к вегетативным нейромедиаторам изменяет активность фосфодиэстеразы, однако ингибирование этого фермента относится к хорошо известным механизмам действия определенных лекарственных препаратов, из которых наиболее известны метилксантины. Кроме того, влияние на силу сокращения некоторых из новых соединений, обладающих положительным инотропным действием и не относящихся к гликозидам или катехоламинам, например амринона, также может быть частично обусловлено ингибированием фосфодиэстеразы, приводящим к повышению тканевого уровня цАМФ.

Фосфорилирование белков: цАМФ-зависимая протеинкиназа и протеинфосфатаза

После увеличения концентрации цАМФ в кардиомиоцитах вследствие повышения каталитической активности аденилатциклазы дальнейшее влияние цАМФ на процессы, идущие в клет-

ках, обусловлено взаимодействием цАМФ с другим белком, называемым цАМФ-зависимой протеинкиназой (обзор по протеинкиназам см. в работе Krebs и Beavo [21]) (см. рис. 24.4). Этот фермент находится в сарколемме, а также в цитоплазме в растворимой форме. цАМФ-Зависимая протеинкиназа является ферментом, состоящим из двух субъединиц, называемых регуляторной и каталитической субъединицами [21]. Когда цАМФ-зависимая протеинкиназа существует в виде цельного фермента, т. е. не распадается на субъединицы, она каталитически неактивна. Регуляторная субъединица является рецептором для цАМФ, поэтому при повышении внутриклеточной концентрации цАМФ он связывается с регуляторной субъединицей, что вызывает диссоциацию регуляторной и каталитической субъединиц [21]. После того как каталитическая субъединица освобождается от регуляторной, она становится каталитически активной и катализирует перенос концевой фосфатной группы АТФ на различные белки кардиомиоцита (см. рис. 24.4). Такое фосфорилирование изменяет свойства белка таким образом, что изменяется его взаимодействие с ионами, например с Ca^{2+} , и вследствие этого происходит изменение сократительных свойств миокарда. Было показано, что в условиях *in vitro* различные белки миокарда являются субстратами цАМФ-зависимой протеинкиназы. Однако лишь небольшая часть этих белков реально фосфорилируется в интактном сокращающемся сердце, как было показано в исследованиях *in vivo*. Вероятно, это фосфорилирование является результатом активности цАМФ-зависимой протеинкиназы. К фосфорилируемым *in vivo* белкам относятся киназа фосфоорилазы, тропонин-1, миозин и фосфоламбан [22].

Фосфорилирование киназы фосфоорилазы является одной из стадий активации фосфоорилазы под действием β -агонистов. Хотя эффект катехоламинов, вероятно, важен для удовлетворения повышенных метаболических потребностей миокарда при работе в условиях повышенной сократительной активности, фосфорилирование этого белка, по-видимому, не вносит непосредственного вклада в увеличение сократимости миокарда.

Так как тропонин-1, миозин и фосфоламбан тесно связаны со структурами миокардиальных клеток, которые либо связывают Ca^{2+} , либо принимают участие в регуляции потоков Ca^{2+} , предполагается, что фосфорилирование одного или нескольких из этих белков является причиной влияния катехоламинов на силу сокращения [22]. Тропонин-1 является субъединицей тропонина, одного из регуляторных белков, входящих в состав комплекса сократительных белков миофибрилл. Первоначально было показано, что тропонин-1 может фосфорилироваться *in vitro* в присутствии цАМФ-зависимой протеинкиназы [22]. Затем выяснено, что введение катехоламинов в кровь, питающую интактное сердце, также вызывает фосфорилирование тропонина-1 и что уровень фосфорилирования коррелирует с повышением сократительной активности [23]. Начало и развитие повышения сократимости коррелирует с фосфорилированием тропонина-1, но при снижении

ократимости и восстановлении исходного состояния сократительной системы такая корреляция может отсутствовать [23]. При прекращении поступления в кровь катехоламинов тропонин-I остается в фосфорилированном состоянии, в то время как сила сокращения возвращается к контрольной величине. Другие вещества (оубаин, ионофор X537A) или воздействия (повышение концентрации Ca^{2+} в перфузате, снижение концентрации Na^+ или ритмическая стимуляция после периода покоя), которые вызывают положительные инотропные эффекты, но не повышают тканевый уровень цАМФ, не приводят к фосфорилированию тропонина-I [23].

Результаты исследований влияния фосфорилирования тропонина-I на работу тропонинового комплекса противоречивы, поэтому значение и роль такого фосфорилирования остаются неясными. В настоящее время исследователи не располагают четкими данными относительно влияния фосфорилирования тропонина-I на регуляцию АТФазной активности актомиозина ионами Ca^{2+} . Если бы такое фосфорилирование имело важное функциональное значение, тогда можно было бы ожидать, что фосфорилирование тропонина-I либо увеличит, либо уменьшит чувствительность тропонинового комплекса к Ca^{2+} . В экспериментах наблюдались оба типа таких изменений. Установлено, например, что фосфорилирование тропонина-I сердца морской свинки уменьшает количество Ca^{2+} , необходимого для активации актомиозиновой АТФазы, т. е. чувствительность ее к Ca^{2+} возрастает [24]. В другой работе не обнаружено никаких отличий чувствительности актомиозиновой АТФазы к ионам Ca^{2+} в случаях фосфорилированных и нефосфорилированных миофибрилл [25]. Наконец, опубликовано сообщение о том, что фосфорилирование тропонина-I сопровождается уменьшением стимулирующего действия Ca^{2+} на активность актомиозиновой АТФазы [26]. Если последнее наблюдение верно, тогда было бы разумно предположить, что фосфорилирование тропонина-I, приводящее к снижению чувствительности актомиозиновой АТФазы к ионам Ca^{2+} , частично объясняет с биохимической точки зрения увеличение скорости расслабления миокарда под действием катехоламинов. Однако так как в настоящее время результаты исследования эффектов фосфорилирования тропонина-I противоречивы, невозможно сделать однозначного вывода о его физиологическом значении [22]. Основные нерешенные вопросы относительно роли фосфорилирования тропонина-I в ответ на повышение уровня цАМФ состоят в следующем: а) в чем заключается результат такого фосфорилирования с точки зрения биохимии или взаимодействия с ионами и б) какова роль такого фосфорилирования в процессе развития механических эффектов при стимуляции адренорецепторов.

Было изучено также фосфорилирование легкой цепи миозина [22]. Как и в случае с тропонином-I, результаты оказались противоречивыми. Опубликовано сообщение о фосфорилировании легкой цепи миозина (относительная молекулярная масса 19 000) в миокарде папиллярной мышцы кошки под действием норадре-

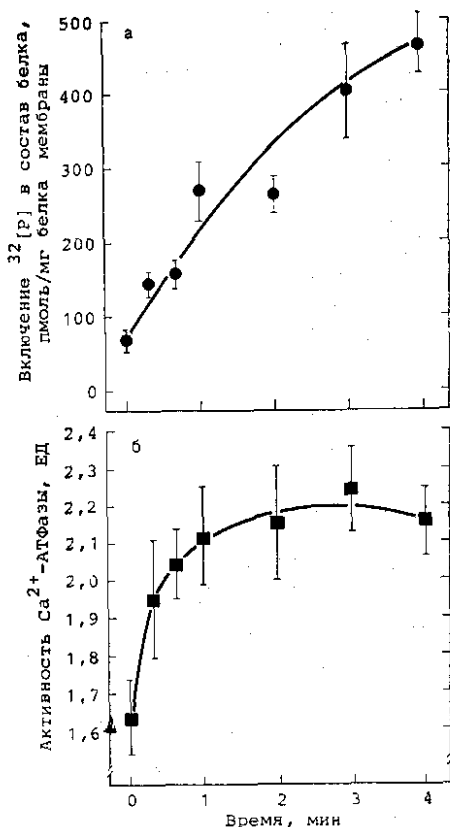
налина [27]. С другой стороны, было показано, что легкая цепь миозина кролика полностью фосфорилирована в покое, а добавление адреналина приводит к уменьшению количества фосфорилированного белка [28]. Позднее были опубликованы данные о том, что различные инотропные воздействия (как положительные, так и отрицательные) не влияют на уровень фосфорилирования легкой цепи миозина в миокарде кролика и крысы [29]. Более того, изопротеренол вызывает активацию фосфорилазы в изолированном перфузируемом сердце кролика, что указывает на развитие биохимического эффекта повышения уровня цАМФ, но не влияет на фосфорилирование легкой цепи миозина [29]. Таким образом, еще предстоит установить, каково влияние катехоламинов на уровень фосфорилирования миозина в интактном миокарде, если они вообще имеют значение для фосфорилирования этого белка. Кроме того, необходимо выяснить, какова биохимическая роль фосфорилирования легкой цепи миозина миокарда в функционирующей миозина [22].

В ходе исследований *in vitro* роли фосфорилирования в регуляции работы саркоплазматического ретикулума было обнаружено, что основным субстратом цАМФ-зависимой протеинкиназы является белок с относительной молекулярной массой 22 000, который, по-видимому, является интегральным белком мембраны саркоплазматического ретикулума [30, 31]. Было показано, что добавление цАМФ к препарату изолированных мембран саркоплазматического ретикулума, как в присутствии экзогенной цАМФ-зависимой протеинкиназы, так и без нее, вызывает фосфорилирование этого белка, сопровождающееся повышением Ca^{2+} -зависимой АТФазной активности [30, 31]. Последующие исследования показали, что величина этого белка (относительная молекулярная масса 22 000) может быть уменьшена приблизительно на 8000—11 000 путем соответствующей обработки мембран (например, кипячение в детергенте). Поэтому можно предположить, что этот белок является олигомером, состоящим из двух или более субъединиц [32]. Такой белок получил название фосфоламбан (в переводе с греческого — акцептор фосфата), и было выдвинуто предположение, что он регулирует Ca^{2+} -АТФазную активность саркоплазматического ретикулума [31].

В нескольких лабораториях было показано, что фосфоламбан может быть фосфорилирован в интактном сердце [33—35]. Такое фосфорилирование происходит быстро (через 20 с после введения катехоламинов) и при низкой концентрации адренергических агонистов, например, при $3 \cdot 10^{-9}$ М изопротеренола (рис. 24.6а) [35]. Ca^{2+} -АТФазная активность везикул саркоплазматического ретикулума, в которых изучается фосфорилирование фосфоламбана (т. е. препарата саркоплазматического ретикулума, изолированного из миокарда интактного желудочка), увеличивается во времени параллельно с фосфорилированием фосфоламбана; так же параллельно идут концентрационные зависимости (рис. 24.6б) [35]. Фосфорилирование фосфоламбана и Ca^{2+} -АТФазная активность изменяются параллельно изменению показателя расслабле-

Рис. 24.6. Развитие во времени (а) адриенергической стимуляции фосфорилирования фосфоламбана и активности Ca^{2+} -АТФазы (б) в желудочках сердца морской свинки.

Сердца перфузировали буфером, содержащим 1,1–1,8 мКю ^{32}P в течение 30 мин. Затем добавляли изопроterenол и производили заморозку в указанные моменты времени. Из миокарда выделяли препараты везикул мембран, которые разделяли на порции для электрофореза в SDS-полиакриламидном геле и для определения активности Ca^{2+} -АТФазы. Количество P_i встроившегося в фосфоламбан, определяли путем определения радиоактивности полос в выделенном геле (полосы идентификации) автордиографическим методом. Полученную при этом величину делили на удельную активность ^{32}P -АТФ, которую определяли в каждом сердце в отдельности. (Взято из работы [35].)



нии миокарда (т. е. скорость расслабления), однако при изучении исчезновения эффектов после удаления изопроterenола из перфузата наблюдается разный ход изменения биохимических и механических параметров во времени. Оказалось, что возврат показателей расслабления к контрольным величинам предшествует дефосфорилированию фосфоламбана и возврату Ca^{2+} -АТФазной активности к исходному уровню [35]. Существует несколько возможных объяснений такого результата: а) расхождение скорее является кажущимся, чем реальным; б) фосфорилирование фосфоламбана является инициатором развития релаксирующего эффекта катехоламинов, а окончание механического эффекта достигается за счет другого механизма (отличного от дефосфорилирования фосфоламбана); в) фосфорилирование фосфоламбана не имеет никакого отношения к инотропным эффектам катехоламинов. Несомненно, что для решения этой проблемы необходимы дальнейшие исследования.

Дефосфорилирование всех обсуждавшихся выше белков осуществляется в результате действия фосфатаз фосфобелков, которые удаляют фосфатную группу и, таким образом, переводят белок в основное состояние (см. рис. 24.4). В настоящее время нет никаких данных о том, что нейромедиаторы или гормоны способ-

ны регулировать активность фосфатаз фосфобелков и посредством этого влиять на фосфорилирование белков. Однако такой механизм действия представляет собой необычайно привлекательную гипотезу действия некоторых антиадренергических соединений, например, агонистов мускариновых рецепторов. Этот вопрос будет более подробно обсуждаться далее в этом разделе.

Каналы сарколеммы, обуславливающие развитие медленного кальциевого тока (I_{si}), также, вероятно, являются субстратом цАМФ-зависимой протеинкиназы [36]. Однако об этом белке известно очень мало, и до сих пор не получено убедительных данных относительно его фосфорилирования как *in vitro*, так и *in vivo*. Результаты функциональных исследований ясно указывают, что один из субклеточных механизмов, обуславливающих влияние катехоламинов на работу сердца, может быть связан с фосфорилированием I_{si} -каналов.

Вещества, повышающие тканевый уровень цАМФ, вызывают увеличение I_{si} . Впервые это было показано косвенным путем при изучении так называемых медленных ответов, индуцируемых инотропными соединениями [37]. Можно подавить возбудимость интактного миокарда путем инактивации быстрых натриевых каналов, например, путем деполяризации, действия высоких концентраций тетродотоксина или при использовании перфузионных растворов, не содержащих ионов Na^+ . В такой миокардиальной ткани возбудимость может быть восстановлена с помощью веществ, которые повышают концентрацию цАМФ в кардиомиоцитах [37]. Входящий деполяризующий ток в случае такого способа восстановления возбудимости миокарда переносится ионами Ca^{2+} через медленные кальциевые каналы I_{si} . Такое увеличение I_{si} может быть заблокировано Ca^{2+} -антагонистами, которые не влияют на вызванное катехоламинами повышение уровня цАМФ [37]. Вещества, вызывающие медленные ответы, одновременно увеличивают уровень цАМФ в ткани. К ним относятся катехоламины, гистамин, ингибиторы фосфодиэстеразы, дибутирил-цАМФ [37]. Вещества, повышающие уровень цАМФ, вероятнее всего, увеличивают I_{si} , вызывая фосфорилирование белкового компонента кальциевого канала [38]. Вещества или воздействия, вызывающие положительный инотропный эффект, но не повышающие внутриклеточного уровня цАМФ, а значит, и не активирующие цАМФ-зависимую протеинкиназу, не приводят к увеличению I_{si} [37].

Последующие исследования с использованием более прямых методов также позволили предположить, что частично эффект катехоламинов обусловлен тем, что они вызывают фосфорилирование кальциевых каналов. Если к сердечным волокнам добавит непосредственно цАМФ или его аналог, то это вызывает увеличение I_{si} , измеряемого прямым методом (методом фиксации потенциала) [39]. Недавно было показано, что инъекция негидролизуемого аналога ГТФ, Gpp(NH)p, или холерного токсина (активирует аденилатциклазу) непосредственно внутрь кардиомиоцита (путем микроионофореза) вызывает увеличение медленного ответа и I_{si} [40]. Таким образом, получено существенное подтвержде-

ние тому, что кальциевые каналы сарколеммы являются еще одной субклеточной структурой, работа которой изменяется под действием катехоламинов, и что такое изменение скорее всего заключается в фосфорилировании белка канала [38, 39]. Необходимо провести дальнейшие исследования, чтобы прямо показать наличие такого фосфорилирования в интактном миокарде.

В заключение, по-видимому, будет правомерно сделать вывод, что вещества, повышающие клеточный уровень цАМФ, например катехоламины, влияют на кардиомиоциты, вызывая фосфорилирование белков. Было изучено несколько белков, которые, как было показано в экспериментах на интактных сердцах, фосфорилируются в ответ на воздействие катехоламинов. Доказательство функциональной значимости фосфорилирования рассматриваемых белков содержит пробелы или недостаток данных. Данные относительно биохимического эффекта фосфорилирования тропонина-1 противоречивы, и дефосфорилирование, по-видимому, отстает от возврата функции сердца к контрольному уровню при удалении катехоламинов из перфузионного раствора. Фосфорилирование легкой цепи миозина скорее всего не изменяется при инотропных воздействиях. Данные о важной роли фосфорилирования фосфоламбана кажутся довольно убедительными, но его фосфорилирование отстает от исчезновения релаксирующего действия катехоламинов. Наконец, несмотря на наличие большого количества данных о том, что некоторый компонент кальциевого канала может быть субстратом для цАМФ-зависимой протеинкиназы, до сих пор не удалось провести прямых исследований фосфорилирования кальциевых каналов *in vitro* или в интактной ткани. Таким образом, необходимо еще провести много исследований для выяснения функциональной роли фосфорилирования этих белков в развитии положительного инотропного действия катехоламинов. Следует также исследовать и другие возможные белковые субстраты, которые могут принимать участие в регуляции работы сердца.

Роль Ca^{2+} в развитии инотропного эффекта катехоламинов

В конечном счете любые изменения сократительной способности миокарда определяются количеством Ca^{2+} , доступного для взаимодействия с миофибриллярным комплексом сократительных белков. Следовательно, действие β -агонистов должно в конце концов приводить к изменению потоков Ca^{2+} и доступности Ca^{2+} для сократительных белков. Как описано выше, к таким эффектам катехоламинов относятся увеличение систолического входа Ca^{2+} по кальциевым каналам (I_{Ca}), возможное изменение чувствительности тропонина-С к Ca^{2+} и повышение Ca^{2+} -АТФазной активности. Биохимическим изменением, которое определяет развитие этих эффектов, по-видимому, является фосфорилирование белков, катализируемое цАМФ-зависимой протеинкиназой.

Теоретически Ca^{2+} -кальмодулин-зависимая протеинкиназа мо-

Т а б л и ц а 24.2. Влияние различных инотропных агентов на фосфорилирование фосфоламбана, активность Ca^{2+} -АТФазы и параметры сокращения интактного миокарда

	Включение ^{32}P , нмоль ^{32}P /мг белка	Ca^{2+} -АТФаза, мкмоль Φ_{H} / (мг белка/г)	+ T_{max} , % контроля	$t_{1/2}$, мс
H_2O , 60 с (контроль)	71 ± 11 (15)	$1,63 \pm 0,10$ (15)	—	—
Гистамин, 1 мкМ, 60 с	191 ± 23 (6)*	$2,10 \pm 0,17$ (6)*	190 ± 11 (6)	-22 ± 1 (6)*
H_2O , 15 мин (контроль)	59 ± 15 (8)	$1,53 \pm 0,11$ (8)	—	
Дибутирил- цАМФ, 3 мМ, 15 мин	118 ± 19 (9)*	$1,98 \pm 0,08$ (9)	115 ± 5 (9)	-1 ± 1 (9)
Оуабайн, 1 мМ, 15 мин	37 ± 7 (5)	$1,47 \pm 0,24$ (5)	131 ± 4 (5)	
Пропранолол, 6 мкМ + метил- амид, 10 мкМ, 5 мин	37 ± 8 (3)	$1,28 \pm 0,05$ (3)		
+ Ca^{2+} , 5 мМ, 60 с	31 ± 4 (3)	$1,25 \pm 0,15$ (3)		$+2 \pm 1$ (3)

Результаты представлены в следующем виде: среднее \pm стандартное отклонение для n сердец (в скобках).

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

жет быть также активирована повышением внутриклеточной концентрации Ca^{2+} при действии катехоламинов, причем эта киназа также способна фосфорилировать различные белки и, таким образом, изменять работу кардиомиоцитов. В условиях *in vitro* было показано, что добавление кальмодулина в среду, содержащую Ca^{2+} и мембраны саркоплазматического ретикулума, приводит к фосфорилированию фосфоламбана [41, 43]. Количество белка, фосфорилируемого таким способом, не зависит от уровня фосфорилирования, катализируемого цАМФ-зависимой протеинкиназой, и конечный уровень фосфорилирования является суммой результатов этих двух процессов, что означает, что эти две киназы фосфорилируют различные участки фосфоламбана [42]. Фосфорилирование, вызванное кальмодулин-зависимой протеинкиназой, увеличивает Ca^{2+} -АТФазную активность саркоплазматического ретикулума в точности так же, как и фосфорилирование, катализируемое цАМФ-зависимой протеинкиназой [42, 43]. Результаты одного из исследований на миокарде сокращающихся желудочков крысы позволяют предположить, что фосфорилирование, вызванное кальмодулин-зависимой протеинкиназой, может также осуществляться в условиях *in vivo* [33]. Однако тщательные исследования, проведенные на желудочках сердца морской свинки, показали, что различные инотропные воздействия, которые не повышают уровня цАМФ, не способны вызвать фосфорилирование фосфоламбана (табл. 24.2) [35]. К таким воздействиям относятся пер-

фузия раствором с высоким содержанием Ca^{2+} или добавление в раствор оубаина или кальциевого ионофора A23187. Хотя положительные инотропные эффекты, вызываемые этими воздействиями, сравнимы по величине с теми, которые возникают под действием β -агонистов, уровень фосфорилирования фосфоламбана при этом не изменяется [35]. Вещества, вызывающие положительные инотропные эффекты без влияния на уровень цАМФ, не увеличивают скорость расслабления миокарда морской свинки. В этих сердцах не изменялась также Ca^{2+} -АТФазная активность саркоплазматического ретикулума (см. табл. 24.2). Эти результаты свидетельствуют о том, что в интактном сердце вещества, увеличивающие внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} , но не повышающие уровня цАМФ, не вызывают фосфорилирования фосфоламбана, несмотря на то что такое фосфорилирование происходит *in vitro* и что мембраны саркоплазматического ретикулума содержат Ca^{2+} -кальмодулин-зависимую протеинкиназу. Причины, по которым не выявляется фосфорилирование при воздействиях, которые, как предполагается, способны активировать кальмодулин-зависимую киназу *in vivo*, остаются неизвестными. Возможно, скорость оборота фосфата в участке, фосфорилируемом кальмодулин-зависимой киназой, низка, и *in vivo* этот участок остается фосфорилированным даже в том случае, если миокард не подвергается воздействию веществ, вызывающих положительное инотропное действие.

МЕХАНИЗМЫ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ НА СЕРДЦЕ

Одно из отличий парасимпатической регуляции работы сердца от симпатической состоит в том, что наблюдается значительно большая вариабельность реакций различных тканей сердца на парасимпатическую стимуляцию, чем на симпатическую [1]. Реакции всех тканей сердца на стимуляцию β -адренорецепторов, вообще говоря, близки как качественно, так и количественно. И наоборот, миокард желудочков значительно слабее реагирует на действие агонистов мускариновых рецепторов, чем миокард предсердий [1]. Эфиры холина сильно подавляют автоматизм спонтанно возбудимой ткани предсердий и оказывают мощное отрицательное инотропное действие на миокард предсердий. И наоборот, в изолированном миокарде желудочков агонисты мускариновых рецепторов оказывают незначительное отрицательное инотропное действие (в отсутствие симпатической стимуляции), а также минимально влияют на его электрофизиологические свойства. У некоторых видов животных агонисты мускариновых рецепторов способны оказывать прямое действие на волокна Пуркинье. Как в предсердных тканях, так и в тканях желудочков агонисты мускариновых рецепторов противодействуют влиянию β -агонистов. Так как агонисты мускариновых рецепторов оказывают относительно слабое влияние на ткани желудочков в отсут-

ствие других воздействий на миокард, поэтому их антиадренергический эффект выражен значительно сильнее, чем собственно эффект мускариновых агонистов. Такое усиление эффекта мускариновых агонистов на фоне одновременной симпатической стимуляции, наблюдаемое как на изолированных препаратах миокарда, так и у интактных животных с нормальной симпатической и парасимпатической иннервацией, получило название «акцентированный антагонизм» [44]. Наличие вышеупомянутых различий реакций миокарда предсердий и миокарда желудочков на стимуляцию мускариновых рецепторов позволяет предположить, что:

- а) влияние стимуляции мускариновых рецепторов на миокард определяется несколькими субклеточными механизмами и
- б) только некоторые из этих субклеточных механизмов являются общими для тканей предсердий и тканей желудочков.

В следующих разделах обсуждаются различные структуры кардиомиоцитов, которые принимают участие в передаче сигналов мускариновых агонистов миокарду.

Мускариновые холинергические рецепторы

Подобно адренергическим рецепторам, мускариновые рецепторы также начали изучать непосредственно с помощью метода оценки связывания радиоактивных лигандов (полный обзор методов оценки связывания радиоактивных лигандов с мускариновыми рецепторами см. в работах Birdsall и Humle [45] и Ehlert с соавт. [46]). Результаты таких исследований показали, что мускариновые рецепторы присутствуют как в предсердиях, так и в желудочках и что плотность рецепторов в желудочках по крайней мере равна или даже больше, чем в предсердиях. Поэтому нельзя объяснить различие реакций предсердий и желудочков на мускариновые агонисты различным распределением мускариновых рецепторов. Исследования связывания показали, что мускариновые рецепторы являются связанными с мембрами и, по-видимому, преимущественно или исключительно расположены в плазматической мембране [9]. Места связывания мускариновых агонистов в препарате сарколеммы и саркоплазматического ретикулула, изолированного из сердца собаки, при очистке сопровождаются (Na^+ , K^+)-АТФазу (сарколеммальный маркер), а не Ca^{2+} -АТФазу (маркер саркоплазматического ретикулула) [9]. Кроме того, места связывания мускариновых агонистов при очистке попадают в ту же фракцию, что и места связывания адренергических агонистов. Следовательно, β -адренергические и мускариновые рецепторы расположены в сарколемме кардиомиоцитов. Такое расположение было бы оптимально для лучшей доступности рецепторов для нейромедиаторов и для обеспечения внутриклеточного взаимодействия между этими двумя отделами вегетативной нервной системы на уровне рецепторов и их эффекторов (см. рис. 24.1).

Аналогично β -адренергическим рецепторам, регуляция работы мускариновых рецепторов также осуществляется с помощью мно-

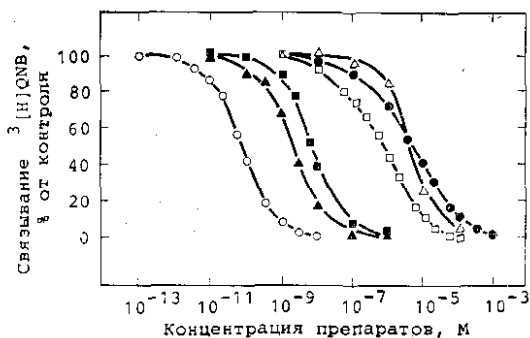


Рис. 24.7. Кривые конкуренции связывания ^3H QNB с мускариновыми рецепторами везикул мембран, изолированных из миокарда желудочка сердца собаки.

Представлены результаты отдельных экспериментов на очищенных препаратах сарколеммы. Связывание измеряли в относительных величинах где за контроль (100%) принято было связывание в отсутствие конкурирующего вещества. Для всех кривых концентрация ^3H QNB равнялась приблизительно 80 пМ. Обратите внимание, что в случае оксетрорморина (светлые квадраты) и метахолина (темные круги) кривые имеют более пологую форму, чем кривые для антагонистов. Использовали следующие вещества: QNB (светлые круги), дексетимид (темные треугольники), атропин (темные квадраты), метахолин (темные круги) и левитимид (светлые треугольники). (Займствовано из работы [80].)

жества различных воздействий [45, 46]. Оценка связывания выявила, что взаимодействие агонистов с мускариновыми рецепторами представляет собой значительно более сложный процесс, чем взаимодействие антагонистов, аналогично тому, что известно для β -адренергических рецепторов. В смысле взаимодействия с агонистами мускариновые рецепторы могут существовать в нескольких состояниях [45, 46]. Те же самые места связывания (т. е. мускариновые рецепторы), которые взаимодействуют с антагонистами как однородная популяция, будут гетерогенно взаимодействовать с агонистами. Это вытекает из анализа кривых, отражающих связь между количеством мускариновых рецепторов, связанных с агонистами, и концентрацией агонистов в растворе. Кривые связывания для взаимодействия мускариновых антагонистов с рецепторами по своей форме соответствуют тому, что предсказывает закон действующих масс для взаимодействия лиганда с однородной популяцией мест связывания (рис. 24.7). И наоборот, форма кривых связывания агонистов существенно отличается от предсказанной на основании простого закона действующих масс (см. рис. 24.7). Кривые связывания агонистов идут более полого, чем кривые связывания антагонистов, и коэффициент наклона значительно меньше 1,0. Наиболее правдоподобное объяснение этого явления состоит в том, что мускариновые рецепторы могут существовать в нескольких конформационных состояниях в смысле их взаимодействия с агонистами [45]. В мембранах нервных клеток крысы описаны три различных класса мускариновых мест связывания с различными величинами сродства к агонистам [45]. В ряде других органов, включая сердце, описаны по крайней мере два типа мест связывания (с высоким и низким сродством)

[45, 46]. Такие места связывания с различным средством не способны к взаимопревращению при оценке связывания, поэтому коэффициенты наклона кривых, описывающих зависимость количества занятых рецепторов от концентрации агониста, являются результатом суммирования эффектов взаимодействия лигандов с различными местами связывания.

Мускариновые рецепторы, подобно β -адренергическим рецепторам, подвержены регуляторному влиянию гуаниннуклеотидов [46]. В результате анализа конкуренции агонистов с радиоактивными антагонистами за связывание с мускариновыми рецепторами препаратов мембран миокардиальных клеток, из которых удалены эндогенные гуаниннуклеотиды, были получены те же полого идущие кривые, которые описаны выше (см. рис. 24.7). Однако при добавлении экзогенных гуаниннуклеотидов кривые приобретают иную форму, а более резким наклоном, что соответствует взаимодействию лиганда с одной гомогенной популяцией мест связывания [46]. Одновременно существенно уменьшается средство рецепторов к агонистам. Эти данные были интерпретированы как переход под действием гуаниннуклеотидов рецепторов из состояния с высоким средством к агонистам в состояние с низким средством [46], аналогично ситуации с регуляцией средства β -адренергических рецепторов под действием гуаниннуклеотидов. Таким образом, при добавлении гуаниннуклеотидов увеличивается наклон кривых связывания (что говорит о наличии одного класса мест связывания) и кривые сдвигаются вправо вследствие того, что все или большинство рецепторов переходят в состояние с низким средством. Такое взаимодействие гуаниннуклеотидов с мускариновыми рецепторами, вероятно с участием N-белков, может рассматриваться как возможный механизм сопряжения рецептора с внутриклеточными эффекторами, аналогично ситуации с β -адренергическими рецепторами (см. рис. 24.4). Однако пока еще неизвестны детали молекулярного взаимодействия мускариновых рецепторов с другими мембранными компонентами аденилатциклазной системы.

Аналогично β -адренергическим рецепторам плотность мускариновых рецепторов в сердце изменяется в зависимости от концентрации мускариновых агонистов в окружающей среде. Например, если миокардиальные клетки куриного эмбриона в культуре подвергнуть действию карбомилхолина, то их отрицательная хронотропная реакция на действие мускариновых агонистов уменьшается, что сопровождается существенным снижением плотности рецепторов [47]. Более подробный анализ выявил двухфазность такого изменения рецепторов, вызванного действием агонистов. Быстрая фаза (завершается в пределах 1 мин) связана с уменьшением средства рецепторов к агонистам, после нее следует более медленная фаза (продолжается несколько часов), в течение которой происходит истинное уменьшение выявляемого связывания рецепторов. В исследованиях *in vivo* также было продемонстрировано уменьшение плотности мускариновых рецепторов в миокарде под действием агонистов. Карбахол вводили цып-

лятам, находящимся в яйце. Отрицательная хронотропная реакция на карбохол изолированных сердец этих цыплят была снижена по сравнению с сердцами контрольных цыплят, а плотность мускариновых рецепторов в гомогенате миокарда таких сердец была значительно меньше контрольной [48].

Подобно β -адренергическим рецепторам, плотность мускариновых рецепторов в миокарде может существенно изменяться в зависимости от состояния щитовидной железы. При ее удалении плотность рецепторов возрастает, а воздействие трийодтиронина приводит к умеренному уменьшению плотности мускариновых рецепторов [49]. Такое влияние щитовидной железы на мускариновые рецепторы в точности противоположно ее влиянию на β -адренергические рецепторы. Гипертиреозидизм увеличивает плотность β -адренергических рецепторов в миокарде, в то время как гипотиреозидизм ее уменьшает [11, 12]. Таким образом, тахикардия у животных с гипертиреозом и брадикардия у животных с гипотиреозом может отражать развитие противоположных изменений плотности рецепторов для нейромедиаторов обоих отделов вегетативной нервной системы.

Внутриклеточные эффекторы, сопряженные с мускариновыми холинергическими рецепторами

По сравнению с относительно подробными сведениями о субклеточных механизмах изменения работы сердца под действием β -агонистов субклеточные механизмы, обуславливающие холинергические эффекты, изучены значительно хуже. В этом разделе будут обсуждаться несколько возможных механизмов.

Ионные каналы. Электрофизиологические и инотропные эффекты активации мускариновых рецепторов в предсердиях млекопитающих связаны с увеличением выходящего тока, переносимого ионами K^+ [50, 51]. Такое увеличение выходящего калиевого тока приводит к более ранней реполяризации мембраны в ходе потенциала действия и поэтому укорачивает потенциал действия и уменьшает силу сокращения миокарда.

Считается, что снижение сократимости обусловлено последующим уменьшением I_{s1} [50]. Так как длительность потенциала действия уменьшается вследствие увеличения выходящих токов, укорачивается фаза плато потенциала действия, в течение которой через мембрану течет I_{s1} [50]. Пока еще не ясно, можно ли полностью объяснить отрицательный инотропный эффект в ответ на активацию мускариновых рецепторов за счет такого электрофизиологического механизма или же существуют какие-либо иные механизмы (будут обсуждаться далее в этой главе). Не известно также, существует ли прямое сопряжение мускариновых рецепторов с калиевыми каналами или же между активацией рецепторов и увеличением калиевого тока имеют место промежуточные стадии (например, изменение скорости оборота фосфолипидов, повышение уровня цГМФ).

В предсердиях млекопитающих влияние активации мускариновых рецепторов на ионные каналы, по-видимому, зависит от концентрации используемого агониста. При низкой концентрации ацетилхолина (достаточная для снижения силы сокращения на 30—40%) происходят именно те эффекты, связанные с изменением калиевых токов при активации мускариновых рецепторов, которые были описаны выше [50]. При такой концентрации ацетилхолина изменения I_{si} являются вторичными или «косвенными», т. е. возникают вследствие укорочения фазы плато. При более высокой концентрации ацетилхолина (достаточное для снижения силы сокращения на 70—90%) в экспериментах по фиксации потенциала наблюдалось также и прямое действие на I_{si} [50]. Таким образом, при высокой концентрации агонистов мускариновых рецепторов увеличиваются выходящие калиевые токи и, кроме того, уменьшается I_{si} . Можно ожидать, что такое двойственное влияние на ионные потоки приведет в результате к развитию значительного отрицательного инотропного эффекта. Как и в случае калиевых каналов, природа сопряжения между мускариновыми рецепторами и I_{si} -каналами остается неизвестной.

Влияние стимуляции мускариновых рецепторов на I_{si} отличается в разных тканях миокарда. Например, в предсердиях млекопитающих высокие концентрации ацетилхолина прямо уменьшают I_{si} [50]. Однако в миокарде желудочков млекопитающих активация мускариновых рецепторов даже при высокой концентрации агонистов, по-видимому, не оказывает прямого влияния на I_{si} .

Таким образом, один из хорошо установленных эффектов активации мускариновых рецепторов состоит в изменении свойств ионных каналов, расположенных в сарколемме кардиомиоцитов.

Цикло-ГМФ. При исследовании миокарда было впервые показано, что внутриклеточный уровень цГМФ может быть повышен путем активации мускариновых холинергических рецепторов. Эти данные об увеличении уровня цГМФ при стимуляции мускариновых рецепторов, исходно полученные на миокарде, были затем подтверждены и уточнены в ряде последующих исследований, в которых использовали сердца животных разных видов (рис. 24.8) (см. обзор Goldberg и Haddex [52]). Таким образом, не возникает сомнений, что в определенных условиях активация мускариновых рецепторов может привести к повышению уровня цГМФ в миокардиальной ткани (см. рис. 24.8), но играет ли такое повышение уровня цГМФ при стимуляции мускариновых рецепторов какую-либо физиологическую роль, остается неясным [52, 53]. Более того, неизвестны биохимические механизмы, посредством которых изменения тканевого уровня цГМФ могут влиять на работу сердца [52].

В первоначальных исследованиях, нацеленных на выяснение физиологической роли цГМФ, пытались обнаружить корреляцию между физиологическим параметром (например, сократимость) и тканевым уровнем цГМФ. В этих исследованиях изучали влияние на миокардиальные препараты ацетилхолина в разных концеп-

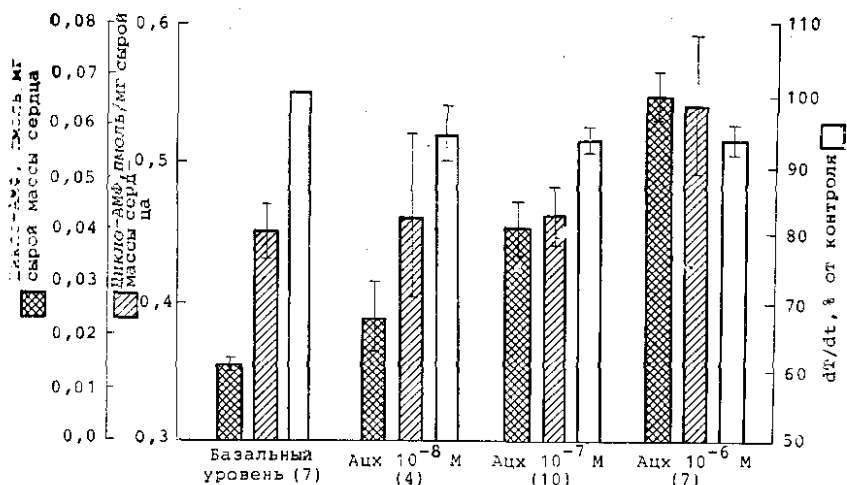


Рис. 24.8. Влияние ацетилхолина на уровни цГМФ и цАМФ в миокарде желудочка морской свинки.

Ацетилхолин добавляли в перфузионный раствор за 2 мин до замораживания сердца. Обратите внимание на рост уровня цГМФ при повышении концентрации ацетилхолина без изменения уровня цАМФ, за исключением концентрации 10^{-6} М. При такой высокой концентрации ацетилхолина (10^{-6} М) возможен выброс катехоламинов из нервных окончаний, что позволяет объяснить повышение уровня цАМФ. Обратите также внимание на отсутствие заметного отрицательного инотропного действия ацетилхолина.

трациях и при разной продолжительности воздействия, одновременно регистрировали механические или электрофизиологические реакции миокарда и измеряли уровень цГМФ. Хотя была обнаружена довольно хорошая корреляция между тканевым уровнем цГМФ и измеряемыми физиологическими параметрами, результаты этих исследований могут быть поставлены под сомнение в связи с тем, что не было проведено достаточно подробного анализа завимости реакции от концентрации [53].

Большое количество дополнительных данных в пользу важной роли цГМФ в развитии некоторых физиологических эффектов при активации мускариновых рецепторов было получено в исследованиях с использованием аналогов цГМФ для прямого увеличения внутриклеточной концентрации этого нуклеотида. Аналоги (например, дибутирил-цГМФ или 8-бромо-цГМФ) использовали потому, что они меньше подвержены деградации во время перфузии, а также потому, что они легче проникают через сарколемму, чем цГМФ. Предполагалось, что если эти вещества способны непосредственно повышать внутриклеточный уровень цГМФ и если они способны имитировать действие ацетилхолина, то это будет доказательством того, что цГМФ является передатчиком действия ацетилхолина. На аналогичной идее основывались исследования с использованием аналогов цАМФ, целью которых было выяснить роль этого нуклеотида в передаче действия гормонов или нейромедиаторов. При использовании аналогов любого

из циклических нуклеотидов необходимо очень осторожно интерпретировать результаты, так как развитие действия этих веществ во времени происходит медленнее, чем действие нейромедиаторов и так как необходимо использование их в относительно высоких концентрациях (учитывая очень низкие концентрации этих циклических нуклеотидов в кардиомиоцитах) для достижения ожидаемых физиологических эффектов.

Было показано, что с помощью аналогов цГМФ удастся воспроизвести некоторые электрофизиологические эффекты ацетилхолина. Дибутирил-цГМФ замедляет частоту спонтанных сокращений изолированных миокардиальных клеток крысы в культуре [54]. Дибутирил-цАМФ увеличивает частоту спонтанных сокращений [54]. Цикло-ГМФ, введенный непосредственно в клетки СП узла с помощью ионофореза, уменьшает наклон спонтанной диастолической деполяризации [55]. При введении тем же способом ацетилхолина никакого эффекта не наблюдается, вероятно, из-за того, что для развития эффекта эфиры холина должны взаимодействовать с мускариновыми рецепторами на внешней поверхности сарколеммы [55]. Подобно ацетилхолину, 8-бromo-цГМФ угнетал потенциалы действия типа медленного ответа [56], которые являются косвенной мерой I_{si} . Одновременно с таким угнетением медленного ответа наблюдался отрицательный инотропный эффект [56]. Влияние 8-бromo-цГМФ на форму потенциала действия и сократимость предсердия крысы напоминает эффект ацетилхолина [57]. В том же исследовании показано, что 8-бromo-цГМФ уменьшает поглощение Ca^{2+} сокращающимися препаратами предсердий, но не влияет на тканевое содержание K^+ [57]. Был сделан вывод, что цГМФ может служить медиатором эффектов активации мускариновых рецепторов на I_{si} , но не на калиевые каналы [57].

Аналоги цГМФ использовались также для оценки возможной роли цГМФ в антиадренергическом действии ацетилхолина. Дибутирил-цГМФ имитировал действие ацетилхолина и препятствовал развитию положительного инотропного действия катехоламинов на изолированные препараты миокарда [58]. Эти результаты были подтверждены в других лабораториях. Подобно ацетилхолину, dibuтирил-цГМФ ослабляет также положительное инотропное действие изопроterenоло на сердце, выделенное из гипертиреозной крысы [59]. Аналоги цГМФ также воспроизводят антагонистическое влияние ацетилхолина на электрофизиологические эффекты катехоламинов или цАМФ. Изопроterenол устраняет угнетение медленных ответов в предсердии морской свинки под действием 8-бromo-цГМФ [56]. Можно считать, что этот эффект является обратным ингибирующему действию цГМФ на потенцирование медленных ответов под действием изопроterenоло. С помощью аналогов цГМФ удастся воспроизвести также антагонистическое действие ацетилхолина на метаболические реакции миокарда в ответ на действие катехоламинов [59]. Сердце, выделенное у крыс с гипертиреозом, сильнее реагирует на действие β -агонистов в смысле метаболических эффектов, чем сердце жи-

нотного с нормальным состоянием щитовидной железы [59]. С помощью дибутрил-цАМФ удается воспроизвести эти эффекты ацетилхолина без понижения уровня цГМФ [59]. Таким образом было показано, что аналоги цГМФ способны имитировать антагонистическое действие ацетилхолина на электрофизиологические, инотропные и метаболические эффекты β -агонистов.

Однако остается неизвестным биохимический механизм развития ряда эффектов, наблюдающихся при стимуляции мускариновых рецепторов, который учитывал бы участие цГМФ в этом процессе. Одна из гипотез состоит в том, что, аналогично цАМФ-протеинкиназной системе, цГМФ реагирует со специфической протеинкиназой, которая в свою очередь фосфорилирует определенные субстраты для изменения работы белков. Такая цГМФ-зависимая протеинкиназа была обнаружена в ряде тканей, в том числе в миокарде [60]. Недавно был разработан метод оценки для изучения активности цГМФ-зависимой протеинкиназы миокарда [60]. Прежде всего с помощью этого метода было показано, что введение ацетилхолина в интактное сердце крысы увеличивает коэффициент активности цГМФ-зависимой протеинкиназы одновременно с повышением уровня цГМФ [60]. Обе эти биохимические реакции сопровождались отрицательным инотропным эффектом. Нитропруссид натрия также увеличивает внутриклеточную концентрацию цГМФ, причем значительно в большей степени, чем ацетилхолин. Однако нитропруссид натрия не увеличивает ни коэффициента активности цГМФ-зависимой протеинкиназы, ни силу сокращения миокарда [60]. На основании этих результатов можно сделать несколько выводов: а) полученные данные позволяют сформулировать возможный механизм изменения функции белков и физиологических свойств миокарда с участием цГМФ, концентрация которого изменяется в ответ на стимуляцию мускариновых рецепторов; б) эти данные свидетельствуют в пользу того, что цГМФ и его внутриклеточные эффекторы могут быть компарментализованы; в) данные показывают, насколько опасно использовать для повышения уровня цГМФ другие вещества вместо агонистов мускариновых рецепторов, а затем делать выводы о роли цГМФ, если эти вещества не воспроизводят эффекты ациринов холина.

Имеется большое количество данных, которые, как считается, показывают, что цГМФ не играет никакой роли в регуляции работы сердца [53]. В одном из исследований было показано отсутствие связи между инотропным эффектом и повышением уровня цГМФ при действии карбахола в низких концентрациях [61]. При таких концентрациях карбахол (0,03—1,0 мкМ) снижает сократимость миокарда, а уровень цГМФ повышается только при более высоких концентрациях карбахола (2 или 10 мкМ) [61]. Кроме того, при низких концентрациях карбахола реакции по-разному развиваются во времени. При действии карбахола в концентрации 0,3 мкМ сократимость миокарда уменьшается, в то время как уровень цГМФ не изменяется [61]. На основании этих данных был сделан вывод, что цГМФ не играет никакой роли в

регуляции сократительной активности предсердий. Однако возможна и другая интерпретация, что сократимость предсердий, изменяющаяся при действии агонистов мускариновых рецепторов, определяется несколькими факторами, а цГМФ оказывает влияние только на один из этих факторов. Методом фиксации потенциала было показано, что ацетилхолин в низких концентрациях увеличивает выходящие калиевые токи в предсердии млекопитающих, а при высоких концентрациях он не только увеличивает выходящие калиевые токи, но и уменьшает I_{si} [50]. Но даже в низких концентрациях, при которых изменяются лишь калиевые токи, ацетилхолин вызывает отрицательный инотропный эффект, вероятно, из-за того, что время протекания I_{si} укорачивается вследствие уменьшения длительности потенциала действия [50]. При высоких концентрациях отрицательный инотропный эффект выражен значительно сильнее, вероятно, из-за того, что происходит прямое угнетение I_{si} , и он протекает в течение более короткого времени вследствие укорочения потенциала действия. Таким образом, вполне возможно, что отрицательное инотропное действие агонистов мускариновых рецепторов при низких концентрациях развивается независимо от цГМФ, а при более высоких концентрациях запускается второй механизм (угнетение I_{si}), и именно в его работе принимает участие цГМФ. Такой вывод был бы совместим с результатами исследований, показавших, что цГМФ модулирует амплитуду I_{si} или медленных ответов [57].

Другой подход к проверке гипотезы участия цГМФ в регуляции работы сердца состоит в повышении уровня цГМФ с помощью веществ, которые не взаимодействуют с мускариновыми рецепторами. В таких исследованиях широко используется нитропруссид натрия, так как он эффективно повышает тканевый уровень цГМФ. Было показано, что нитропруссид натрия не воспроизводит электрофизиологических, метаболических, инотропных и антиадренергических эффектов ацетилхолина, несмотря на то, что он существенно повышает уровень цГМФ (см. обзор Linden и Brooker [53]). Однако из того, что нитропруссид натрия повышает уровень цГМФ в миокарде без каких-либо физиологических эффектов, вовсе не следует, что цГМФ не играет никакой роли в передаче эффектов ацетилхолина. Иммуногистохимическое исследование на миокарде [63] и других тканях [62] показало, что цГМФ может быть компартментализован внутри клетки и что агонисты мускариновых рецепторов и нитропруссид натрия влияют на концентрацию этого нуклеотида в различных компартментах. Полученные недавно данные о том, что ацетилхолин активирует цГМФ-зависимую протеинкиназу, а нитропруссид натрия — нет, являются дальнейшим подтверждением наличия различных компартментов или пулов цГМФ в клетках, каждый из которых контролируется отдельным механизмом и имеет различные внутриклеточные эффекторы [60]. Аналогичные данные были получены в пользу компартментализации цАМФ и наличия различных механизмов регуляции цАМФ в каждом из этих внутриклеточных пулов.

Наиболее убедительными данными против участия цГМФ в передаче физиологических эффектов являются наблюдения, состоящие в том, что в определенном диапазоне концентраций агонистов мускариновых рецепторов некоторые физиологические эффекты развиваются без изменения тканевого уровня цГМФ. Ацетилхолин подавляет автоматизм и уменьшает длительность потенциала действия предсердия морской свинки; эти изменения, по-видимому, происходят без всякой связи с тканевым уровнем цГМФ [64]. Агонисты мускариновых рецепторов препятствуют развитию положительных инотропных эффектов веществ, которые повышают уровень цАМФ (катехоламины, ингибиторы, фосфодиэстеразы, холерный токсин), не повышая уровня цГМФ [65]. Эти результаты можно интерпретировать как исключаящие всякое участие цГМФ в развитии электрофизиологических или антиадренергических эффектов агонистов мускариновых рецепторов. Однако следует учитывать следующие соображения: а) мускариновые рецепторы могут быть связаны с развитием множества разных реакций, из которых одна или несколько регулируется уровнем цГМФ (каждую из этих реакций необходимо тщательно исследовать, прежде чем слепо отвергать всякую физиологическую роль цГМФ); б) цГМФ может быть компартиментализован внутри клетки, и небольшие не выявляемые существующими методами изменения его уровня могут все же происходить в ходе эксперимента, но экспериментатор обнаружит отсутствие изменений концентрации нуклеотида.

Таким образом, имеется большое количество данных как за, так и против гипотезы о том, что цГМФ принимает участие в развитии некоторых эффектов, возникающих в миокарде при стимуляции мускариновых рецепторов. Ясно, что этот вопрос еще не решен. Необходимо провести дальнейшие исследования для окончательного выяснения роли этого циклического нуклеотида в регуляции работы сердца или для полного исключения его участия в этом процессе.

Уровень цГМФ регулируется двумя ферментами: гуанилатциклазой и цГМФ-фосфодиэстеразой [52]. Гуанилатциклаза присутствует в миокарде как в мембраносвязанной, так и в растворимой форме. Мембраносвязанный фермент располагается в сарколемме, т. е. там же, где и мускариновые рецепторы [66]. Регуляция обеих форм фермента в миокарде осуществляется с помощью различных механизмов: незаряженные детергенты стимулируют мембранную форму, не влияя на активность растворимой, в то время как нитропруссид натрия стимулирует только растворимую форму фермента [66]. Эти результаты, демонстрирующие существование двух форм фермента, связанной и растворимой, и различных механизмов их стимуляции, дополнительно подтверждают представление о наличии различных внутриклеточных пулов, концентрация цГМФ в которых может регулироваться различными веществами. Повышение уровня цГМФ под действием ацетилхолина происходит, вероятно, за счет стимуляции гуанилатциклазы. Как отмечено выше, мускариновые рецепторы и мем-

браносвязанная гуанилатциклаза располагаются в сарколемме. Однако, за исключением редких случаев, исследователям не удалось продемонстрировать влияние мускариновых агонистов на активность гуанилатциклазы препаратов, полученных из гомогената клеток [52]. В интактных тканях для повышения уровня цГМФ при стимуляции мускариновых рецепторов необходимы ионы Ca^{2+} . Повышение уровня цГМФ в миокарде желудочков сердца морской свинки под действием кальциевого ионофора А23187, по-видимому, является результатом увеличения концентрации Ca^{2+} в определенных критических участках внутри кардиомиоцитов [67]. Было показано, что ионы Ca^{2+} повышают активность мембраносвязанной гуанилатциклазы [67]. На основании этих результатов было выдвинуто предположение, что ионы Ca^{2+} могут некоторым образом функционировать в качестве медиатора, передающего сигнал мускариновых рецепторов к гуанилатциклазе. Однако этот вывод необходимо еще доказать. В других исследованиях было показано, что ионы Ca^{2+} ингибируют гуанилатциклазу [52]. Физиологическая реакция миокарда на стимуляцию мускариновых рецепторов состоит либо в отсутствии инотропного эффекта, либо в снижении сократительной способности, несмотря на то что для повышения уровня цГМФ при стимуляции мускариновых рецепторов необходимы ионы Ca^{2+} [58]. Развитие таких механических эффектов говорит о том, что агонисты мускариновых рецепторов не вызывают повышения концентрации Ca^{2+} во всей клетке. Если активация мускариновых рецепторов все же приводит к мобилизации Ca^{2+} , то это может происходить в дискретных внутриклеточных пулах (вероятно, около гуанилатциклазы), так как при этом отсутствует влияние на сократительные белки и другие внутриклеточные ферменты (например, на киназу фосфорилазы).

Клеточные (постсинаптические) механизмы модуляции адренергических эффектов при стимуляции мускариновых рецепторов. На препаратах миокарда млекопитающих различных видов было ясно показано, что эфирные масла противодействуют развитию положительных инотропных эффектов, вызываемых β -агонистами [58, 59] (рис. 24.9). В большинстве таких работ на изолированных препаратах наблюдали значительное и легко выявляемое отрицательное инотропное действие мускариновых агонистов на миокард предсердий [69], а при использовании миокарда желудочков инотропный эффект мускариновых агонистов был мал или вовсе отсутствовал [58]. Антагонистическое действие активации мускариновых рецепторов на положительный инотропный эффект, вызываемый катехоламинами, наблюдался как в предсердиях, так и в желудочках. Таким образом, в предсердной ткани агонисты мускариновых рецепторов вызывают отрицательный инотропный эффект, по-видимому, за счет прямого действия и путем противодействия развитию эффектов агонистов β -рецепторов. В желудочках же основным эффектом стимуляции мускариновых рецепторов, по-видимому, является ингибирование инотропных эффектов β -агонистов.

Рис. 24.9. Влияние ацетилхолина (10^{-7} М) на положительный инотропный эффект изопротеренола, развивающийся в изолированных перфузируемых желудочках сердца морской свинки.

Регистрацию силы сокращения осуществляли при достижении установившегося уровня после 2 мин непрерывной перфузии раствором, содержащим исследуемое вещество. Обратите внимание, что ацетилхолин существенно угнетает положительную инотропную реакцию миокарда на изопротеренол. Величины представлены в следующем виде: среднее \pm стандартная ошибка среднего для 7–15 сердец. (Займствовано из работы [58].)

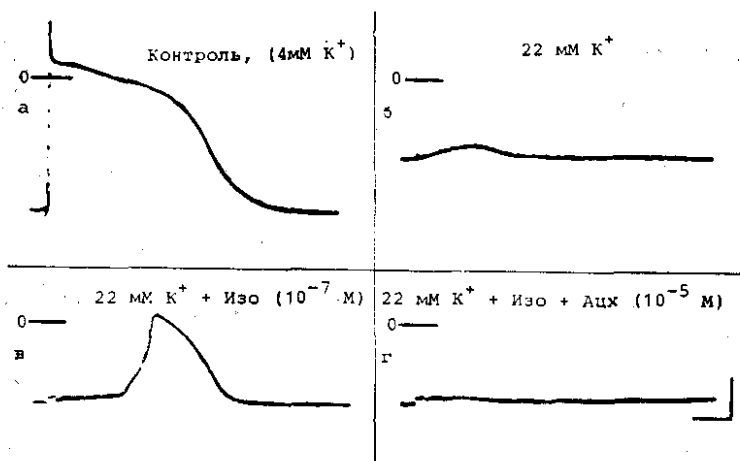
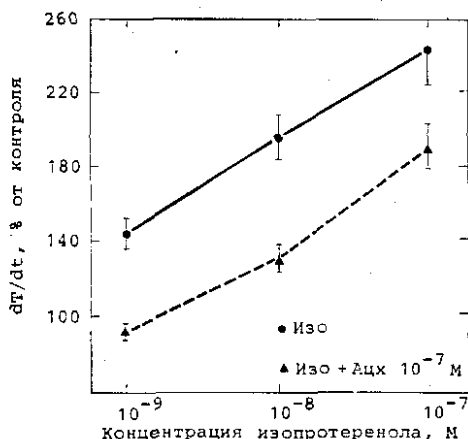


Рис. 24.10. Влияние ацетилхолина на потенцируемый изопротеренолом медленный ответ.

(а) Контрольный потенциал действия в волокнах Пуркинье при уровне калия 4 мМ. (б) Общая деполяризация и потеря возбудимости, вызванные перфузией сердца раствором Тироде, содержащим 22 мМ калия. (в) Восстановление возбудимости при добавлении изопротеренола в концентрации 10^{-7} М. (г) Подавление ацетилхолина (10^{-5} М) подавляет медленный ответ, потенцируемый изопротеренолом. На каждой регистрации указан нулевой потенциал. Калибровки: по горизонтали — 50 мс, по вертикали — 25 мВ. (Займствовано из работы [70].)

В изолированных препаратах миокарда мускариновые агонисты угнетают также электрофизиологические эффекты катехоламинов. Эфиры холина ослабляют положительное хронотропное действие катехоламинов на препараты изолированного миокарда предсердий, вероятно, за счет противодействия увеличению скорости фазы 4 спонтанной деполяризации, вызываемому катехоламинами. Мускариновые агонисты угнетают электрофизиологические эффекты, наблюдаемые при действии катехоламинов в изолированных волокнах Пуркинье или миокарде желудочков.



Рис. 24.11. Антагонистическое действие активации мускариновых рецепторов на стимуляцию активности фосфорилазы гликогена под действием изопротеренала в изолированном перфузируемом сердце крысы с гипертиреозом.

Фоновый коэффициент активности фосфорилазы равен 8%. Величины представлены в следующем виде: среднее \pm стандартная ошибка среднего для 6–8 сердец.

Ацетилхолин ингибирует вызываемое изопротеренолом укорочение потенциала действия волокон Пуркинье с нормальным потенциалом покоя в условиях искусственной стимуляции. Кроме того, ацетилхолин подавляет медленные ответы в волокнах Пуркинье или папиллярной мышце сердца морской свинки, вызываемые изопротеренолом (рис. 24.10) [70].

Активация мускариновых рецепторов также влияет на метаболические эффекты, развивающиеся в миокарде под действием стимуляции β -адренергических рецепторов. Ацетилхолин полностью устраняет вызываемое адреналином ускорение гликогенолиза в изолированном перфузируемом сердце морской свинки. Дальнейшие исследования показали, что это обусловлено угнетением β -адренергической активации гликогенфосфорилазы при стимуляции мускариновых рецепторов [59, 71] (рис. 24.11).

Таким образом, на изолированных препаратах миокарда получено большое количество данных в пользу существования внутриклеточного взаимодействия между активацией β -адренергических и мускариновых рецепторов. В изолированном миокарде желудочков основным механизмом влияния парасимпатической нервной системы, по-видимому, является модуляция симпатических эффектов. Сами по себе эфиры холина слабо или вовсе не влияют на механические, электрофизиологические или метаболические характеристики изолированного миокарда желудочков. Лишь после развития соответствующих физиологических или метаболических реакций при стимуляции β -адренергических рецепторов мож-

но выявить эффекты, опосредованные активацией мускариновых холинергических рецепторов. В этом случае мускариновые агонисты оказывают мощное антагонистическое воздействие на изменение этих характеристик под действием β -агонистов. Механизмы внутриклеточного взаимодействия между симпатической и парасимпатической системами будут обсуждаться в следующем разделе.

Холинергическое ингибирование аденилатциклазы. Ряду исследователей при использовании различных типов препаратов миокарда животных различных видов удалось показать, что мускариновые агонисты способны ослаблять вызванное β -агонистами стабильное увеличение тканевого уровня цАМФ [59, 69, 71]. При регистрации физиологических или метаболических реакций такое угнетение образования цАМФ развивается параллельно ингибированию реакции миокарда на катехоламины. Мускариновые агонисты ингибируют вызванное катехоламинами повышение уровня цАМФ, что сопровождается ослаблением положительного инотропного эффекта [59, 69]. Ингибируя образование цАМФ, мускариновые агонисты также противодействуют активации фосфоорилазы, вызываемой катехоламинами [71]. Эти результаты согласуются с представлением о том, что ингибирование образования цАМФ под действием агонистов мускариновых рецепторов играет важную роль в регуляции физиологических и метаболических процессов в миокардиальных клетках и что угнетение образования цАМФ может вносить определенный вклад в механизм антиадренергического действия агонистов мускариновых рецепторов.

Механизм угнетения процесса образования цАМФ, стимулируемого катехоламинами, под действием мускариновых агонистов включает в себя ингибирование активности аденилатциклазы. Более двадцати лет назад, еще до получения подробных сведений о механизмах регуляции активности аденилатциклазы, было впервые показано, что агонисты мускариновых рецепторов ингибируют активность аденилатциклазы в грубом гомогенате миокарда собаки [72]. Добавление к такому препарату карбахола вызывает ингибирование как базальной активности аденилатциклазы, так и активности, повышение которой произошло в результате действия адреналина [72]. Эти результаты были подтверждены в аналогичных экспериментах, в которых использовали грубый гомогенат миокарда кролика [73]. Как было отмечено ранее, активность аденилатциклазы в очищенных препаратах мембран миокардиальных клеток не повышается при действии гормонов, если к препарату не добавлены экзогенные гуаниннуклеотиды (см. рис. 24.5). Добавление в среду реакции экзогенных гуанилнуклеотидов вызывает прямую стимуляцию фермента, а также усиливает его стимуляцию под действием гормонов (см. рис. 24.5) [20]. Таким образом, гуаниннуклеотиды способны непосредственно стимулировать аденилатциклазу кардиомиоцитов, а также необходимы для активации фермента гормонами. В очищенных препаратах сарколеммы агонисты мускариновых рецепторов не влия-

ют на базальную активность аденилатциклазы, т. е. на ее активность в отсутствие экзогенных гуаниннуклеотидов [20]. Если к такому препарату добавить ГТФ, то мускариновые агонисты будут ингибировать активность аденилатциклазы (см. рис. 24.5 а). Это справедливо и для случая, когда добавляют только ГТФ и когда ГТФ добавляют вместе с катехоламинами (см. рис. 22.5 а). В ранних исследованиях [72, 73] мембранные препараты, скорее всего, содержали эндогенный ГТФ, так как использовали грубый гомогенат ткани. Поэтому в этих ранних исследованиях влияние стимуляции мускариновых рецепторов на активность аденилатциклазы также, вероятно, зависело от ГТФ. Такая зависимость ингибирующего действия мускариновых агонистов от ГТФ является специфической для гуаниннуклеотидов. Активность аденилатциклазы миокардиальных клеток повышается также при добавлении Gpp(NH)p, негидролизуемого аналога ГТФ (рис. 24.5 б). Однако мускариновые агонисты не оказывают никакого влияния на активность фермента в присутствии этого нуклеотида [20] (рис. 24.5 б). Аналогичным образом мускариновые агонисты не влияют на стимуляцию активности аденилатциклазы под действием NaF [20]. Эффект мускариновых агонистов блокируется атропином [20]. Был сделан вывод, что взаимодействие как мускариновых, так и β -адренергических рецепторов с аденилатциклазой регулируется обычно присутствующим в клетках гуаниннуклеотидом-ГТФ. Результаты этих исследований были подтверждены в дальнейших работах. На основании этих результатов и данных, показывающих существование регуляции сродства мускариновых рецепторов к агонистам под действием гуаниннуклеотидов [45, 46], было бы разумно выдвинуть гипотезу, что N-белок, с которым взаимодействует ГТФ, принимает участие в «сопряжении» мускариновых рецепторов с аденилатциклазой и передает их ингибирующее воздействие (см. рис. 24.4). Однако не известно, тот же ли это самый N_s -белок, который сопрягает стимулирующие β -рецепторы с ферментом, или же мускариновые рецепторы сопрягаются с другим, гипотетическим N_i -белком (см. рис. 24.4). Неизвестен также биохимический механизм, который обуславливает снижение эффективности ГТФ при активации мускариновых рецепторов. Так как такого ингибирования не наблюдается, когда в качестве гуаниннуклеотида добавляют негидролизуемый аналог ГТФ—Gpp(NH)p, это позволяет предположить, что мускариновые агонисты повышают активность ГТФазы, связанной с аденилатциклазой. В другой экспериментальной системе было показано, что мускариновые агонисты способны активировать ГТФазу, связанную с аденилатциклазой [74]. Наличие такого же механизма в сарколемме миокардиальных клеток было показано в исследованиях, где косвенными методами оценивали активность ГТФазы [75]. Тем не менее возможны и другие механизмы, кроме предложенных выше. Поэтому еще предстоит установить специфические характеристики биохимического и молекулярного механизмов, обуславливающих ингибирование аденилатциклазы при активации мускариновых рецепторов. Но уже сейчас ясно, что мус-

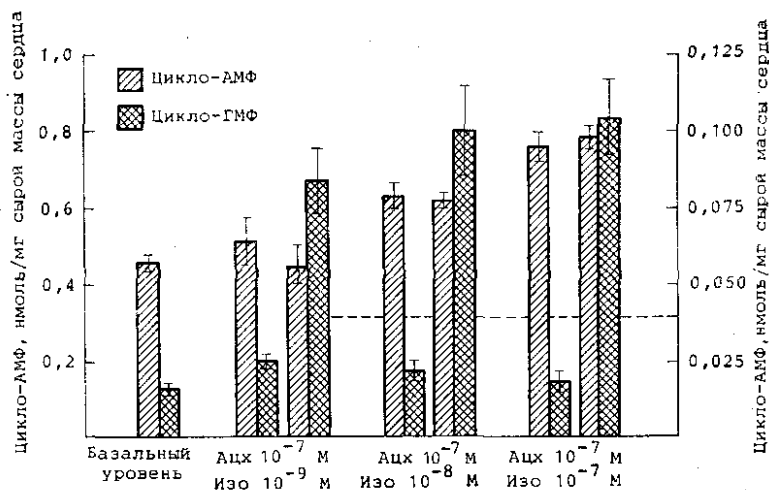


Рис. 24.12. Уровень циклических нуклеотидов в миокарде в контроле, при действии изопроterenола и при одновременном действии изопроterenола и ацетилхолина.

Перфузия в течение 2 мин. Величины представлены в следующем виде: среднее \pm стандартная ошибка среднего для 7–16 сердец. Горизонтальная пунктирная линия отмечает средний уровень цГМФ в сердце при действии одного ацетилхолина в концентрации 10^{-7} М в течение 2 мин. (Займствовано из работы [58].)

кариновые агонисты способны снижать тканевый уровень цАМФ путем угнетения стимуляции аденилатциклазы катехоламинами.

Холинергическое влияние на эффекты цАМФ, не зависящее от изменений уровня цАМФ. Угнетение стимуляции образования цАМФ, вызванной катехоламинами, при активации мускариновых рецепторов не способно полностью объяснить антагонистическое влияние мускариновых агонистов на эффекты, вызываемые в миокарде под действием β -агонистов. В определенных условиях мускариновые агонисты способны сильно ингибировать физиологические и метаболические эффекты катехоламинов без изменения уровня цАМФ. Ацетилхолин заметно угнетает положительный инотропный эффект, вызываемый изопроterenолом в изолированных перфузируемых желудочках сердца морской свинки [58] (см. рис. 24.9). Уровень цГМФ в таком сердце при действии ацетилхолина заметно возрастает (рис. 24.12). Однако уровень цАМФ в сердце при одновременном действии ацетилхолина и изопроterenола несущественно отличается от того, который наблюдается при действии одного изопроterenола [58] (см. рис. 24.12). Впоследствии эти результаты были подтверждены другими исследователями. Было показано, что либо мускариновые агонисты угнетают физиологические или метаболические реакции на катехоламины непропорционально сильнее, чем снижается уровень цАМФ, либо ингибирование физиологической реакции происходит вообще без изменения уровня цАМФ. Дополнительное подтверждение существования механиз-

ма антагонистического влияния мускариновых агонистов на эффекты катехоламинов, который основывается не на снижении уровня цАМФ, было получено в исследованиях, где уровень цАМФ повышали независимо от стимуляции β -рецепторов. Много лет назад было обнаружено, что ацетилхолин блокирует развитие положительного инотропного эффекта как адреналина, так и теофиллина в изолированном сердце черепахи [76]. И хотя при этом не измеряли уровень цАМФ, был сделан вполне разумный вывод, что положительный инотропный эффект как адреналина, так и теофиллина был обусловлен, по крайней мере частично, повышением уровня цАМФ [76]. Впоследствии несколько групп исследователей использовали ингибиторы фосфодиэстеразы для повышения уровня цАМФ и получения положительного инотропного эффекта и на их фоне изучали влияние мускариновых агонистов на эти параметры. Метилизобутилксантин (МИКС) повышал уровень цАМФ, усиливал Ca^{2+} -зависимые потенциалы действия и увеличивал силу сокращения желудочков сердца дышленка [77]. Ацетилхолин (10^{-6} М) устранял увеличение силы сокращения, вызываемое МИКС, не снижая тканевого уровня цАМФ [77]. В изолированном левом предсердии крысы метахолин угнетал положительный инотропный эффект МИКС, не влияя на уровень цАМФ [69]. Уровень цАМФ в миокардиальных клетках может быть также повышен при воздействии на интактную ткань холерного токсина [65]. Предполагаемый механизм состоит в том, что холерный токсин ингибирует ГТФазу, связанную с аденилатциклазой. Таким образом, повышается концентрация ГТФ, способного взаимодействовать с N-белком, и поэтому происходит активация аденилатциклазы. Холерный токсин повышает уровень цАМФ [65] и увеличивает силу сокращения [65] препарата интактного миокарда. Мускариновые агонисты ингибируют положительный инотропный эффект холерного токсина без понижения уровня цАМФ [65]. Таким образом, эти результаты дополнительно свидетельствуют в пользу того, что мускариновые агонисты способны оказывать антагонистическое действие на эффекты повышения цАМФ в миокардиальной клетке.

В принципе могут существовать еще несколько мест, не считая изменения концентрации цАМФ, где может происходить влияние мускариновых агонистов на внутриклеточные эффекты этого циклического нуклеотида (см. рис. 24.4). Одним из них является процесс активации цАМФ-зависимой протеинкиназы. Однако этот механизм полностью не изучен. В исследованиях, где изучали связь между уровнем цАМФ и активацией цАМФ-зависимой протеинкиназы, не удалось выявить какое-либо влияние ацетилхолина на эту связь. Показано, что цАМФ-зависимая протеинкиназа активируется пропорционально уровню цАМФ, независимо от того, присутствуют ли мускариновые агонисты или отсутствуют. Таким образом, мускариновые агонисты, по-видимому, не влияют на зависимость от цАМФ активацию протеинкиназы.

Другим потенциальным местом, где мускариновые агонисты могут оказывать влияние на внутриклеточные эффекты цАМФ,

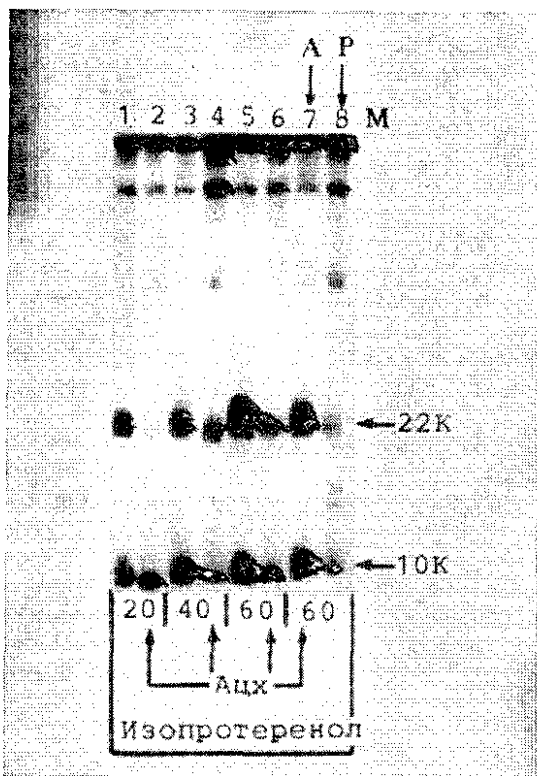


Рис. 24.13. Авторадиограмма белков желудочка сердца морской свинки, перфузируемого раствором, содержащим ^{32}P и изопроterenол (10^{-8} M) или изопроterenол и ацетилхолин (10^{-7} M) в течение 20, 40 и 60 с.

После перфузии в течение соответствующего времени, желудочки быстро замораживали (использовали щипцы, охлажденные в жидком азоте) и из них выделяли препараты сарколеммы. Везикулы сарколеммы подвергали геле-электрофорезу, в результате которого получали показанную здесь авторадиограмму. Перфузию ацетилхолином проводили одновременно с изопроterenолом в течение того же промежутка времени. Сердца в колонках 1, 3 и 5 подвергались действию изопроterenола в сочетании с ацетилхолином. В колонку 7 кроме изопроterenола и ацетилхолина добавляли атропин, а в колонку 8 — пропранолол в дополнении к изопроterenолу. Обратите внимание, что изопроterenол вызывает включения ^{32}P в белки с относительной молекулярной массой 22 000 и 8000—11 000, которые возрастают при увеличении продолжительности перфузии (колонки 1, 3 и 5). Пропранолол угнетает этот эффект изопроterenола (колонка 8). Ацетилхолин явно ослабляет вызванное изопроterenолом повышение включения ^{32}P в белки мембран (колонки 2, 4 и 6). Атропин подавляет действие ацетилхолина (колонка 7). (Займствовано из работы [78].)

является уровень фосфорилирования белков, которые, как считается, являются медиаторами эффектов гормонов или лекарственных препаратов, повышающих концентрацию цАМФ. Так как показано, что тропонин-I и фосфоламбан фосфорилируются в интактном миокарде под действием катехоламинов, оба эти белка являются подходящими кандидатами для изучения влияния мускариновых агонистов на фосфорилирование белков. В предварительных исследованиях было показано, что ацетилхолин угнетает фосфорилирование тропонина-I, вызванное адреналином [23].

Кроме того, ацетилхолин существенно угнетает повышение включения ^{32}P в фосфоламбан, вызываемое изопротеренолом, и одновременно угнетает положительный инотропный эффект этого катехоламина [78] (рис. 24.13). Таким образом, агонисты мускариновых рецепторов являются мощными антагонистами вызванного катехоламинами фосфорилирования белков кардиомиоцитов, которое может принимать участие в развитии положительного инотропного действия катехоламинов. Однако все еще не известно, можно ли такое угнетение фосфорилирования белков полностью объяснить уменьшением уровня цАМФ, а значит и активности протеинкиназы, под действием мускариновых агонистов. Если принять во внимание вышеупомянутые ранние исследования, то это кажется маловероятным. Скорее уровень цАМФ может быть до некоторой степени снижен, и это частично объясняет угнетение фосфорилирования, но для полного объяснения наблюдаемого ингибирования включения ^{32}P в состав белков необходимо существование некоторых дополнительных механизмов. Довольно разумной гипотезой будет предположение о том, что мускариновые агонисты некоторым образом активируют фосфоорилазу белков (см. рис. 24.4). Однако в настоящее время нет никаких данных, которые бы имели прямое отношение к этому вопросу.

Таким образом, агонисты мускариновых рецепторов, по-видимому, на нескольких уровнях влияют на последовательность реакций, превращающих сигнал стимуляции β -рецепторов во внутриклеточные эффекты. Они могут ингибировать активность аденилатциклазы, каким-то образом снижая эффективность стимулирующего влияния ГТФ. Кроме того, они, по-видимому, способны влиять на внутриклеточные эффекты цАМФ. Механизмы последнего явления еще не изучены.

ВЫВОДЫ

Катехоламины влияют на работу сердца, взаимодействуя с β - и α -адренергическими рецепторами на поверхности миокардиальных клеток. Внутриклеточные эффекты стимуляции β -адренергических рецепторов обусловлены, по крайней мере частично, повышением цАМФ и увеличением активности цАМФ-зависимой протеинкиназы. Это в конце концов приводит к фосфорилированию белков кардиомиоцита, катализируемому цАМФ-зависимой протеинкиназой, что в свою очередь ведет к изменению работы этих белков и, таким образом, к изменению потоков Ca^{2+} и связывания Ca^{2+} с клеточными структурами, ответственными за регуляцию сократимости миокарда. Выявлено несколько белковых субстратов цАМФ-зависимой протеинкиназы, которые принимают участие в регуляции работы миофибриллярных сократительных белков ионами Ca^{2+} или в управлении движения Ca^{2+} через мембраны, и показано, что при действии катехоламинов эти белки фосфорилируются в интактном сердце. Хотя кажется правдоподобным, что фосфорилирование одного или нескольких из этих белков принимает участие в развитии клеточных эффектов

цАМФ, необходимо провести дополнительные исследования, чтобы окончательно доказать эту гипотезу и определить биохимические механизмы этих эффектов во всех подробностях. Кроме того, в развитии этих эффектов могут принимать участие и другие еще не идентифицированные белки. Возможно, что стимуляция β -адренергических рецепторов непосредственно влияет на перемещение и связывание Ca^{2+} внутри клеток независимо от изменений уровня цАМФ и активности цАМФ-зависимой протеинкиназы. Однако нет никаких убедительных данных в пользу существования такого механизма.

α -Агонисты увеличивают сократимость миокарда животных некоторых видов путем активации миокардиальных α -адренергических рецепторов. Внутриклеточные механизмы изменения работы миокардиальных клеток под действием α -агонистов неизвестны. Определенную роль должно играть в этом случае изменение потоков и связывания Ca^{2+} в миоцитах, но как это происходит, пока не известно. Известно только, что система цАМФ-зависимой протеинкиназы не участвует в развитии α -адренергических эффектов в миокарде.

Клеточные механизмы влияния мускариновых агонистов на работу миокардиальных клеток также изучены хуже, чем механизмы развития β -адренергических эффектов. Активация мускариновых рецепторов предсердий вызывает увеличение потока ионов K^+ . Однако неизвестен механизм «сопряжения» мускариновых рецепторов с калиевыми каналами. При действии мускариновых агонистов может повышаться уровень цАМФ, но участие этого нуклеотида в регуляции работы миокардиальных клеток остается спорным вопросом. Хорошо известен механизм изменения работы миокарда под действием мускариновых агонистов, заключающийся во влиянии активации мускариновых рецепторов на клеточные эффекты β -агонистов. Это достигается за счет холинергического ингибирования стимулирующего действия катехоламинов на аденилатциклазу и уменьшения под действием мускариновых агонистов уровня фосфорилирования белков. Однако детали обоих механизмов действия мускариновых агонистов еще предстоит выяснить.

Таким образом, имеется большое количество данных относительно клеточных и субклеточных механизмов влияния нейромедиаторов вегетативной нервной системы на работу миокардиальных клеток, но еще много нужно установить и выяснить более детально. Дальнейшие исследования в этой области обещают быть плодотворными.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Levy M. N., Martin P. J.* Neural control of the heart, — In: Handbook of physiology — the cardiovascular system. 1. Bethesda MD: American Physiological Society, 1979, p. 581—620.
2. *Maguire M. E., Ross E. M., Gilman A. G.* Beta-adrenergic receptor; ligand binding properties and the interaction with adenylyl cyclase. — Adv. Cyclic Nucleotide Res., 1977, vol. 8, p. 1—83.

3. *Hoffman B. B., Lefkowitz R. J.* Radioligand binding studies of adrenergic receptors: new insights into molecular and physiological regulation. — *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1980, vol. 20, p. 581—608.
4. *Levitzki A.* Catecholamine receptors. — In: *Receptors and recognition*/Ed. P. Cuatrecasas, M. F. Greaves. London: Champ and Hall, 1976, p. 199—229.
5. *Davies A. O., Lefkowitz R. J.* Regulation of adrenergic receptors. — In: *Receptor regulation*/Ed. R. J. Lefkowitz. London: Chapman and Hall, 1981, p. 83—121.
6. *Minneman K. P.* Adrenergic receptor molecules. — In: *Neurotransmitter receptors*, part 2. London: Chapman and Hall, 1981, p. 185—268.
7. *Watanabe A. M., Jones L. R., Manalan A. S., Besch H. R. Jr.* Cardiac autonomic receptors: recent concepts from radiolabelled ligand binding studies. — *Circ. Res.*, 1982, vol. 50, p. 161—174.
8. *Jones L. R., Besch H. R. Jr., Fleming J. W., McConnaughy M. M., Watanabe A. M.* Separation of vesicles of cardiac sarcolemma from vesicles of cardiac sarcoplasmic reticulum. — *J. Biol. Chem.*, 1979, vol. 254, p. 530—539.
9. *Manalan A. S., Jones L. R.* Characterization of the intrinsic cAMP-dependent protein kinase activity and endogenous substrates in highly purified cardiac sarcolemmal vesicles. — *J. Biol. Chem.*, 1982, vol. 257, p. 10052—10062.
10. *Fraser J., Nadeau J., Robertson D., Wood A. J. J.* Regulation of human leukocyte beta receptors by endogenous catecholamines: relationship of leukocyte beta receptor density to the cardiac sensitivity to isoproterenol. — *J. Clin. Invest.*, 1981, vol. 67, p. 1777—1784.
11. *McConnaughy M. M., Jones L. R., Watanabe A. M., Besch H. R. Jr., Williams L. T., Lefkowitz R. J.* Thyroxine and propylthiouracil effects on alpha- and beta-adrenergic receptor number, ATPase activities, and sialic acid content of rat cardiac membrane vesicles. — *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1979, vol. 1, p. 609—623.
12. *Williams L. T., Lefkowitz R. J., Watanabe A. M., Hathway D. R., Besch H. R. Jr.* Thyroid hormone regulation of beta-adrenergic receptor number. — *J. Biol. Chem.*, 1977, vol. 252, p. 2767—2769.
13. *Ginsberg A. M., Clatter W. E., Shah S. D., Cruer P. E.* Triiodothyronine-induced thyrotoxicosis increases mononuclear leukocyte beta-adrenergic receptor density in man. — *J. Clin. Invest.*, 1981, vol. 67, p. 1785—1791.
14. *Osnes J., Rejsum H., Skomedal T., Oye I.* Qualitative differences between beta-adrenergic and alpha-adrenergic effects on rat heart muscle. — *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 1978, vol. 42, p. 235—247.
15. *Besch H. R. Jr., Jones L. R., Fleming J. W., Watanabe A. M.* Parallel unmasking of latent Na^+ , K^+ -ATPase and adenylylase activities in cardiac sarcolemmal vesicles: a new use of the channel-forming ionophore alamethisin. — *J. Biol. Chem.*, 1977, vol. 252, p. 7905—7908.
16. *Ross E. M., Gilman A. F.* Biochemical properties of hormone-sensitive adenylylase cyclase. — *Annu. Rev. Biochem.*, 1980, vol. 49, p. 533—564.
17. *Seamon K. B., Daly J. W.* Guanosine 5'-(beta, gamma-imido) triphosphate inhibition of forskolin-activated adenylylase cyclase is mediated by the putative inhibitory guanine nucleotide regulatory protein. — *J. Biol. Chem.*, 1982, vol. 257, p. 11591—11596.
18. *Smith S. K., Limbird L. L.* Evidence that human platelet alpha-adrenergic receptors coupled to inhibition of adenylylase cyclase are not associated with the subunit of adenylylase cyclase ADP-ribosylated by cholera toxin. — *J. Biol. Chem.*, 1982, vol. 257, p. 10471—10478.
19. *Hildebrandt J. D., Hanoune J., Birnbaumer L.* Guanine nucleotide inhibition of cys-S49 mouse lymphoma cell membrane adenylylase cyclase. — *J. Biol. Chem.*, 1982, vol. 257, p. 14723—14725.
20. *Watanabe A. M., McConnaughy M. M., Strawbridge R. A., Fleming J. W., Jones L. R., Besch H. R. Jr.* Muscarinic cholinergic receptor modulation of beta-adrenergic receptor affinity for catecholamines. — *J. Biol. Chem.*, 1978, vol. 253, p. 4833—4836.

21. *Krebs E. G., Beavo J. A.* Phosphorylation-dephosphorylation enzymes. — *Annu. Rev. Biochem.*, 1979, vol. 48, p. 923—959.
22. *Stall J. T., Mayer S. E.* Biochemical mechanisms of adrenergic and cholinergic regulation of myocardial contractility. — In: *Handbook of physiology: the cardiovascular system*. Bethesda, MD: American Physiological Society, 1979, p. 741—774.
23. *England P. J.* Studies on the phosphorylation of the inhibitory subunit of troponin during modification of contraction in perfused rat heart. — *Biochem. J.*, 1976, vol. 160, p. 295—304.
24. *Rubio R., Bailey C., Villar-Pilasi C.* Effects of cyclic AMP dependent protein kinase on cardiac actomyosin: increase in Ca^{2+} sensitivity and possible phosphorylation of TN-I. — *J. Cyclic. Nucleotide Res.*, 1975, vol. 1, p. 143—150.
25. *Reddy Y. S., Wyborny L. E.* Phosphorylation of guinea pig cardiac natural actomyosin and its effect on ATPase activity. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1976, vol. 83, p. 703—709.
26. *Ray K. P., England P. J.* Phosphorylation of the inhibitory subunit of troponin and its effect on the calcium dependence of cardiac myofibril adenosine triphosphatase. — *FEBS Lett.*, 1976, vol. 70, p. 11—16.
27. *Lebowitz E. A., Thibault L. E., Adelstein R. S.* Phosphorylation of cat myocardial myosin and M-line protein enhancement by norepinephrine. — *Circulation*, 1976, vol. 54, p. 113.
28. *Frearson N., Soltato R. J., Perry S. V.* Changes in phosphorylation of P light chain of myosin in perfused rabbit heart. — *Nature*, 1976, vol. 264, p. 801—802.
29. *High C. W., Stall J. T.* Phosphorylation of myosin in perfused rabbit and rat hearts. — *Am. J. Physiol.*, 1980, vol. 239, p. H756—H764.
30. *Korchberger M. A., Tada M., Katz A. M.* Adenosine 3', 5'-monophosphate-dependent protein kinase-catalyzed phosphorylation reaction and its relationship to calcium transport in cardiac sarcoplasmic reticulum. — *J. Biol. Chem.*, 1974, vol. 249, p. 6166—6173.
31. *Tada M., Katz A. M.* Phosphorylation of the sarcoplasmic reticulum and sarcolemma. — *Annu. Rev. Physiol.*, 1982, vol. 44, p. 401—423.
32. *Lamers J. M. J., Stinis J. T.* Phosphorylation of low molecular weight proteins in purified preparations of rat heart sarcolemma and sarcoplasmic reticulum. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1980, vol. 624, p. 443—459.
33. *LePeuch C. J., Guilleax J. C., De Maille J. C.* Phospholamban phosphorylation in the perfused rat heart is not solely dependent on beta adrenergic stimulation. — *FEBS Lett.*, 1980, vol. 114, p. 165—168.
34. *Kranias E. G., Solaro R. J.* Phosphorylation of troponin I and phospholamban during catecholamine stimulation of rabbit heart. — *Nature*, 1982, vol. 298, p. 182—184.
35. *Lindemann J. P., Jones L. R., Hathway D. R., Henry B. G., Watanabe A. M.* Beta-adrenergic stimulation of phospholamban phosphorylation and Ca^{2+} -ATPase activity in guinea pig ventricles. — *J. Biol. Chem.*, 1983, vol. 258, p. 464—471.
36. *Mirro M. J., Bailey J. C., Watanabe A. M.* Role of cyclic AMP in regulation of the slow inward current. — In: *Role of the slow inward current in cardiac electrophysiology*. The Hague: Martinus Nijhoff, 1980, p. 111—126.
37. *Watanabe A. M., Besch H. H. Jr.* Cyclic adenosine monophosphate modulation of slow calcium influx channels in guinea pig hearts. — *Circ. Res.*, 1974, vol. 35, p. 316—324.
38. *Sperelakis N., Schneider J. A.* A metabolic control mechanism for calcium ion influx that may protect the ventricular myocardial cell. — *Am. J. Cardiol.*, 1976, vol. 37, p. 1079—1085.
39. *Reuter H., Scholz H.* The regulation of the Ca conductance of cardiac muscle by adrenaline. — *J. Physiol. (Lond.)*, 1977, vol. 264, p. 49—62.
40. *Li T., Sperelakis N.* Stimulation of slow action potentials in guinea pig papillary muscle cells by intracellular injection of cyclic AMP, GPP (NH) P and cholera toxin. — *Circ. Res.*, 1983. In press.
41. *Jones L. R., Maddock S. W., Hathaway D. R.* Membrane localization of myocardial type II cAMP-dependent protein kinase activity. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1981, vol. 641, p. 242—253.

42. *Tada M., Inui M., Yamada M., Kadoma M., Kuzuya T., Abe H., Kakinchi S.* Effects of phospholamban phosphorylation catalysed by adenosine 3':5' monophosphate- and calmodulin-dependent protein kinase on calcium transport ATPase of cardiac sarcoplasmic reticulum. — *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1983. In press.
43. *Kirchberger M. A., Antonetz T.* Calmodulin-mediated regulation of calcium transport and ($\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$)-activated ATPase activity in isolated cardiac sarcoplasmic reticulum. — *J. Biol. Chem.*, 1982, vol. 257, p. 5685—5691.
44. *Levy M. N.* Sympathetic-parasympathetic interactions in the heart.—*Circ. Res.*, 1974, vol. 29, p. 437—445.
45. *Birdsall N. J. M., Hulme E. C.* Biochemical studies on muscarinic acetylcholine receptors. — *J. Neurochem.*, 1976, vol. 27, p. 7—16.
46. *Ehlert F. J., Roeske W. R., Yamamura H. I.* The nature of muscarinic receptor binding. — In: *Handbook of physiology*/Ed. Iversen, Snyder. New York: Plenum, 1982. In press.
47. *Galper J. B., Smith T. W.* Properties of muscarinic acetylcholine receptors in heart cell cultures. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1978, vol. 75, p. 5831.
48. *Halvorsen S. W., Nathanson N. M.* In vivo regulation of muscarinic acetylcholine receptor number and function in embryonic chick heart. — *J. Biol. Chem.*, 1984, vol. 256, p. 7941—7948.
49. *Sharma V. K., Banerjee S. P.* Muscarinic cholinergic receptors in rat heart: effects of thyroidectomy. — *J. Biol. Chem.*, 1977, vol. 252, p. 7444—7446.
50. *Ten Eick R., Nawroth H., McDonald T. F., Trautwein W.* On the mechanism of the negative inotropic effect of acetylcholine. — *Pflügers Arch.*, 1976, vol. 361, p. 207—213.
51. *Trautwein W.* Generation and conduction of impulses in the heart as affected by drugs. — *Pharmacol. Rev.*, 1963, vol. 15, p. 277—332.
52. *Goldberg N. D., Haddox M. K.* Cyclic GMP metabolism and involvement in biological regulation. — *Annu. Rev. Biochem.*, 1977, vol. 46, p. 823—896.
53. *Linden J., Brooker G.* The questionable role of cyclic guanosine 3':5'-monophosphate in heart. — *Biochem. Pharmacol.*, 1979, vol. 28, p. 3351—3360.
54. *Krause E. G., Halle W., Wollenberger A.* Effect of dibutyl cyclic GMP on cultured beating rat heart cells. — In: *Advances in cyclic nucleotide research*, vol. 1. New York: Raven, 1972, p. 301—305.
55. *Tuganowski W., Kopec P., Kopyta M., Wezowska J.* Ionophoretic application of autonomic mediators and cyclic nucleotides in sinus node cells.—*Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1977, vol. 299, p. 65—67.
56. *Kohlhardt M., Haap K.* 8-bromo-guanosine-3', 5'-monophosphate mimics the effect of acetylcholine on slow response action potential and contractile force in mammalian atrial myocardium. — *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1978, vol. 10, p. 573—586.
57. *Nawroth H.* Does cyclic GMP mediate the negative inotropic effect of acetylcholine in the heart?—*Nature*, 1977, vol. 267, p. 72—74.
58. *Watanabe A. M., Besch H. R. Jr.* Interaction between cyclic adenosine monophosphate and cyclic guanosine monophosphate in guinea pig ventricular myocardium. — *Circ. Res.*, 1975, vol. 37, p. 309—317.
59. *Watanabe A. M., Hathaway D. R., Besch H. R. Jr.* Mechanism of cholinergic antagonism of the effects of isoproterenol on hearts from hyperthyroid rats. — In: *Recent advances in studies on cardiac structure and metabolism*, vol. 41/Ed. T. Kobayashi, T. Sano, N. Dhalla. Baltimore: University Park Press, 1978, p. 423—429.
60. *Lincoln T. M., Keely S. L.* Regulation of the cardiac cyclic GMP-dependent protein kinase. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1981, vol. 676, p. 230—244.
61. *Brooker G.* Dissociation of cyclic GMP from the negative inotropic action of carbachol in guinea pig atria. — *J. Cyclic Nucleotide Res.*, 1977, vol. 3, p. 407—413.
62. *Ong S. H., Steiner A. L.* Localization cyclic GMP and cyclic AMP in cardiac and skeletal muscle: immunocytochemical demonstration. — *Science*, 1977, vol. 195, p. 183—185.
63. *Mirro M. J., Harper J. F., Steiner A. L.* Compartmentation of the cGMP in sinus node: subcellular localization by immunocytochemistry. — *Circulation*, 1980, vol. 62, p. 111, 239.

64. *Mitro M. J., Bailey J. C., Watanabe A. M.* Dissociation between the electrophysiological properties and total tissue cyclic GMP content of guinea pig atria. — *Circ. Res.*, 1979, vol. 45, p. 225—233.
65. *Pappano A. J., Hartigan P. M., Coutu M. D.* Acetylcholine inhibits the positive inotropic effect of cholera toxin in ventricular muscle. — *Am. J. Physiol.*, 1982, vol. 243, p. H434—H441.
66. *Revtjak G., Jones L. R., Watanabe A. M., Besch H. R. Jr.* Canine myocardial guanylate cyclase: differential activation of sarcolemmal and cytoplasmic forms. — *Pharmacologist*, 1978, vol. 20, p. 147.
67. *Lindemann J. P., Besch H. R. Jr., Watanabe A. M.* Indirect and direct effects of the divalent cation ionophore A23187 on guinea pig and rat ventricular myocardium. — *Circ. Res.*, 1979, vol. 44, p. 472—482.
68. *Wallach D., Pastan I.* Stimulation of membranous guanylate cyclase by concentrations of calcium that are in the physiological range. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1976, vol. 72, p. 859—865.
69. *Brown B. S., Polson J. B., Krzanowski J. J., Wiggins J. R.* Influence of isoproterenol and methylisobutylxanthine of the contractile and cyclic nucleotide effects of methacholine in isolated rat atria. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1980, vol. 212, p. 325—332.
70. *Bailey J. C., Watanabe A. M., Besch H. R. Jr., Lathrop D. R.* Acetylcholine antagonism of the electrophysiological effects of isoproterenol on canine cardiac Purkinje fibers. — *Circ. Res.*, 1979, vol. 44, p. 378—383.
71. *Gardner R. M., Allen D. O.* The relationship between cyclic nucleotide levels and glycogen phosphorylase activity in isolated rat hearts perfused with epinephrine and acetylcholine. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1977, vol. 202, p. 346—353.
72. *Murad F., Chi Y. M., Rall T. W., Sutherland E. W.* Adenyl cyclase. — *J. Biol. Chem.*, 1962, vol. 237, p. 1233—1238.
73. *La Raia P. J., Sonnenblick E. H.* Autonomic control of cardiac cAMP. — *Circ. Res.*, 1971, vol. 28, p. 377—384.
74. *Koski G., Streaty R. A., Klee W. A.* Modulation of sodium-sensitive GTPase by partial opiate agonists. — *J. Biol. Chem.*, 1982, vol. 257, p. 14035—14040.
75. *Strawbridge R. A., O'Connor K. W., Watanabe A. M.* Depression of canine cardiac adenylate cyclase activity by muscarinic cholinergic agonists: evidence that the effect is mediated by acceleration of the rate of decay of enzyme activity. — *Clin. Res.*, 1981, vol. 29, p. 244A.
76. *Meester W. D., Hardman H. F.* Blockade of the positive inotropic actions of epinephrine and theophylline by acetylcholine. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1967, vol. 158, p. 241—247.
77. *Biegon R. L., Epstein P. M., Pappano A. J.* Muscarinic antagonism of the effects of a phosphodiesterase inhibitor (methylisobutylxanthine) in embryonic chick ventricle. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1980, vol. 215, p. 348—356.
78. *Watanabe A. M., Lindemann J. P., Jones L. R., Besch H. R. Jr., Bailey J. C.* Biochemical mechanisms mediating neural control of the heart. — In: Disturbances in neurogenic control of the circulation/Ed. F. M. Abboud, H. A. Fozzard, J. P. Gilmore, D. J. Reis. Baltimore: Waverly, 1981, p. 189—203.
79. *Manalan A. S., Besch H. R. Jr., Watanabe A. M.* Characterization of [³H] (±) carazolol binding to beta adrenergic receptors: application to study of beta adrenergic receptor subtypes in canine ventricular myocardium and lung. — *Circ. Res.*, 1981, vol. 49, p. 328—336.
80. *Mirro M. J., Manalan A. S., Bailey J. C., Watanabe A. M.* Anticholinergic effects of dipyramide and quinidine on guinea pig myocardium: mediation by direct muscarinic receptor blockade. — *Circ. Res.*, 1980, vol. 47, p. 855—865.

Глава 25

ГИПЕРТРОФИЯ МИОКАРДА И ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КАРДИОМИОЦИТОВ

ВЕРОЯТНЫЕ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЧИНЫ ИЗМЕНЕНИЯ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА

Р. Е. ТЕН ЭЙК, А. Л. БАССЕТ (R. E. TEN EICK, A. L. BASSETT)

ВВЕДЕНИЕ

Гипертрофия кардиомиоцитов развивается в ответ на постоянное повышение совершаемой сердцем работы. Увеличение совершаемой сердцем работы может быть следствием ряда причин, в том числе перегрузки давлением из-за внутрижелудочковой или системной гипертонии, перегрузки объемом из-за наличия предсердно-желудочкового шунта; других дефектов структуры сердца или гиперволемии; постоянно повышенной частоты сердечного ритма. Оно может быть также следствием локального повреждения миокарда, вызванного острой или хронической ишемией или инфарктом, нарушением питания или гормональной регуляции, а также динамической [1] и изометрической физической нагрузкой [2]. Существует множество физиологических параметров, изменение которых сопровождает и, возможно, связано с гипертрофией миокардиальных клеток. К ним относятся изменения механических свойств, биохимии, структуры и ультраструктуры клеток, а также недавно описанные изменения электрофизиологических свойств. Было выдвинуто предположение, что гипертрофия представляет собой компенсаторный механизм, позволяющий удовлетворить повышенные требования организма к сердцу как к насосу, и сердечная недостаточность развивается только тогда, когда гипертрофия оказалась недостаточной [3, 4]. Имеется обширная литература по гипертрофии и недостаточности. Данный обзор будет посвящен рассмотрению изменений, происходящих при обычной (наиболее хорошо изученная) форме гипертрофии, т. е. той, которая вызывается перегрузкой давлением. Будут описаны электрофизиологические изменения, связанные с этой формой гипертрофии, и рассмотрены изменения механических, биохимических и морфологических свойств, которые сопровождают изменения электрических параметров и, возможно, связаны с ними. Будут также рассмотрены и другие модели или

естественные формы гипертрофии, вызванные заболеванием сердца, если они позволяют продемонстрировать особенно важные случаи или случаи, имеющие прямое отношение к обсуждаемому материалу. Читателю, желающему более подробно изучить этот вопрос, полезно обратиться к нескольким последним обзорам по биохимическим изменениям в миокарде во время гипертрофии, например, к обзорам Rabinowitz и Zak [5], Wikman-Coffelt с соавт. [4], Zak и Rabinowitz [6].

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ГИПЕРТРОФИИ

Был осуществлен ряд исследований, целью которых было изучение изменений структуры и ультраструктуры, происходящих в дилатированном и гипертрофированном сердце, чтобы определить, способны ли такие изменения объяснить, по крайней мере частично, изменения сократительных свойств миокарда. Ясно, что при гипертрофии миокарда происходят изменения длины саркомера и формы полос, включая смещение фибрилл и увеличение их массы, т. е. увеличение поперечного сечения миокардиальных клеток [7]. Такое увеличение размеров клеток отражает изменения, происходящие в ряде субклеточных структур и компартментов, включая те, которые принимают участие в возбуждении и электромеханическом сопряжении: сарколема и T-тубулы, интерстициальное «внеклеточное пространство», саркоплазматический ретикулум и митохондрии, являющиеся «источником энергии» для образования и поддержания градиентов концентраций ионов, необходимых для возбуждения [8].

При гипертрофии размеры клетки могут удваиваться. Увеличение объема митохондрий сопровождается повышением степени митохондриализации сарколеммы [7]. Такие везикулообразные структуры сарколеммы получили название «сердечные ворсинки» или прикладные дивертикулы. Вблизи внешней и внутренней поверхностей сарколеммы выявляются многочисленные пиноцитические пузырьки, возможно, свидетельствующие о необходимости увеличения площади поверхности сарколеммы в гипертрофированных клетках. Наблюдается склонность митохондрий концентрироваться около сарколеммы, что говорит о том, что при гипертрофии вблизи поверхностной мембраны протекают процессы транспорта, требующие притока энергии [9].

Меньше известно относительно изменений при гипертрофии вставочных дисков, которые содержат в себе структуры, позволяющие потенциалу действия распространяться от клетки к клетке по путям с низким сопротивлением. По-видимому, в ответ на продолжительную физическую нагрузку, которая, как известно, вызывает увеличение размеров сердца и среднего диаметра миокардиальных клеток, происходит изменение структуры вставочных дисков [7]. Наблюдается локальное увеличение ширины нексусов вставочных дисков, которая почти в 5 раз превышает нормальную ширину, причем в области нексуса появляются пузырь-

ки, заполненные матриксом умеренной плотности. Везикуляризация служит для увеличения как объема, так и площади поверхности в области некусов, которые, как предполагается, принимают участие в обмене ионов и других сигналов между соседними клетками. Не ясно, влияет ли такое локальное увеличение ширины некусов на проведение потенциалов действия и силу сокращения. Имеются данные, позволяющие предположить, что в сердце человека частичная диссоциация вставочных дисков происходит при стенозе митрального клапана, врожденных сердечных аномалиях, фиброзе миокарда [10], а также при идиопатической миокардиопатии [11]. Однако количественная и качественная корреляция диссоциации вставочных дисков при гипертрофии с электрическими нарушениями, возникающими в таких сердцах, пока еще выяснена не полностью [12].

Результаты многих исследований показывают, что для гипертрофии характерно увеличение количества митохондрий в миокардиальной клетке. Неясен пока вопрос об изменении соотношения между миофибриллами и митохондриями. Выдвинуто предположение, что гипертрофия вызывает такое увеличение относительного количества сократительного материала, который должен снабжаться энергией в виде АТФ, образующегося в митохондриях, что может возникнуть дисбаланс энергетических взаимосвязей [13]. Этот вопрос до конца неясен, так как в некоторых исследованиях не удалось обнаружить изменение соотношения между этими двумя структурами [7]. Считается, что митохондрии в гипертрофированном сердце имеют несколько большие размеры, чем в нормальном сердце, и имеются указания на то, что их ультраструктура также изменена. На конечной стадии гипертрофии и идиопатической миокардиопатии наблюдается явная дегенерация митохондрий [11]. Несмотря на то что имеются данные, указывающие на изменение функционирования митохондрий при гипертрофии, связь изменения энергетического статуса с сопровождающимися гипертрофией изменениями электрических и сократительных параметров остается неясной.

В ряде исследований ультраструктуры гипертрофированного миокарда отмечается расширение поперечных тубул (Т-тубулы). Аналогичная дилатация наблюдается при аноксии, гипоксии и ишемии [7]. В нескольких работах было показано, что при гипертрофии Т-система заметно разрастается, расширяется [14], а также увеличивается в продольном направлении. В случае клинической картины идиопатической гипертрофии сердца, сопровождающейся стенозом аорты и без него, Т-тубулы особенно сильно расширены и увеличены; увеличение размеров системы происходит в продольном направлении, и часто формируется «промежуточная» сарколема [11, 14]. Отмечено также появление внутри Т-тубул мелкого гранулярного материала [7]. Роль таких изменений ультраструктуры кардиомиоцитов в изменении функций клеток, происходящем при гипертрофии, еще предстоит выяснить. В настоящее время внимание исследователей привлекает несколько моделей.

Во многих работах для изучения изменений механических, а позднее и электрических свойств миокарда при гипертрофии использовали сердце крысы (см. ниже). Следовательно, интерес представляют изменения ультраструктуры кардиомиоцитов крысы при гипертрофии. Особенно подробное изучение изменений, вызванных перегрузкой давлением, в связи с относительными и абсолютными изменениями различных структур, составляющих миокардиальные клетки желудочков крысы, было проведено Page и McCallister [14] с использованием метода количественной морфометрии. Условия перегрузки давлением для развития гипертрофии создавались путем частичного пережатия нисходящей аорты с помощью серебряного кольца. В результате повышалось систолическое давление в левом желудочке и наблюдалось постепенное увеличение размера миокардиальных клеток. Получено, что через десять или более дней сужения аорты доля клеточного объема, занимаемого миофибриллами, увеличилась во всех клетках миокарда левого желудочка, а доля клеточного объема, занимаемого митохондриями, существенно уменьшилась. Это говорит о том, что количество органелл, поставляющих энергию, может снижаться по отношению к сократительному аппарату, и это может каким-то образом приводить к развитию сердечной недостаточности. Оценка функции митохондрий в желудочках сердца крысы на фоне перегрузки давлением подтверждает результаты количественного морфометрического анализа с использованием электронных микрофотографий. Как отмечено ранее, аналогичные данные получены и на экспериментальных моделях с использованием других животных.

Опубликованы данные об изменениях внешней сарколеммы и Т-системы. Диаметр и площадь поперечного сечения, а значит, и объем гипертрофированных клеток увеличены. Вследствие этого отношение площади поверхности к объему для гипертрофированных миокардиальных клеток имеет меньшую величину, т. е. при увеличении размеров клеток снижается доля площади внешней сарколеммальной мембраны, приходящаяся на единицу объема. Выдвинуто предположение, что такое изменение этого отношения может влиять на способность гипертрофированной клетки к поддержанию гомеостаза вследствие того, что к плазматической мембране, окружающей клетку, выдвигаются повышенные требования по выполнению жизненно важных функций, включая поглощение энергетических веществ из крови и межклеточного пространства, выведение продуктов обмена и промежуточных соединений и, наконец, движение ионов, связанное с электрическим возбуждением. Однако Page и McCallister предположили, что в клетках желудочков сердца крысы, гипертрофированных вследствие перегрузки давлением, происходит компенсация сниженного отношения площади поверхности к объему путем увеличения площади плазматической мембраны, входящей в состав Т-системы. По мере увеличения диаметра клетки образуются дополнительные мембраны Т-системы, так что отношение площади мембраны сарколеммы, разделяющей миоплазму и внеклеточную

жидкость, к объему миоплазмы остается постоянным. В результате нарушения поверхность клетки оказывается сплошь покрытой отверстиями Т-тубул, состав жидкости внутри которых, как предполагается, соответствует внеклеточной жидкости.

Wendt-Gallitelli и Jacob [15] использовали методы электронной микроскопии для оценки морфологических изменений миокарда крыс в модели Гольдблатта во время компенсаторной стадии гипертрофии миокарда, вызываемой постепенным увеличением перегрузки давлением. Они обнаружили, что в течение первых 4 нед после пережатия почечной артерии наблюдается заметное увеличение размеров миокардиальных клеток. Особенно явным было увеличение системы Т-тубул. Данные о том, что рост системы поперечных тубул и саркоплазматического ретикулума происходит параллельно с увеличением объема клеток и массы миофибрилл, согласуются с результатами Page и McCallister [13]. Goldstein с соавт. [16] описали изменения ультраструктуры клеток левого желудочка при постепенном пережатии аорты кролика. Было отмечено нарушение структуры вставочных дисков и расширение Z-полос. Важность этих изменений по отношению к изменениям электрической активности отмечена в работе Aronson [17] при исследовании с использованием миокарда крыс в модели Гольдблатта, рассматриваемой ниже.

Природа стимула, вызывающего увеличение пространства, занимаемого Т-тубулами, неясна. Увеличение Т-тубул происходит также при кратковременной физической нагрузке, при остановке сердца вследствие аноксии и при ишемии [18]. Выход из клеток Cl^- , вызванный нейромедиатором, приводит к расширению Т-тубул скелетной мышцы рака. Известно также, что в скелетной мышце при чрезмерной физической нагрузке происходит существенное уменьшение активности Cl^- (a_{Cl}) (см. обзор Tomanek и Vanister [18]). В ряде работ (например Horwood и Veznak [19]) сообщается об изменениях состава внутриклеточной жидкости и внеклеточных электролитов после пережатия аорты, однако происходит ли выход ионов Cl^- из гипертрофированных клеток при хронической перегрузке давлением, не известно.

Anversa с соавт. [20] и Weiner с соавт. [21] провели морфометрические исследования миокарда при гипертрофии, вызванной экспериментальной почечной гипертензией, проводя сравнение миоцитов эндокарда и эпикарда левого желудочка сердец нормальных и гипертензивных крыс. В обычном желудочке область эндокарда содержит на 30% больше миоцитов, на 27% меньше внеклеточного пространства, на 48% меньше объема, занимаемого капиллярами, поверхность которых на 17% меньше, чем в области эпикарда, а длина капиллярной сети на единицу объема ткани одинакова в обеих областях. Если рассматривать относительные и абсолютные величины объемов и площадей поверхности клеточных органелл, то оказывается, что состав цитоплазматических компонентов в миоцитах неизмененного эндокарда и эпикарда практически одинаков. Однако через 1—4 нед гипертензии, вызванной пережатием почечной артерии, размер эндокардиаль-

ных миоцитов увеличивается на 26%, а эпикардиальных — на 37%, хотя число миоцитов и общая длина капиллярной сети в обеих областях не изменяются. В эпикарде объем внеклеточного пространства увеличивается пропорционально объему миоцитов, и в эндокарде рост внеклеточного объема превосходит увеличение объема миоцитов и составляет 55%. Увеличение объема внеклеточного пространства во всех участках миокарда происходит за счет расширения просвета капилляров [22]. Гипертрофия миоцитов в эпикарде сопровождается уменьшением соотношения между митохондриями и миофибриллами и пропорциональным увеличением (в 2—3 раза) объемов и площадей поверхности гладкого эндоплазматического ретикулума и Т-системы. Таким образом, морфометрические характеристики кардиомиоцитов гипертензивных крыс существенно отличаются от нормальных. Кроме того, наблюдаются существенные отличия изменений, происходящих во внешних и внутренних слоях миокарда. В связи с этим интересно отметить, что фиброз, развивающийся в клинических условиях или при экспериментальном стенозе или сужении аорты, выражен сильнее в субэндокардиальной области, где, вероятно, поступление крови ниже, чем в субэпикарде [23]. Quilch [24] считает, что фактором, определяющим степень изменения потенциала при гипертрофии, вызванной перегрузкой давлением, является расположение клетки (т. е. субэндокард или субэпикард) (см. ниже).

В заключение следует отметить, что тщательные исследования изменений ультраструктуры клеток, в основном проведенные на сердце крысы, показывают, что при гипертрофии площадь поверхности миокардиальных клеток увеличивается. Это сопровождается увеличением площади поверхности и объема системы Т-тубул. Увеличивается также полная площадь мембран, включая мембранные системы, являющиеся продолжением клеточной поверхности и прилегающие к саркоплазматическому ретикулуму. Это позволяет предположить, что изменения системы Т-тубул могут частично отражать приспособительные реакции, направленные на поддержание нормальной работы механизма электромеханического сопряжения. Другими словами, предполагается, что существенный рост системы Т-тубул при гипертрофии оправдан, так как через эти тубулы, проходящие внутрь клетки, потенциал действия проникает в глубину увеличенной клетки, а мембраны Т-тубул служат поставщиками катионов, особенно Ca^{2+} .

В многочисленных исследованиях были изучены биохимические изменения, происходящие в гипертрофированном миокарде. К таким изменениям относятся: изменение синтеза белков [25—27], в том числе миозина [28]; снижение АТФазной активности миозина [29], что может быть связано с изменением соотношения между изоферментами миозина [30] и процессами образования поперечных мостиков [31], что в свою очередь влияет на максимальную скорость изотонического укорочения; изменения образования тепла [32], путей энергетического метаболизма [33], содержания коллагена [34] и его распределения [35], а также изменения синтеза ДНК [36].

ФАКТОРЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ ГИПЕРТРОФИЮ

Биохимическая природа факторов, вызывающих гипертрофию а также само явление гипертрофии и ее обратимость изучались различными исследователями. Было выдвинуто предположение, что эти события могут быть инициированы изменением содержания цАМФ, вызванным действием норадреналина или повышением давления, возможно, за счет растяжения мышечных волокон. Эти факторы могут действовать прямо на ядро кардиомицита или же опосредованно через следующую последовательность событий: Ca^{2+} , выходящий из саркоплазматического ретикулума может увеличивать концентрацию цАМФ и фосфорилирование белков. Такое повышение уровня цАМФ и его влияние на фосфорилирование белков способны увеличивать синтез белков, в то время как снижение уровня цАМФ будет приводить к уменьшению синтеза белков. Таким образом, содержание цАМФ в ядре, который, как было показано, управляет синтезом специальных белков в некоторых типах ткани, может являться важным фактором в регуляции процесса гипертрофии. Однако эта гипотеза еще не доказана.

Meerson [3] описал три стадии гипертрофии желудочков сердца млекопитающих при хронической частичной окклюзии аорты или легочной артерии. Стадия I представляет собой период развития гипертрофии, часто сопровождающийся нарушением сократительных функций. Стадия II является стабильной фазой гипертрофии с «нормальной или даже повышенной сократительной способностью». Во время стадии III происходит постепенно ухудшение сократительной способности гипертрофированного миокарда, заканчивающееся развитием сердечной недостаточности. Hatt с соавт. [37] рассмотрели структурные характеристики гипертрофии с учетом классификации стадий Meerson и обнаружили, что дегенеративные изменения наступают быстрее при более высокой нагрузке на миокард [38].

Биохимические и структурные факторы, связанные с развитием физиологической (стадия I) и патологической (стадия II) гипертрофии, были недавно рассмотрены в обзоре Wikman—Coffelt с соавт. [4]. Они отметили, что существует ряд факторов, особенно важных для развития гипертрофии. К ним относятся напряжение стенки желудочков, продолжительность такого напряжения, природа инициирующего фактора, в каком желудочке (правом или левом) развивается гипертрофия, а также вид, возраст и общее состояние здоровья животного. По-видимому, большинство факторов, инициирующих развитие гипертрофии, запускают этот процесс, влияя на обычный механизм сопряжения механических явлений с биохимическими. Чрезмерная нагрузка на сердце вызывает увеличение напряжения в стенках и давления, оказываемого на кардиомициты, а также большую степень растяжения мышечных волокон. Растяжение, сопровождающееся увеличением механического напряжения волокон, ускоряет процесс транскрипции и синтеза белков, возможно, посредством

ЦАМФ-зависимого механизма, описанного выше. Эта последовательность событий может быть опосредована освобождением порадrenalина из нервных окончаний или же модулироваться под действием норадреналина. Затем в зависимости от степени нагрузки на сердце вторичные факторы, например повышение $P_{со}$ в ткани, будут определять, способно ли сердце адаптироваться к повышенной нагрузке, приобретая свойства, характерные для физиологической или патологической гипертрофии, т. е. будет ли величина силы, развиваемой при сокращении, той же или увеличится, или же возникнет существенное нарушение деятельности желудочков и сократимости.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ И МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИОКАРДА ПРИ ГИПЕРТРОФИИ

В течение последних двух десятилетий рядом исследователей получено количественное описание сократимости миокарда с использованием препаратов изолированного миокарда желудочков неизмененных сердец млекопитающих. Удалось установить влияние лекарственных веществ и изменений ионного состава внеклеточной жидкости на электрические и механические свойства нормального миокарда. Кроме того, были изучены стадии изменения сократительной функции при перегрузке давлением (повышенное систолическое давление внутри желудочка) и было обнаружено, что они зависят от степени и продолжительности перегрузки давлением и от вида экспериментального животного.

Несколькими независимыми группами исследователей было установлено, что хроническая перегрузка давлением правого желудочка без сердечной недостаточности (развивается при быстрой частичной окклюзии легочной артерии) приводит к угнетению соотношения между силой сокращения и скоростью укорочения в изолированном препарате миокарда правого желудочка кошки, исследованном *in vitro* [39, 40]. Величина активной силы и максимальная скорость развития силы сокращения таких препаратов гипертрофированного миокарда оказались уменьшены [41], и наблюдались также существенные изменения соотношения между силой сокращения и межстимуляционным интервалом, которое определяется при изучении реакций силы сокращения на изменение частоты стимуляции, включая постстрессистолическую потенцию [42, 43]. Особая роль в этом процессе была недавно отведена зависимым от времени факторам, влияющим на сократимость при повышении систолического давления в правом желудочке (Williams и Potter) [43]. Они показали, что связь между длиной и силой активного сокращения, максимальная скорость развития силы сокращения и зависимость между силой и скоростью для миокарда правого желудочка существенно угнетаются через 6 нед после окклюзии легочной артерии. Однако эти показатели возвращаются к норме через 24 нед после окклюзии. Только время до максимума сокращения остается слегка увеличенным.

Соорег с соавт. [44] вызывали гипертрофию правого желудочка путем постепенного повышения нагрузки давлением и показали, что скорость укорочения и амплитуда силы сокращения уменьшаются, а время до максимума сокращения увеличивается. В последних работах было отмечено увеличение пассивной жесткости папиллярной мышцы гипертрофированного правого желудочка сердца у кошек с окклюзией легочной артерии [45, 46].

Существенный прогресс в понимании патофизиологии гипертрофий миокарда был достигнут благодаря разработке модели хронической сердечной недостаточности, вызванной перегрузкой давлением, на сердце кошки. Spann с соавт. [39] ясно показали, что сила сокращения и соотношение между силой и скоростью сокращения заметно уменьшаются в миокарде правого желудочка, изолированного из сердца кошки с явной хронической сердечной недостаточностью (стадия III со снижением сократимости, по Meerson). Сократимость интактного правого желудочка также оказалась сниженной [47]. Угнетение силы сокращения было подтверждено другими исследователями [48].

Большинство ранних работ по изучению влияния гипертрофии, вызванной перегрузкой давлением, на электрофизиологические свойства миокарда было также осуществлено на модели гипертрофии правого желудочка сердца кошки, вызванной частичной окклюзией легочной артерии. В этих исследованиях было получено множество данных, демонстрирующих изменение трансмембранного потенциала действия. Kaufmann с соавт. [40] не обнаружили никаких отличий электрофизиологических свойств нормальной папиллярной мышцы от свойств гипертрофированной мышцы, несмотря на уменьшение скорости укорочения. Однако в последующих работах этой же группы исследователей было выявлено удлинение потенциала действия, снижение потенциала покоя и уменьшение скорости нарастания потенциала действия через 3 нед после начала воздействия перегрузки давлением [49]; к сожалению, в последней работе не представлены данные о сократительных свойствах миокарда.

Повышение систолического давления в правом желудочке сердца кошки в 2 раза по сравнению с нормальным, осуществленное в остром опыте (1—3 ч) путем частичной окклюзии легочной артерии, не влияло на форму потенциала действия (Bassett с соавт., неопубликованные данные). Однако в более поздней стадии гипертрофии (3 дня после частичной окклюзии легочной артерии без сердечной недостаточности) регистрируются потенциалы действия со сниженной амплитудой фазы плато [50]. Такое уменьшение потенциала плато сопровождается снижением амплитуды силы сокращения и скорости развития силы, а также увеличением времени до пика сокращения. Форма потенциала действия нормализуется через 21 день, не отличаясь заметно от формы потенциалов действия в контроле (ложная операция) или через 90 и более дней после частичной окклюзии легочной артерии, за исключением небольшого удлинения потенциала действия на уровне 70% реполяризации [51]. Показатели сократимости жо

через 3 нед после начала гипертрофии остаются сниженными [51]. В отличие от этих данных Ten Eick с соавт. [52] сообщили, что в препаратах миокарда, изолированного из правого желудочка, гипертрофированного с помощью идентичной процедуры частичной окклюзии, осуществленной в лаборатории Bassett за 5—7 мес до проведения исследования, потенциал плато был снижен, а длительность потенциала действия была существенно увеличена. Эти данные говорят о том, что изменения формы потенциала действия не возвращаются со временем к норме, а могут сохраняться, по крайней мере в течение 5—7 мес после начала перегрузки давлением. Впоследствии Ten Eick и Bassett рассмотрели возможные причины такого расхождения их результатов. Данные Ten Eick с соавт. [52] были получены на миокарде правого желудочка с высокой степенью гипертрофии внешних стенок. В обоих исследованиях также слегка отличаются экспериментальные протоколы. Gelband и Bassett [48] изучали потенциалы действия при частоте стимуляции, равной 30 имп/мин, в то время как Ten Eick с соавт. [52] использовали несколько частот в диапазоне от 12 до 240 имп/мин. Поэтому в совместной работе Ten Eick и Bassett [53] исследовали вопрос о том, насколько величина изменений параметров потенциала действия может определяться степенью гипертрофии или частотой стимуляции. Они обнаружили, что чем выше степень гипертрофии правого желудочка, тем сильнее выражено угнетение фазы плато и тем значительно удлинение потенциала действия. Однако при изучении папиллярной мышцы с низкой степенью гипертрофии при частоте стимуляции 30 имп/мин было получено, что форма потенциала действия практически не отличается от нормальной, за исключением небольшого снижения скорости реполяризации фазы 3 потенциала действия. Эти данные подтверждают полученные ранее результаты исследования Bassett и Gelband [51]. Интересно, что даже в незначительно гипертрофированном миокарде при частоте стимуляции 60 имп/мин и выше можно зарегистрировать некоторое удлинение потенциала действия, связанное с уменьшением скорости реполяризации фазы 3. В случае низкой степени гипертрофии при такой высокой частоте стимуляции уровень фазы плато может быть слегка снижен, а при более медленной частоте потенциал плато либо не изменяется, либо даже слегка увеличивается. В препаратах миокарда с умеренной или высокой степенью гипертрофии при всех частотах стимуляции уровень фазы плато был снижен, реполяризация фазы 3 замедлена, а длительность потенциала действия увеличена, особенно в конце фазы 3. Снижение уровня плато составляло в среднем 5—8 мВ с колебаниями в разных случаях от 4 до 15 мВ. Роль таких изменений уровня плато в угнетении сократимости миокарда будет обсуждаться ниже. Таким образом, последние результаты Ten Eick и Bassett [53, 54] подтверждают результаты ранних работ этих исследователей и указывают, что изменения параметров потенциала действия сердца кошки в условиях перегрузки давлением не нормализуются со временем, а сохраняются; изменения усиливаются

при увеличении степени гипертрофии правого желудочка; изменения более выражены при ЧСС 60 в 1 мин и выше, чем при низких частотах.

Выявлены также региональные вариации транзиторного угнетения уровня плато в миокарде правого желудочка сердца кошки через 3 дня после начала перегрузки давлением [55, 56]. Такие региональные различия изменений формы потенциала действия могут сохраняться в течение длительного времени, так как их можно обнаружить в сердце кошки через 5—7 мес после начала перегрузки давлением [54]. Такие вариации обнаружены не только в сердце кошки. Aronson [57] отметил, что форма потенциала действия миокарда крысы при использовании модели гипертрофии Гольдблатта также значительно более вариабельна, чем в миокарде нормального сердца крысы.

В работе с использованием модели сердечной недостаточности у кошек, развивающейся через 1—3 дня после перевязки легочной артерии, Gelband и Bassett [48] отметили уменьшение потенциала покоя, овершута и скорости нарастания потенциала действия, сопровождающееся замедлением проведения и удлинением потенциала действия.

Гипертрофия правого желудочка, вызванная частичным сужением легочной артерии кролика [58, 59], приводит к уменьшению скорости укорочения и скорости развития силы сокращения без изменения ее амплитуды, а также увеличению времени до пика сокращения. При электрофизиологическом исследовании миокарда, подвергнутого длительной (21—39 нед) перегрузке давлением вследствие пережатия аорты или легочной артерии кролика, Konishi [60] не обнаружил никаких изменений потенциала покоя, амплитуды и длительности потенциала действия миокарда; сократительные свойства не изучались. Однако более тщательное рассмотрение этих данных, проведенное Ten Eick с соавт. [52—54], выявило угнетение плато потенциала действия. Нам неизвестны какие-либо другие исследования по выявлению электрофизиологических эффектов, возникающих при повышении систолического давления в левом желудочке и его гипертрофии, вызванных сужением аорты. Однако недавно получено сообщение Sharp [61], использовавшего модель гипертрофии желудочков сердца кролика при перегрузке объемом, вызванном экспериментальным гипертиреозом, что в этих условиях наблюдается снижение уровня плато и замедление реполяризации фазы 3 потенциала действия.

Недавно Cameron с соавт. (подписано к печати) описали несколько аномалий морфологии кардиомиоцитов и их электрофизиологических свойств в сердце кошки после частичного сужения аорты выше уровня отхождения коронарных артерий, которые могут быть причиной частого развития летальных нарушений ритма у таких животных [62]. В этих условиях после замедления синусового ритма вследствие стимуляции блуждающего нерва *in situ* преждевременное возбуждение желудочков наблюдалось у 8 (26%) из 31 экспериментальных животных, а у 3 развилась фибрилляция желудочков. В контроле (31 животное) и у 8 кошек

сложной операцией при замедлении синусового ритма вследствие стимуляции блуждающего нерва аритмий не наблюдалось. У большинства кошек с частично перевязанной аортой обнаружен фиброз эндокарда желудочков и инфильтрация соединительной ткани. При электрической стимуляции изолированных препаратов миокарда левого желудочка с интервалом между стимулами 630—1000 мс в перфузионной камере, в субэндокарде, выделенном из зоны фиброза, наблюдаются гетерогенные аномалии электрической активности. К ним относятся потенциалы действия, более короткие, чем в норме, низкоамплитудные потенциалы действия в клетках с низким потенциалом покоя, искаженная форма переднего фронта потенциала действия, а также электрически неактивные области. Электрические аномалии чаще выявлялись на границах раздела между фиброзной и морфологически нормальной тканью. Клетки с аномальными потенциалами действия чередовались с клетками, имеющими нормальную активность. Длительность потенциалов действия в участках миокарда, выбранных произвольно вне областей фиброза, была увеличена. В общем данные, полученные в не затронутом фиброзом миокарде, довольно близки к результатам Ten Eick с соавт. [53, 54], полученным на миокарде гипертрофированного правого желудочка сердца кошки.

Изменения электрофизиологических свойств миокарда левого желудочка сердца крысы, вызванные перегрузкой давлением, были изучены несколькими группами исследователей, в том числе Aronson [17], Gulch с соавт. [63] и Gulch [24, 64]. Недавно опубликован обзор Capasso с соавт. [65], посвященный изменениям электрических и механических свойств сердца крысы при гипертрофии. В случае постепенного развития гипертрофии левого желудочка при повышении давления в почечных артериях сила сокращения возрастает [65—68] или не изменяется [65], время до пика сокращения увеличивается [24, 65—68], максимальная скорость укорочения снижается [65—67], длительность потенциала действия всегда увеличивается без существенных изменений потенциала покоя или максимальной скорости нарастания потенциала действия. Более того, Gulch с соавт. [63] обнаружили, что удлинение потенциала действия возрастает при увеличении степени гипертрофии. Значит, и в этом случае изменения электрической активности кардиомиоцитов гипертрофированного сердца крысы качественно похожи на те, которые наблюдаются в гипертрофированном сердце кошки [53, 54].

В результате изучения механических свойств миокарда желудочков сердца крысы было получено, что при гипертрофии, вызванной сужением аорты, наблюдается уменьшение силы сокращения [42] или отсутствие ее изменений [69—72], увеличение [65, 70] или отсутствие изменений [42, 72] времени до пика сокращения, увеличение времени до пика укорочения [70] и снижение скорости укорочения [42, 69, 71]. Постепенное сужение легочной артерии молодых крыс также может вызвать существенную гипертрофию, но без изменения способности миокарда к гене-

рации силы или скорости укорочения [73]. Ни в одном из этих исследований не проводили изучения электрических свойств.

Удлинение потенциала действия при гипертрофии сердца кошки и крысы не ограничивается только случаем перегрузки давлением. Tibbits с соавт. [74] отметили изменение электрических и механических свойств папиллярной мышцы, изолированной из левого желудочка сердца самок крыс после длительного бега по тредмилу и изучавшейся в перфузионной камере. Величина максимальной силы сокращения в изометрическом режиме на единицу площади поперечного сечения была выше в миокарде тренированных крыс, чем в контроле. В то же время параметры потенциала действия не изменялись, включая потенциал покоя, амплитуду и овершут потенциала действия, а также длительность потенциала действия на уровне 90% реполяризации, но наблюдалось значительное удлинение потенциала действия на уровне —50 мВ. Эти исследователи предположили, что физическая нагрузка на тредмиле может приводить к адаптационным изменениям в саркомерме, повышающим «доступность» Ca^{2+} для сократительных белков. Различия изменений механических свойств, вызываемых физической нагрузкой и вызываемых патологическими процессами, затрудняет оценку этих результатов.

Реноваскулярная гипертония, вызванная у крысы путем односторонней окклюзии почечной артерии, является моделью, стабильно вызывающей прогрессирующую перегрузку желудочков давлением, которая развивается в течение 2 нед и сопровождается увеличением массы сердца на 50%, без потери общей массы тела и без признаков застойной сердечной недостаточности. Используя эту модель, Sarasso с соавт. [65] не обнаружили изменений растяжимости мышцы в покое при гипертрофии. В других работах с использованием той же модели обнаружено уменьшение максимальной величины растяжения миокарда через 24 нед после окклюзии почечной артерии [65, 75], которое может быть связано с увеличением содержания коллагена в миокарде [76]. Однако при использовании в качестве модели крыс с гипертонией и постепенно развивающейся гипертрофией миокарда, по видимому, не развивается стадия сильного повреждения клеток и снижения сократимости. Таким образом, не ко всем моделям применимо понятие стадии I гипертрофии (угнетение сократимости при резком увеличении нагрузки), описанной Meerson [3].

Nayashi и Shibata [77] изучали потенциалы действия миокарда у крыс со спонтанным повышением артериального давления. И в этом случае трансмембранный потенциал действия оказался существенно длиннее без заметных изменений потенциала покоя, амплитуды и овершута потенциала действия, скорости проведения и скорости реполяризации. Эти результаты были подтверждены в работах Heller [78] и Heller с соавт. [79]. Кроме того, Heller [78] показал, что потенциал действия миокарда желудочков удлиняется у крыс, у которых гипертонию вызывали действием деоксикортикостерона ацетата, по сравнению с контрольными крысами, а также оценил величины силы сокращения и следового после-

сокращения папиллярной мышцы сердца крыс со спонтанной гипертензией и гипертрофией миокарда [72, 78]. И хотя в этих исследованиях не изучали электрическую активность, отмечено, что у крыс с гипертрофией миокарда послесокращения имели большую амплитуду, чем в соответствующем контроле. Кроме того, при увеличении продолжительности гипертонии удлиняется мохачический рефрактерный период.

Atonson [57], используя модель почечной гипертензии у крыс, изучил колебания мембранного потенциала, получившие название следовых деполяризаций [80, 81] или следовых потенциалов, и сообщил, что можно избирательно вызывать такие следовые потенциалы в гипертрофированном миокарде крысы. Он наблюдал три типа следовых потенциалов: ранняя следовая деполяризация, задержанная следовая деполяризация и ранняя следовая гиперполяризация. Первые два типа следовых потенциалов способны вызвать спонтанную триггерную активность, а третий тип не запускает спонтанных возбуждений. Задержанная следовая деполяризация наблюдается в гипертрофированном миокарде при воздействии раствора с высоким содержанием Ca^{2+} , в то время как ранняя следовая деполяризация возникает в гипертрофированных волокнах при действии тетраэтиламония (ТЭА). Ни одно из этих воздействий не вызывает появления следовых потенциалов в нормальном миокарде. Амплитуда задержанных следовых потенциалов увеличивается при повышении частоты стимуляции, числа предшествующих стимулов или внеклеточной концентрации Ca^{2+} . Интервал сцепления между передним фронтом предшествующего потенциала действия и максимумом задержанной следовой деполяризации уменьшается при увеличении частоты стимуляции или числа предшествующих возбуждений. Это позволяет предположить, что следовые потенциалы и связанный с ними триггерный автоматизм, наблюдаемый в миокарде при перегрузке давлением, являются важными факторами, определяющими развитие аритмий. Может существовать связь между следовыми потенциалами и постсокращениями [72, 78], но какова она, пока не совсем ясно.

Keung и Atonson [82] показали, что гипертрофия желудочков, развивающаяся у крыс вследствие почечной гипертонии, сопровождается удлинением потенциалов действия во всех миокардиальных тканях, что приводит к стабильному уменьшению амплитуды Т-волны. Изменение формы Т-волны на ЭКГ может быть следствием разной длительности потенциалов действия в эндокарде и эпикарде. Эта гипотеза подтверждается хорошей корреляцией между величиной градиента реполяризации клеток от эпикарда к эндокарду (измеряется путем регистрации длительности потенциала действия в изолированных препаратах миокарда) и изменением формы Т-волны, связанным с гипертрофией миокарда [83].

В настоящее время имеется очень небольшое количество данных относительно электрофизиологических свойств миокарда человека при миокардиопатиях, однако сообщалось, что потенциал

действия фрагмента миокарда желудочков, полученного из сердца 42-летней больной с гипертрофической миокардиопатией, характеризуется большей длительностью, чем потенциал действия «нормальной» папиллярной мышцы человека, извлеченной при операции замены митрального клапана [84]. Эти результаты подтверждены работами Singer, Ten Eick и их соавторов, однако изменения электрической активности клеток гипертрофированного миокарда человека оказались значительно сильнее выражены, чем было описано Coltart и Meldrum [84]. Недавно опубликованы обзоры Singer с соавт. [85] и Ten Eick с соавт. [85] относительно изменений электрофизиологической активности миокарда человека при различных заболеваниях.

Интересно также, что, как и в экспериментах на крысах в условиях высокой физической нагрузки [74], величины амплитуды и длительности монофазного потенциала действия, зарегистрированного в правом предсердии здоровых добровольцев при катетеризации сердца, увеличиваются в результате физической тренировки [87]. Замацливо предположить, что режим физических нагрузок и тренировок привел к развитию гипертрофии правого предсердия; к сожалению, в работе не приведены соответствующие данные, хотя рентгенограммы грудной клетки были получены.

СВЯЗЬ МЕЖДУ ЭЛЕКТРИЧЕСКИМИ И МЕХАНИЧЕСКИМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ И ГИПЕРТРОФИЕЙ

При использовании модели гипертрофии миокарда кошки, вызванной длительной перегрузкой давлением правого желудочка, обычно степень электрофизиологических изменений возрастает с увеличением тяжести гипертрофии [53]. Однако перегрузка давлением может также сопровождаться развитием морфологических проявлений повреждения миокарда желудочков, который заставляет работать с повышенной нагрузкой и напряжением стенок [88]. Возникает вопрос, что определяет изменения электрофизиологических и механических свойств, о которых сообщалось в этой работе, — повреждение миокарда, гипертрофия или оба эти фактора.

Некоторую ясность в этом вопросе могут внести исследования Cutilletta с соавт. [89] на крысах со спонтанной гипертензией. Этой группой исследователей отмечено, что у таких крыс гипертрофия миокарда развивается даже в том случае, если возникновение системной гипертензии предотвратить путем введения им начиная с момента рождения антисыворотки к фактору роста нервов. Они предположили, что у таких крыс гипертрофия миокарда является основной аномалией миокарда и что именно она является причиной развития гипертензии, а не наоборот.

В миокарде крыс со спонтанной гипертензией наблюдаются значительное уменьшение плотности капилляров, различная степень искривления вставочных дисков и высокая степень гипертро-

фии миокарда [90]. Кроме того, у таких крыс по мере развития гипертрофии левого желудочка происходят существенные изменения формы ЭКГ [91]. Так как длительность комплекса QRS и зубца Р постепенно увеличивается, то можно предположить, что рост специализированной проводящей системы отстает от роста массы сердца по мере прогрессирования гипертрофии. Предполагается также, что возникающее в результате структурное несоответствие является причиной замедления распространения волны возбуждения. Другое объяснение состоит в том, что либо гипертрофия, либо повреждение, либо механическая нагрузка на проводящую систему вызывают изменения свойств мембран и (или) кабельных свойств в клетках проводящей системы.

Проведенное недавно клиническое исследование показало, что увеличение длительности комплекса QRS, вызванное гипертрофией, может быть в большей степени связано с развитием внутриклеточного фиброза, чем с увеличением массы миокарда [92]. В настоящее время не ясно, лежат ли в основе изменений свойств мембран или кабельных свойств миокарда крыс со спонтанной гипертензией аналогичные фиброзные изменения [82]. В этом смысле особую важность имели бы результаты, показывающие, наблюдаются ли в гипертрофированном миокарде таких крыс (развитие гипертензии предотвращено путем воздействия антисыворотки к фактору роста нервов) расширенные по сравнению с нормой комплексы QRS или другие свидетельства нарушения проводимости. Однако значение таких данных все же будет ограничено в связи с тем, что наблюдается существенная вариабельность имеющихся результатов относительно изменений электрических и механических свойств, связанных с экспериментальной или спонтанной гипертрофией миокарда в экспериментах на животных и в клинических исследованиях у человека. Наблюдаемые изменения зависят от вида животного и от природы стимула, используемого для получения гипертрофической реакции, а также от продолжительности его воздействия.

ПРИЧИНЫ И ЗНАЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ И МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИОКАРДА

Исходя из имеющихся в настоящее время данных можно сделать ряд обобщений относительно природы гипертрофии. В большинстве исследований механических свойств изолированных препаратов миокарда крысы и кролика с гипертрофией миокарда, вызванной перегрузкой миокарда желудочков давлением, было получено, что сила сокращения препаратов остается в норме или увеличивается, скорость укорочения уменьшается, а время до пика сокращения и до пика укорочения увеличивается. При использовании модели гипертрофии левого желудочка крысы, вызванной почечной гипертензией или спонтанной гипертензией, было выявлено удлинение потенциала действия. У кошек с гипер-

трофией правого желудочка сила сокращения миокарда уменьшается, скорость укорочения и максимальная скорость развития силы сокращения снижается, и такие изменения механической активности обычно сопровождаются угнетением фазы плато потенциала действия, уменьшением скорости реполяризации и увеличением длительности потенциала действия. Эти данные позволяют предположить, что, несмотря на уменьшение скорости укорочения и скорости развития силы сокращения, нормальная амплитуда силы сокращения миокарда крысы или кролика с гипертрофией левого желудочка может сохраняться за счет увеличения длительности сократительного цикла, возможно, вследствие удлинения фазы плато потенциала действия [17, 63]. В нескольких исследованиях было показано, что на характеристики изометрического сокращения оказывает влияние форма потенциала действия [93—96]. Природа взаимосвязи между сокращением и потенциалом действия сложна и зависит от вида животного и экспериментальных условий, однако будет вполне разумно предположить, что удлинение потенциала действия в гипертрофированном миокарде желудочка крысы может увеличивать длительность сократительного ответа, что и будет способствовать поддержанию силы сокращения на обычном уровне, несмотря на уменьшение скорости укорочения или развития силы сокращения. Agonson [17] показал на миокарде желудочка крысы, что, когда в мышце регистрируется относительно короткий потенциал действия, корреляция между силой сокращения и длительностью потенциала действия на уровне 50% реполяризации оказывается довольно хорошей (в случае ложной операции и снятия перегрузки давлением); такая корреляция практически отсутствует в гипертрофированном миокарде, в котором регистрируется очень длинный потенциал действия. Так как максимальная сила сокращения миокарда желудочков крысы мало изменяется при повышении длительности деполяризации свыше 100 мс [97], то, по-видимому, как только длительность потенциала действия достигает определенной величины, ее дальнейшее увеличение уже не влияет на активное развитие силы [17].

Возможно и другое объяснение этого факта, основанное на том, что увеличение длительности потенциала действия в гипертрофированном миокарде желудочков может представлять собой второстепенное явление или же быть вызвано изменением сократительной активности. Недавно были получены данные [98], которые ясно показывают, что механическое укорочение препарата миокарда может влиять на электрическую активность кардиомиоцитов лягушки. Ранее Kaufmann с соавт. [40] предположили, что на длительность потенциала действия оказывают влияние условия развития сокращения. Они отметили, что при изотоническом укорочении папиллярной мышцы кошки потенциал действия удлиняется, а при изометрическом развитии силы сокращения—укорачивается. Экстраполяция результатов, полученных на препаратах изолированного миокарда, на поведение миокардиальных волокон *in situ* в гипертрофированном миокарде не совсем пра-

померна, особенно учитывая изменения соединительной ткани, составляющей скелет сердца, в условиях перегрузки давлением или дилатации полостей желудочков [99]. Тем не менее ясно, что эти данные имеют прямое отношение к физиологической функции миокарда. Длина различных пучков мышечных волокон внутри стенок камер сердца может изменяться не только во время физического сокращения, но и при нагрузке давлением [100] (обсуждается в обзоре Wikman-Coffelt с соавт. [4]). Напряжение внутри стенок, а значит, и расположение в них волокон, несомненно, является важной детерминантой степени гипертрофии [20] и, в свою очередь, степени удлинения потенциала действия.

Gulch [24, 64], проведя электрофизиологические исследования на препаратах гипертрофированного миокарда крыс в модели Гольдблатта, приступил к изучению теми же методами негипертрофированного миокарда кошки. Он отметил, что потенциалы действия правого желудочка сердца крысы в модели Гольдблатта имеют большую длительность по сравнению с соответствующим контролем и предположил, что это связано с небольшой гипертрофией в миокарде правого желудочка. Такое явление наблюдается не только в миокарде крысы, так как потенциал действия папиллярной мышцы, выделенной из левого желудочка кошки, имеет большую длительность, чем в правом желудочке; качественно похожие результаты получены при изучении сердца морской свинки. Gulch [64] предположил, что различия между потенциалами действия в правом и левом отделах сердца могут быть связаны с различной механической нагрузкой, которой подвергаются соответствующие кардиомиоциты *in situ*. Если это так, то правомерно будет предположить, что длительность потенциала действия клеток субэндокарда должна быть больше по сравнению с клетками субэпикарда вследствие большей нагрузки на клетки субэндокарда, чем субэпикарда. Gulch [64] и в самом деле обнаружил, что длительность потенциала действия в клетках субэндокарда больше, чем в клетках субэпикарда; то же самое наблюдалось в клетках левого желудочка по сравнению с правым. Таким образом, степень перегрузки давлением в данной камере сердца (и косвенно расположение клеток в стенке сердца) является исключительно важным фактором, определяющим длительность потенциала действия в клетках миокарда желудочков. Интересно, что у 5-месячных щенков в миокарде правого желудочка, работающего при низком давлении, число Т-тубул меньше по сравнению с левым желудочком, подвергающимся более высокому давлению [101]. Возникает вопрос, какое влияние на длительность потенциала действия может иметь дополнительная площадь возбудимой мембраны, образованная Т-тубулами.

Перегрузка миокарда желудочков сердца кошки [102] и крысы [103] сопровождается изменением синтеза коллагена и его содержания в миокарде. Поэтому возникает вопрос: может ли это приводить к изменениям электрического сопряжения между клетками и угнетать распространение волны реполяризации? Keung

и Aronson [82] попытались оценить, какой вклад вносит изменение электрического сопряжения между клетками в изменения электрофизиологических свойств миокарда, наблюдаемые при гипертрофии. Они проанализировали пространственное распределение установившегося электротонического потенциала, вызванного внутриклеточным пропусканием импульсов постоянного тока, и получили, что гипертрофия клеток желудочков сердца крысы не влияет на эффективное входное сопротивление. Они показали также, что удлинение потенциала действия, сопровождающее гипертрофию, в разной степени проявляется в разных отделах сердца. Например, и в эндокарде, и в папиллярной мышце продолжительность реполяризации увеличивается на всех уровнях, а в эпикарде продолжительность реполяризации увеличивается лишь на уровне более 50%. Авторы пришли к выводу, что изменение электротонического сопряжения между клетками не является важным фактором, определяющим увеличение длительности потенциала при гипертрофии миокарда. Следовательно, причина изменения формы потенциала действия лежит в изменении функции клеточной мембраны. Биохимические изменения, связанные с гипертрофией, могут влиять на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} , что может сказываться на изменении свойств мембраны и ионных градиентов и даже вызывать диссоциацию временного хода потенциала действия и развития сокращения.

Практически во всех случаях исследования сердец млекопитающих с перегрузкой желудочков давлением и гипертрофией было обнаружено увеличение длительности потенциала действия кардиомиоцитов. Ионные механизмы такого явления остаются невыясненными, хотя им было посвящено несколько последних работ. Aronson [17] изучил реакции гипертрофированного миокарда крысы (модель Гольдблатта) на изменение состава внеклеточной жидкости и на действие блокаторов ионных каналов. Он обнаружил, что изменения свойств потенциала действия при различных воздействиях количественно отличаются в миокарде желудочков с перегрузкой давлением от изменений, наблюдаемых в миокарде при ложной операции желудочков. При использовании раствора Тироде с высоким содержанием Ca^{2+} или низким содержанием Na^+ в изолированных препаратах гипертрофированного миокарда длительность потенциала действия уменьшается в большей степени, чем в нормальном миокарде. Воздействие D-600, блокатора медленного входящего тока, также в большой степени укорачивает потенциал действия в гипертрофированном миокарде, но изменения происходят только на уровне 50% реполяризации, а полная длительность потенциала действия не меняется. Добавление же в раствор Тироде ионов Sr^{2+} или ТЭА, наоборот, вызывает увеличение длительности потенциала действия на уровне 50% и 75% реполяризации, но эффект одинаков как в случае гипертрофированного миокарда, так и при ложной операции. Удаление ионов Ca^{2+} из раствора Тироде мало влияло на длительность потенциала действия в обеих группах сердец. Ни одно из воздействий не оказывало достоверно различное влияние на потенциал покоя мем-

бран или амплитуду потенциала действия. Aronson [17] считает, что наиболее вероятная причина увеличения длительности потенциала действия в гипертрофированном миокарде крысы состоит в замедлении инактивации входящего тока, инактивируемого ионами Ca^{2+} . Это предположение предстоит доказать с помощью метода фиксации потенциала. Gulch также изучал влияние изменений внеклеточной среды на гипертрофированный миокард крысы (модель Гольдблатта) [63]. После угнетения быстрого натриевого тока либо тетродотоксином, либо деполяризацией, вызванной повышением внеклеточной концентрации K^{+} , либо путем снижения внеклеточной концентрации Na^{+} , длительность потенциала действия, увеличенная в гипертрофированном миокарде, так и остается увеличенной. Был сделан вывод, что натриевый ток не вносит существенного вклада в удлинение потенциала действия. Кроме того, в этой работе изучали влияние изменения внеклеточной концентрации Ca^{2+} на фоне ингибирования натриевой проницаемости, и было выдвинуто предположение, что и в гипертрофированном миокарде медленный входящий ток переносится в основном ионами Ca^{2+} . В результате этой работы [63] становится ясно, что удлинение потенциала действия является следствием либо увеличения медленного входящего тока (его фазический или установившийся компонент), либо уменьшения выходящего реполяризирующего тока (зависимый или независимый от времени). Такие результаты могут быть обусловлены изменениями максимальной проводимости одного из этих токов или всех вместе либо же это результат изменения кинетики работы каналов. Однако, если предположить, что происходит увеличение медленного входящего тока, то значительно труднее будет объяснить уменьшение силы сокращения. Наиболее вероятное объяснение заключается в изменении свойств калиевых каналов.

Недавно для решения этого вопроса был использован метод фиксации потенциала. Ten Eick с соавт. [54], применяя методику одноклеточной сахарозной щели, изучили в условиях фиксации потенциала трансмембранные ионные токи в тонкой папиллярной мышце, изолированной из правого желудочка сердца кошки, и сравнили интактное сердце с сердцем, подвергшимся перегрузке правого желудочка давлением в течение 5—7 мес. Их анализ показал, что при гипертрофии не происходит качественного изменения развития суммарного мембранного тока во времени, однако наблюдаются количественные изменения некоторых параметров, характеризующих суммарный ток и составляющие его компоненты. Амплитуда медленного входящего тока оказалась сниженной при всех уровнях мембранного потенциала, но ни его зависимость от потенциала, ни его спад во времени (скорость инактивации) не изменились. Данные о том, что при гипертрофии миокарда происходит уменьшение амплитуды медленного входящего тока [54], недавно были подтверждены Hemwall и Hauser [104] при помощи другого метода. Они обнаружили, что амплитуда и длительность медленного ответа, являющегося потенциалом действия, зависящим от ионов Ca^{2+} и влияния катехоламинов, в

гипертрофированном миокарде имели меньшие величины, чем в нормальном сердце. Развитие зависимого от времени калиевого тока с направленным наружу выпрямлением оказалось замедленным, и его амплитуда была меньше, чем в контроле, при всех значениях мембранного потенциала. Его зависимость от потенциала была, кроме того, сдвинута в сторону положительных потенциалов на 10 мВ [54]. Сдвиг вольт-амперной зависимости не способен полностью объяснить уменьшение этого компонента мембранного тока. Было обнаружено существенное изменение формы вольт-амперной кривой мгновенного фоновых тока, причем в области потенциалов от -30 до 0 мВ наклон кривой оказался отрицательным. Следует отметить, что если в нормальной папиллярной мышце сердца кошки и наблюдается внутрь направленное выпрямление мгновенного фоновых тока, об отрицательном наклоне в этой области потенциалов до сих пор сообщений не поступало [54, 105]. Тен Еиск с соавт. [54] предположили, что такие изменения входящих и выходящих мембранных токов, текущих при потенциалах на уровне фазы плато потенциала действия и фазы реполяризации, способны количественно объяснить снижение потенциала плато, замедление скорости реполяризации во время фазы 3 и увеличение длительности потенциала действия, которые зарегистрированы в гипертрофированном миокарде правого желудочка сердца кошки при высокой степени гипертрофии. Для подтверждения этой гипотезы необходимо осуществить компьютерное моделирование потенциала действия на основе данных, полученных методом фиксации потенциала. Хотя еще не ясно, до какой степени результаты, полученные на гипертрофированном миокарде кошки, применимы для гипертрофированного миокарда крысы, тем не менее полученные результаты [54] не подтверждают предположения о том, что удлинение потенциала действия обусловлено замедлением инактивации Саинактивируемого входящего тока, связанным с гипертрофией [17]. В действительности кинетика медленного входящего тока при гипертрофии не меняется. Однако данные, полученные на сердце кошки, подтверждают гипотезу о том, что в гипертрофированном миокарде проводимость, зависящая от ионов Ca^{2+} , например Ca^{2+} -зависимая калиевая проводимость, может быть ингибирована и ее кинетика замедлена.

В настоящее время практически ничего не известно о механизме, лежащем в основе сдвига зависимости калиевого тока, зависимого от времени, от потенциала, и появления участка отрицательного наклона вольт-амперной кривой для мгновенного фоновых тока. Ниже будут приведены некоторые соображения по этому вопросу. Ясен, однако, один момент: сдвиг вольт-амперной кривой для зависимого от времени калиевого тока нельзя объяснить изменением величины поверхностного заряда на внутренней или внешней поверхности мембраны потому, что если бы это было так, то можно было бы ожидать сдвига вольт-амперной кривой и для медленного входящего тока. Так как замедление скорости реполяризации во время фазы 3 становится сильнее по

мере увеличения степени гипертрофии, по крайней мере в сердце кошки, разумно предположить, что изменения выходящих реполярирующих токов, наблюдаемые в условиях фиксации потенциала, будут усиливаться с увеличением степени гипертрофии.

Для того чтобы исходя из влияния гипертрофии на какие-либо мембранные ионные токи вывести изменения относительных величин проницаемости мембраны, необходимо предположить, что трансмембранные градиенты концентраций ионов не изменяются ни вследствие экспериментальных воздействий, ни вследствие подачи фиксируемой ступеньки потенциала. Хорошо известно, что последнее предположение наверняка неверно, и имеются неопровержимые данные в пользу того, что при гипертрофии и сердечной недостаточности происходят также изменения градиентов концентраций ионов. В отношении ионов K^+ эти выводы были недавно подтверждены в работе Martin с соавт. [106].

В миокарде желудочков сердца крысы и собаки при перегрузке давлением происходят изменения содержания ионов и других веществ во внутриклеточной и внеклеточной жидкости [107, 108]. Martin с соавт. [106] изучали электрогенный натриевый насос в миокарде папиллярной мышцы сердца кошки при развитии сердечной недостаточности. Они отметили, что в таком препарате миокарда регистрируется более положительный потенциал покоя, чем в интактном миокарде, а когда мышцы охлаждаются, потенциал покоя в обеих группах падает по абсолютной величине до низкого уровня. Однако, если после 2 ч гипертермии мышцы снова нагреть до $37^\circ C$ в растворе, содержащем $10 \text{ mM } K^+$, то в интактном миокарде при нагревании наблюдается резкая гиперполяризация до -82 мВ , которая затем постепенно спадает и устанавливается на уровне -66 мВ . В отличие от нормального миокарда гипертрофированный миокард гиперполяризуется при нагревании в значительно меньшей степени. Установившееся значение потенциала покоя также достигается при -66 мВ . Авторы предположили, что в миокарде сердца кошки, в котором развилась недостаточность вследствие частичного пережатия легочных артерий, снижается электрогенность натриевого насоса. Эти данные могут быть объяснены и с помощью других гипотез. Например, может быть угнетен $Na^+ - K^+$ -обмен, или усилен электрогенный $Na^+ - Ca^{2+}$ -обмен. Короче говоря, эти данные довольно трудно интерпретировать.

Martin с соавт. [106] изучали изменения внеклеточной активности K^+ (a_o^k) в зависимости от частоты стимуляции в гипертрофированном миокарде. Для этого использовали ионно-селективные микроэлектроды и морфометрические методы. При стимуляции с высокой частотой величина a_o^k во внеклеточном пространстве сначала достигает некоторого максимума, а затем снижается к установившемуся значению. Этот процесс накопления ионов K^+ во внеклеточном пространстве происходил значительно медленнее в гипертрофированном миокарде, чем в интактном, а установившийся уровень концентрации K^+ , накапливающегося в межклеточном пространстве, был значительно выше.

Однако максимальная величина a_1^k , регистрируемая в препарате миокарда, выделенном из гипертрофированного сердца с признаками сердечной недостаточности, оказалась несколько меньше, чем в интактном миокарде. Эти результаты согласуются с обнаруженными ранее данными о различии изменений потенциала покоя, связанных с изменением частоты стимуляции, в неизменном и гипертрофированном миокарде. Наблюдаемые изменения активности K^+ объясняются увеличением объема межклеточного пространства в гипертрофированном миокарде и повышением нагрузки на Na^+/K^+ -насос. Эта гипотеза позволяет также объяснить наблюдаемое замедление развития выходящих реполяризирующих токов при фиксации потенциала в диапазоне потенциала плато, о чем сообщали Ten Eick с соавт. [54]. Если это так, то можно ожидать, что зависимый от времени выходящий ток, ответственный за накопление K^+ в межклеточном пространстве, будет иметь при гипертрофии большую амплитуду и будет развиваться медленнее. Предварительные данные (Ten Eick, неопубликованные данные) говорят о том, что результаты прямых измерений согласуются с предсказаниями.

При гипертрофии миокарда происходят также изменения расслабления мышцы. Например, Sarasso с соавт. [65] отметили, что увеличивается время до половины расслабления. Связь этого изменения сократительной активности с удлинением потенциала действия неясна. Расслабление в нормальном миокарде млекопитающих чувствительно к условиям нагрузки [109]. Недавно Le Carpentier с соавт. [110] показали, что в гипертрофированном миокарде желудочка сердца крысы происходит уменьшение максимальной скорости расслабления, которое развивается параллельно снижению максимальной скорости и величины укорочения. Однако при этом не наблюдается никаких изменений чувствительности процесса расслабления к нагрузке, даже на последней стадии застойной сердечной недостаточности. Авторы указывают на сохранение эффективности внутриклеточных Ca^{2+} -секвестрирующих систем, что позволяет поддерживать гомеостаз в отношении чувствительности расслабления к условиям нагрузки даже при перегрузке давлением.

ОБРАТИМОСТЬ ГИПЕРТРОФИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ

Вопросу обратимости изменений, возникающих в миокарде вследствие гипертрофии, было посвящено множество исследований. Было показано, что при снятии чрезмерной нагрузки давлением или объемом в гипертрофированном миокарде происходит быстрое обратное развитие изменений, вызванных гипертрофией. Регрессия может наблюдаться при снижении системной гипертензии, устранении дефекта межжелудочковой перегородки или хирургической коррекции недостаточности аортального клапана. Будет ли регрессия полной или частичной, по-видимому, зависит от степени гипертрофии, а также от возраста и общего состояния здоровья животного. После коррекции эксперименталь-

ной или клинической гемодинамической перегрузки сердца происходит полная регрессия гипертрофических изменений в миокарде желудочков, однако сократимость обычно полностью не восстанавливается. Последнее может быть связано с тем, что изменения, происходящие в соединительной ткани, по-видимому, не регрессируют так же легко, как изменения массы миокарда. Возможно, при гипертрофии происходят некоторые необратимые биохимические и структурные изменения.

Исследования на модели гипертрофии сердца кошки прояснили временные аспекты обратного развития гипертрофии правого желудочка после восстановления проходимости длительно пережатой легочной артерии [111]. Coulson с соавт. [112] отметили, что устранение перегрузки давлением приводит к восстановлению скорости укорочения и амплитуды силы сокращения до нормальных величин, несмотря на сохраняющееся истощение запасов катехоламинов в миокарде. Исследование влияния периодических перегрузок давлением на развитие гипертрофии правого желудочка сердца кошки показало, что регрессия гипертрофии является более медленным процессом, чем ее развитие [113].

Опубликовано очень небольшое количество данных, позволяющих оценить обратимость электрофизиологических изменений. Этот вопрос имеет прямое отношение к гипотезе о том, что изменения электрофизиологических свойств частично обуславливают изменения сократительной активности. Sarasso с соавт. [65, 114] оценили изменения электрофизиологических и механических параметров, происходящие при устранении перегрузки давлением, вызванной почечной гипертонией у крыс. Устранение стимула к гипертрофии заключается в хирургическом удалении левой почки у крыс, которые ранее перенесли операцию, заключающуюся в частичном сужении левой почечной артерии. Sarasso с соавт. [114] одновременно регистрировали механическую и электрическую активность миокарда папиллярных мышц, выделенных из гипертрофированных сердец и сердец после ложной операции. Аномалии механической и электрической активности, описанные ими в ранних работах, не наблюдались в мышцах, выделенных из сердец крыс, у которых на 10 нед было восстановлено нормальное артериальное давление после 10 нед гипертензии. Однако проблема еще далеко не выяснена. В одной работе на модели гипертрофии миокарда крысы было показано, что аномальные сократительные свойства сохраняются даже после полной регрессии гипертрофии, вызванной частичным сужением аорты на 5—15 дней [70]; кроме того, не до конца обратимы некоторые нарушения биохимических процессов [115].

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЧИНЫ СНИЖЕНИЯ СОКРАТИМОСТИ

Гипертрофия миокарда сопровождается (и вызывает) ряд событий на молекулярном уровне, которые в конечном итоге приводят к угнетению сократительной активности и изменению

электрофизиологических функций сарколеммы. Изменения электрофизиологических функций проявляются в изменении мембранного потенциала действия и трансмембранных ионных токов.

Исследование процесса электромеханического сопряжения методом фиксации потенциала в нормальном миокарде овцы [116, 117], быка [96] и кошки [118] показало, что по крайней мере одно из изменений потенциала действия и одно из изменений мембранного тока в гипертрофированном миокарде способно привести к снижению силы сокращения. На силу сокращения существенное влияние оказывают уровень потенциала плато и максимальная величина медленного входящего тока. Зависимости силы сокращения от этих двух параметров тесно взаимосвязаны. Уровень мембранного потенциала во время фазы плато потенциала действия сам по себе влияет на амплитуду медленного входящего тока, а амплитуда медленного входящего тока в свою очередь влияет на уровень потенциала плато; оба параметра влияют на процесс электромеханического сопряжения и определяют силу сокращения миокарда.

Кривая зависимости силы сокращения от мембранного потенциала в условиях фиксации потенциала имеет S-образную форму. Порог сокращения лежит около -60 мВ, и сокращение достигает максимума приблизительно между $+10$ и $+20$ мВ при использовании ступенек фиксируемого потенциала длительностью от 250 до 800 мс. Анализ зависимости механического напряжения от потенциала выявил, что любое значительное снижение уровня потенциала плато потенциала действия будет оказывать отрицательное инотропное действие. Если средний уровень потенциала плато снижен от 0 до -10 мВ, что, как мы указывали, вполне реально для высокой степени гипертрофии миокарда, то сила сокращения должна снизиться приблизительно на 15% от нормальной величины исходя из изменения потенциала и формы зависимости силы сокращения от мембранного потенциала. Однако уменьшение силы сокращения на 15% было заложено в предположении, что гипертрофия не влияет на зависимость силы сокращения от потенциала. Но такое предположение не может быть верно. Недавно Ten Eick с соавт. [54] определили зависимость силы сокращения от потенциала для папиллярных мышц выделенных из неизмененных и гипертрофированных правых желудочков кошек (рис. 25.4). Они обнаружили, что в диапазон потенциалов фазы плато кривая зависимости силы сокращения от мембранного потенциала проходит приблизительно на 10 мВ правее, чем кривая для нормального сердца.

Потенциал порога появления сократительного ответа мало изменяется при гипертрофии, однако максимум силы сокращения в гипертрофированном миокарде достигается при потенциале около $+30$ мВ. Такое смещение зависимости силы сокращения от мембранного потенциала на 10 мВ означает, что, даже если уровень потенциала плато и не изменяется при гипертрофии, сила сокращения все равно уменьшается на 15%. Если сложить 15% умень-

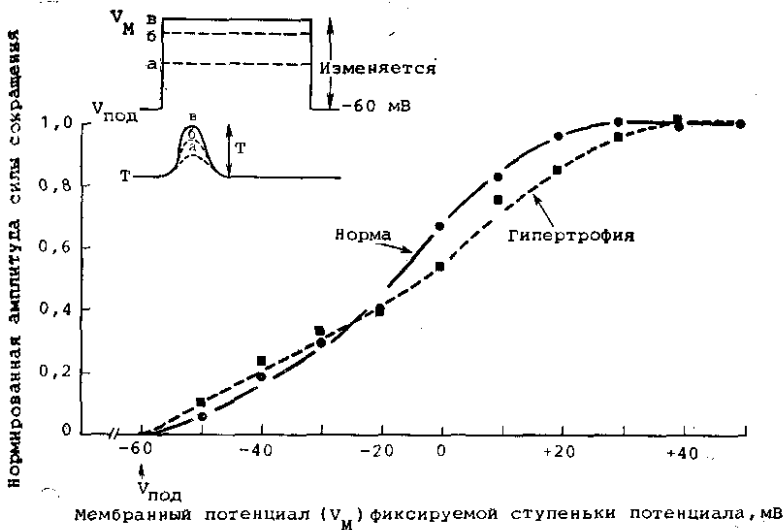


Рис. 25.1. Нормированные зависимости амплитуды силы сокращения от потенциала (сила сокращения по оси ординат отнесена к максимальной величине развиваемой силы).

Данные получены в условиях фиксации потенциала. Потенциал фиксировали в нескольких уровнях (по оси абсцисс, в мВ). На вставке показана серия регистраций силы сокращения при некоторых избранных уровнях фиксируемого потенциала (V_M), и видно постепенное изменение силы сокращения при изменении потенциала на мембране. Обратите внимание, что кривая для миокарда с гипертрофией правого желудочка сдвинута в сторону более положительных потенциалов без заметного изменения порога развития сокращения. (Займствовано с модификациями из работы [54].)

шение силы сокращения, обусловленное сдвигом зависимости силы сокращения от мембранного потенциала в сторону более положительных потенциалов, с 15% уменьшением силы сокращения вследствие снижения уровня потенциала фазы плато, то в результате уменьшение силы сокращения из-за изменений электрофизиологических свойств, вызванных гипертрофией, способно объяснить наличие заметного, функционально значимого снижения сократимости миокарда.

Если рассмотреть зависимость силы сокращения от длительности фазы плато потенциала действия, то можно предположить, что удлинение потенциала действия и снижение скорости реполяризации в связи с уменьшением выходящего реполяризирующего тока, обнаруженным в гипертрофированном миокарде, являются компенсирующими факторами, которые обеспечивают максимально возможную активацию процесса электромеханического сопряжения на том уровне потенциала фазы плато, который достигается в гипертрофированном миокарде. Учитывая уменьшение медленного входящего тока, благоприятным фактором является то, что реполяризирующий выходящий ток также уменьшается, так как в противном случае плато потенциала действия гипертрофи-

рованного миокарда было бы укорочено в большей степени, а сила сокращения была бы угнетена значительно сильнее.

Непонятен механизм, лежащий в основе сдвига кривой зависимости силы сокращения от мембранного потенциала на 10 мВ в положительную сторону. Однако это, по-видимому, не является результатом какого бы то ни было сдвига вольт-амперной зависимости для медленного входящего тока, так как нормированная вольт-амперная зависимость для этого тока, полученная в гипертрофированном миокарде, совпала с аналогичной зависимостью в интактном миокарде [54]. Интересно, что сдвиги зависимости задержанного калиевого тока с направленным наружу выпрямлением от потенциала и зависимости силы сокращения от потенциала оказались практически идентичны как по величине, так и по направлению [54]. Это позволяет предположить, что в основе этих сдвигов лежит некоторый общий механизм.

Можно предположить, что основной эффект гипертрофии заключается в уменьшении плотности медленного входящего тока. Это может быть результатом уменьшения числа активируемых медленных каналов на единицу площади сарколеммы (т. е. то же самое число каналов должно в гипертрофированных клетках обслуживать большую площадь мембраны) или снижения вероятности открывания медленных каналов в определенных условиях, вызванного гипертрофией. Может быть, здесь задействованы оба фактора. Уменьшение плотности медленного входящего тока, как ожидается, приведет к снижению ниже нормы числа ионов Ca^{2+} , освобождаемых из саркоплазматического ретикулума и являющихся активатором сокращения. Во-первых, плотность трансмембранного медленного входящего тока действительно меньше при гипертрофии, и, во-вторых, вследствие гипертрофии клеток и чрезмерной пролиферации мембран Т-тубул плотность медленного тока и соответствующее омическое падение потенциала, вызывающие освобождение Ca^{2+} -активаторов сокращения из саркоплазматического ретикулума, также должны уменьшаться. Именно вследствие второй причины можно ожидать уменьшения Ca^{2+} -зависимого компонента задержанного тока с наружу направленным выпрямлением и калиевого компонента мгновенного фонового тока с внутрь направленным выпрямлением. Сдвиг зависимости задержанного калиевого тока и силы сокращения от величины потенциала будет, следовательно, результатом того, что для максимального освобождения Ca^{2+} из удаленных отделов саркоплазматического ретикулума необходима более высокая разность потенциала на мембране гипертрофированной клетки. Таким образом, электрический сигнал (в виде потенциала или тока), генерируемый в процессе электромеханического сопряжения (в ходе потенциала действия) в гипертрофированном миокарде, даже если он имеет нормальную амплитуду, тем не менее будет восприниматься саркоплазматическим ретикулумом как сигнал с меньшей амплитудой, и значит, меньшее число ионов Ca^{2+} будет освобождаться из саркоплазматического ретикулума и в меньшей степени будут активироваться сократительные белки.

ВЫВОДЫ

Теп Eick с соавт. [54] утверждают, что при гипертрофии уменьшается амплитуда медленного входящего тока и зависимость силы сокращения от мембранного потенциала сдвигается в сторону положительных потенциалов. Что это может означать для работы сердца? Влияют ли эти изменения на работу сердца *in situ* с интактной симпатической иннервацией? Хорошо известно, что сократимость нормального сердца может существенно измениться в зависимости от уровня активности симпатической нервной системы, воздействующей на миокард. Кроме того, хорошо известно, что амплитуда медленного входящего тока может быть увеличена применением норадrenalина и других агонистов β -рецепторов. Следовательно, возникает вопрос, имеет ли угнетение медленного входящего тока при гипертрофии какое-либо значение, когда этот ток может быть существенно увеличен при действии катехоламинов на интактное сердце *in situ*. Ответ на этот вопрос пока не совсем ясен, и он может оказаться парадоксальным. Хорошо известно, что при гипертрофии стадии III согласно классификации Meerson в миокарде *in situ* происходит умеренное или значительное истощение запасов катехоламинов. Кроме того, в гипертрофированном миокарде число β -рецепторов также меньше нормы [119—121]. Этого не наблюдается в сердце при истощении запасов катехоламинов вследствие хронической симпатикотомии. В денервированном сердце число β -рецепторов увеличивается, и как электрическая, так и механическая активность миокарда становятся гиперчувствительными к действию катехоламинов. С другой стороны, в гипертрофированном миокарде кошки чувствительность к катехоламинам может быть снижена, если судить по их влиянию на силу сокращения и медленный входящий ток [104] (Теп Eick, неопубликованные данные). Сниженная чувствительность, по-видимому, отражает уменьшение числа β рецепторов, так как средство лиганда к рецептору либо не изменяется [120], либо увеличивается [121]. Все это говорит о том, что эффективность внешних по отношению к сердцу нейрогуморальных компенсаторных механизмов, модулирующих работу сердца, в гипертрофированном миокарде может быть уменьшена. Однако вследствие того, что влияние катехоламинов на медленный входящий ток, по-видимому, тесно связано с их влиянием на внутриклеточный уровень цАМФ, на поставленный выше вопрос пока нельзя дать окончательного ответа, пока не будет получена более полная информация относительно влияния гипертрофии на механизмы, сопрягающие активацию β -рецепторов, образование цАМФ и метаболизм, или медленный входящий ток и освобождение Ca^{2+} -активатора сокращения. Следует также учитывать возможное влияние уменьшения медленного входящего тока при гипертрофии на распространение возбуждения, так как для того, чтобы сокращение сердца было хорошо скоординировано, необходима хорошая координация электрического возбуждения сердца. Подробное обсуждение этого аспекта работы

сердца при гипертрофии выходит за рамки этой главы. Тем не менее читателю следует не забывать и об этом вопросе, так как он также имеет важное значение для гемодинамической функции гипертрофированного сердца и при сердечной недостаточности.

Какой бы механизм (или механизмы) ни лежал в основе изменений сократимости и электрофизиологических свойств гипертрофированного миокарда и независимо от того, являются ли эти механизмы общими для обоих типов изменений или нет, ясно, что любые попытки объяснить уменьшение сократимости при гипертрофии должны учитывать вклад эффектов от снижения уровня фазы плато и от сдвига зависимости силы сокращения от мембранного потенциала в развиваемую миокардом силу сокращения. Другими словами, влияние изменений электрофизиологических свойств кардиомиоцитов на сократимость необходимо учитывать при любых попытках объяснить снижение силы сокращения при гипертрофии, по крайней мере в случае модели гипертрофии сердца кошки с длительной перегрузкой давлением правого желудочка. Справедливость этих положений для сердца человека еще предстоит доказать.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Scheuer J., Tipton C. M. Cardiovascular adaptation to physical training. — Annu. Rev. Physiol., 1977, vol. 39, p. 224—251.
2. Muntz K. H., Goneyea W. J., Mitchell J. H. Cardiac hypertrophy in response to an isometric training program in the cat. — Circ. Res., 1981, vol. 49, p. 1092—1101.
3. Meerson F. Z. The myocardium in hyperfunction, hypertrophy and heart failure. — Circ. Res. (Suppl. 2), 1969, vol. 25, p. 1—163.
4. Wikman-Coffelt J., Parmley W. W., Mason D. J. The cardiac hypertrophy process: analyses of factors determining pathological vs physiological development. — Circ. Res., 1979, vol. 45, p. 697—707.
5. Rabinowitz M., Zak R. Mitochondria and cardiac hypertrophy. — Circ. Res., 1976, vol. 36, p. 367—376.
6. Zak R., Rabinowitz M. Molecular aspects of cardiac hypertrophy. — Annu. Rev. Physiol., 1969, vol. 41, p. 539—552.
7. Leyton R. A., Sonnenblick E. H. Ultrastructure of the failing heart. — Am. J. Mol. Sci., 1969, vol. 258, p. 304—327.
8. Bishop S. P., Cole C. R. Ultrastructural changes in the canine myocardium with right ventricular hypertrophy and congestive heart failure. — Lab. Invest., 1969, vol. 20, p. 219—229.
9. Lin H. L., Kotele K. V., Grimm A. F. Functional morphology of the pressure- and the volume-hypertrophied rat heart. — Circ. Res., 1977, vol. 41, p. 830—836.
10. Kawamura K., Konishi T. Symposium on function and structure of cardiac muscle. 1. Ultrastructure of the cell junction of heart muscle with special reference to its functional significance in excitation, conduction and to the concept of "disease of intercalated disc". — Jpn. Circ. J., 1967, vol. 31, p. 1533—1543.
11. Sekiguchi M. Electron microscopical observation of the myocardium in patients with idiopathic cardiomyopathy using endomyocardial biopsy. — J. Mol. Cell. Cardiol., 1974, vol. 6, p. 111—122.
12. Kawamura K., James T. N. Comparative ultrastructure of cellular junction in working myocardium and the conduction system under normal and pathologic conditions. — J. Mol. Cell. Cardiol., 1971, vol. 3, p. 31—60.
13. Page E., McCallister L. P. Quantitative electron microscopic description of heart muscle cells. — Am. J. Cardiol., 1973, vol. 31, p. 172—181.

1. *Meessen H.* Ultrastructure of the myocardium: its significance in myocardial disease. — *Am. J. Cardiol.*, 1968, vol. 22, p. 319—327.
2. *Wendt-Gallitelli M. F., Jacob R.* Time course of electron microscopic alterations in the hypertrophied myocardium of Goldblatt rats. — *Basic Res. Cardiol.*, 1977, vol. 72, p. 209—213.
3. *Goldstein M. A., Sordahl L. A., Schwarz A.* Ultrastructural analysis of left ventricular hypertrophy in rabbits. — *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1974, vol. 6, p. 265—273.
4. *Aronson R. S.* Characteristics of action potentials of hypertrophied myocardium from rats with renal hypertension. — *Circ. Res.*, 1980, vol. 47, p. 443—454.
5. *Tomanek R. J., Banister E. W.* Myocardial ultrastructure after acute exercise stress with special reference to transverse tubules and intercalated discs. — *Cardiovasc. Res.*, 1972, vol. 6, p. 671—679.
6. *Horwood D. M., Beznak M.* Fluid and electrolyte shifts relating cardiac hypertrophy with normal growth. — *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1971, vol. 49, p. 951—958.
7. *Anversa P., Loud A. V., Giacomelli F., Wiener J.* Absolute morphometric study of myocardial hypertrophy in experimental tension. II. Ultrastructure of myocytes and interstitium. — *Lab. Invest.*, 1978, vol. 38, p. 597—609.
8. *Weiner J., Giacomelli F., Loud A. V., Anversa P.* Morphometry of cardiac hypertrophy induced by experimental renal hypertension. — *Am. J. Cardiol.*, 1979, vol. 44, p. 919—929.
9. *Breisch E. A., Houser S. R., Carey R. A., Spann J. F., Bove A. A.* Myocardial blood flow and capillary density in chronic pressure overload of the feline left ventricle. — *Cardiovasc. Res.*, 1980, vol. 14, p. 469—475.
10. *Chetlin M. D., Rabinowitz M., McAllister H., Hoffman J. I. E., Bharati S., Lev M.* The distribution of fibrosis in the left ventricle in congenital aortic stenosis and coarctation of the aorta. — *Circulation*, 1980, vol. 62, p. 823—830.
11. *Gulch R. W.* The effect of chronic loading on the action potential of mammalian myocardium. — *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1980, vol. 12, p. 415—420.
12. *Rabinowitz M.* Protein synthesis and turnover in normal and hypertrophied heart. — *Am. J. Cardiol.*, 1973, vol. 31, p. 202—210.
13. *Schreiber S. S., Rothschild M. A., Oratz M.* Investigation into the cause of increased protein synthesis in acute hemodynamic overload. — In: *Recent advances in studies on cardiac structure and metabolism*, vol. 12/Ed. G. Rona, Y. Ito. Baltimore: University Park Press, 1978, p. 49—60.
14. *Sims J. M., Patzer B., Kumudavalli-Reddy M., Martin A. F., Rabinowitz M., Zak R.* The pathways of protein synthesis and degradation in normal heart and during development and regression of cardiac hypertrophy. — In: *Recent advances in studies on cardiac structure and metabolism*, vol. 12/Ed. G. Rona, Y. Ito. Baltimore: University Park press, p. 19—28.
15. *Ueda S., Nagai R., Yayahi Y.* Synthesis and enzymatic properties of myosin from hypertrophied and failing heart: difference in behavior of right and left ventricular free walls and interventricular septum. — In: *Advances in myocardiology*, vol. 1/Ed. M. Tajuddin, P. K. Das, M. Taring, N. S. Dhalla. Baltimore: University Park Press, 1980, p. 523—533.
16. *Scheuer J., Bahn A. K.* Adenosine triphosphatase activity and physiological function. — *Circ. Res.*, 1979, vol. 45, p. 1—12.
17. *Mercadier J. J., Lompre A. M., Wisniewsky C., Samuel J. L., Bercovici J., Swynghedauw B., Schwartz K.* Myosin isoenzymatic changes in several models of rat cardiac hypertrophy. — *Circ. Res.*, 1981, vol. 49, p. 525—532.
18. *Maugham D., Low E., Litten R. III, Brayden J., Alpert N.* Calcium activated muscle from hypertrophied rabbit hearts. — *Circ. Res.*, 1979, vol. 44, p. 279—287.
19. *Alpert N. R., Mulieri L. A.* Increased myothermal economy of isometric force generation in compensated cardiac hypertrophy induced by pulmonary artery constriction in the rabbit: a characterization of heart liberation in normal and hypertrophied right ventricular papillary muscles. — *Circ. Res.*, 1982, vol. 50, p. 491—500.
20. *Zimmer H. G., Ibel H., Steinkopff G.* Studies on the hexose monophosphate shunt in the myocardium during development of hypertrophy. — In: *Ad-*

A. F., Dowell R. T., Rudnik M., Arcilla R. A., Zak R. Regression of cardiac hypertrophy. I. Experimental model changes in heart weight, amino acids and collagens. — *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1975, vol. 7, p. 767—

W. R., Fozzard H. A. Voltage dependence and time dependence of calcium ion in sheep cardiac Purkinje fibers. — *Circ. Res.*, 1974, vol. 28, p. 460.

W. R., Fozzard H. A. Relationship between voltage and tension in sheep cardiac Purkinje fibers. — *J. Gen. Physiol.*, 1975, vol. 63, p. 345—

W. R., McDonald T. F., Tripathi O. Calcium conductance and tension in mammalian ventricular muscle. — *Pflügers Archiv.*, 1976, vol. 354, p. 460.

C., Limas C. J. Reduced number of beta-adrenergic receptors in the myocardium of spontaneously hypertensive rats. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1978, vol. 83, p. 710—714.

W. R., Funder J. W., Johnston C. I. Decreased cardiac beta-adrenergic receptors in deoxycorticosterone-salt and renal hypertensive rats. — *Circ. Res.*, 1979, vol. 45, p. 560—565.

P., Herzlinger H., Lai F. M., Tanikella T. A comparison of cardiac beta-adrenergic receptor number and affinity between aorta-coarctated and normotensive rats. — *Br. J. Pharmacol.*, 1981, vol. 74, p. 523.

Глава 26

ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЕМБРАНЫ МИОКАРДИАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ПРОЦЕССЕ ЭМБРИОГЕНЕЗА

Н. СПЕРЕЛАКИС (N. SPERELAKIS)

ВВЕДЕНИЕ

В процессе эмбрионального развития птиц и млекопитающих происходят существенные изменения физиологических свойств и ультраструктуры миокардиальных клеток. Например, в сердце куриного эмбриона значительно изменяются электрические свойства клеток желудочков сердца. Некоторые изменения свойств сердца у млекопитающих часто продолжаются и в постнатальном периоде. Они влияют на «поведение» и свойства миокарда на всех стадиях развития и дифференцировки. В связи с этим цель настоящей главы состоит в том, чтобы представить обзор и суммировать результаты исследований изменений свойств миокарда в процессе эмбриогенеза. Авторы постараются также привлечь внимание читателя к ряду обзоров, вышедших в последнее время, в которых суммированы данные об этих изменениях и вопрос изложен подробнее.

Изучение электрофизиологических свойств миокардиальных клеток эмбрионов полезно не только для выяснения изменений, происходящих при дифференцировке клеток, но и для решения ряда вопросов, важных для понимания электрофизиологического механизма работы сердца взрослых животных. Большая часть представленных данных получена при изучении сердца куриного эмбриона, хотя некоторые из них получены в эксперименте на миокарде эмбрионов млекопитающих. Для сравнения приведены результаты исследований на препаратах миокарда, выращенных в условиях культуры, и на культивируемых миокардиальных клетках. Поскольку на электрические свойства могут влиять изменения ультраструктуры и биохимии клеток, обсуждаются соответствующие морфологические и биохимические изменения.

ИНТАКТНОЕ СЕРДЦЕ IN SITU

Надсердечные участки бластодермы

Уже на ранней стадии развития (до одного сомита) в эмбрионе можно обнаружить клетки, из которых впоследствии сформируется сердце. Они мигрируют и скапливаются в двух симмет-

ричных областях, так называемых надсердечных участках мезодермы, расположенных в передней половине распластанной бластодермы на 16—17-й час развития (головной отросток) [1].

В эксплататах бластодермы и надсердечных участков через несколько дней развития в условиях культуры возникают спонтанные потенциалы действия (ПД) амплитудой около 50 мВ [2]. В условиях культуры в зародышом пузырьке развивается трубчатое сердце, спонтанно сокращающееся в течение нескольких дней, но дальнейшая дифференцировка в условиях *in vitro* не происходит. Надсердечный участок можно обработать трипсином, что облегчает механическое разделение его на три зародышевых листка. При выращивании надсердечной мезодермы (средний листок) в условиях культуры получают плотную массу клеток, спонтанно генерирующих ПД и сокращающихся [3]. Если из бластодермы 19-часового куриного эмбриона выделить постузловой участок (нижняя $\frac{1}{3}$ часть бластодермы) и поместить его в условия культуры, то обычно из него не развивается нормальная миокардиальная ткань. Если же его культивировать в присутствии обогащенной РНК фракции, полученной из сердца взрослой курицы, то в зародышом пузырьке формируется типичное, спонтанно сокращающееся, трубчатое сердце, т. е. то же, что наблюдают при культивировании надсердечного участка [4]. Было показано, что в сокращающихся клетках такого индуцированного сердца содержится некоторое количество миофибрилл. Кроме того, в нем возникают спонтанные ПД [5]. Таким образом, либо РНК, либо другое вещество, содержащееся в экстракте, полученном из сердца взрослой курицы, может, по-видимому, индуцировать клетки постузлового участка, в норме неспособные сформировать миокард и приобретающие при этом многие свойства миокардиальных клеток.

На следующей стадии эмбрионального развития *in situ* из предсердной мезодермы симметрично с двух сторон формируются трубчатые зачатки, затем сливающиеся и образующие сердце, состоящее из одной трубки. Это слияние начинается с переднего края и распространяется вниз по принципу застеежки-молнии, так что первый слившийся участок (желудочек) и сокращаться начинает в первую очередь; позднее ниже желудочка образуются предсердия. Трубочатое сердце начинает спонтанно сокращаться через 30—40 ч после начала развития (стадия 9—19 сомитов). Если сердце 2-дневного эмбриона разрезать на луковицу, желудочек и синоатриальный участок, то можно обнаружить, что для каждой области характерен определенный уровень автоматизма, причем самая высокая частота его наблюдается в синоатриальном участке.

Вскоре после возникновения автоматической активности трубчатое сердце начинает перекачивать кровь. На этом этапе давление ее очень низкое (1—2 мм рт. ст.), но по мере эмбрионального развития оно повышается, достигая 30 мм рт. ст. к 18-му дню, и продолжает повышаться в постэмбриональном периоде [6, 7]. Скорость распространения перистальтической волны сокраще-

ния по сердцу 3-дневного эмбриона составляет приблизительно 1 см/с [7].

Частота сердечных сокращений (ЧСС) куриного эмбриона увеличивается с 50 в 1 мин (1,5 дня) до максимума 220 в 1 мин (8-й день развития). Предполагается, что такое увеличение ЧСС может быть обусловлено постепенным повышением давления крови [7]. Зависимость ЧСС от температуры в процессе развития заметно ослабевает [7]. Величина Q_{10} уменьшается с 3,6 (3-й день) до 2,0 (18-й день развития) в том же диапазоне температур [8]. На графике в координатах Аррениуса в миокарде эмбрионов разного возраста в этой зависимости определяются разрывы в разных температурных диапазонах.

Покоящаяся мембрана и проницаемость ее для калия

Потенциал покоя. В процессе эмбрионального развития увеличивается абсолютный потенциал покоя (V_m), измеренный внутриклеточным микроэлектродом в желудочковом отделе сердца куриного и крысиного эмбрионов [9—15]. В сердце куриного эмбриона (табл. 26.1) самые большие изменения наблюдаются между 2-м и 7-м днем развития, а затем они происходят медленнее. Например, в сердце 2-дневного эмбриона средняя величина V_m составляет примерно -40 мВ, а к 3-му дню она достигает -54 мВ. На 12-й день развития потенциал покоя около -80 мВ,

Таблица 26.1. Результаты, полученные при анализе кривых зависимости V_m от $\log[K^+]_o$ и при измерении входного сопротивления ($r_{вх}$) в миокарде желудочков сердца куриного эмбриона на разных стадиях развития

Возраст эмбриона, дни	V_m , мВ	Угол наклона, мВ при 10-кратном изменении концентрации	Экстраполяция $[K^+]_i$, ммоль	E_K , мВ	P_{Na}/P_K	$r_{вх}$, Мом
2	-40	30	125	-100	0,21	13,0
3	-51	40	130	-101	0,17	8,5
4	-57	45	140	-103	0,08	6,5
5-6	-58	50	130	-101	0,08	5,5
7-9	-71	51	145	-104	0,07	5,5
11-13	-80	53	145	-104	0,07	4,7
14-20	-78	52	155	-106	0,05	4,5

Величины потенциала покоя (V_m) даны для $[K^+]_o = 2,7$ ммоль. В качестве угла наклона приведена средняя величина его между 10 и 100 ммоль $[K^+]_i$ рассчитываемая путем экстраполяции аппроксимирующих кривых до уровня нулевого потенциала. Отношение P_{Na}/P_K определяли с помощью уравнения Гольдмана для постоянного поля при каждом уровне $[K^+]_o$, при котором измеряли, а затем усредняли все измерения, полученные в данном опыте. Иногда отношение P_{Na}/P_K в сердце эмбриона на поздней стадии развития (14—20 дней) уменьшалось до 0,02 (данные из Фабот [13] и [49]). Аналогичный угол наклона и $[K^+]_i$ получены Раррано [17] в тканях предсердия куриного эмбриона в возрасте 4, 6 и 12 дней; на 18-й день они составляли 53 мВ при 10-кратных изменениях концентрации и 125 ммоль соответственно.

т. е. почти тот же, что в миокарде половозрелой курицы. Как обсуждается далее, значительное увеличение V_m в первые дни развития может быть обусловлено преимущественно увеличением проницаемости калия (P_K), а не калиевого равновесного потенциала (E_K) (или $[K^+]_i$). Однако некоторые исследователи [2] зарегистрировали в миокарде эмбриона на ранней стадии развития более высокий абсолютный потенциал покоя и считают, что изменения его в процессе развития не столь велики, как сообщалось ранее. Регистрацию низкого V_m они объяснили утечкой тока вблизи кончика микроэлектрода вследствие плохого заживления мембраны вокруг него (этот эффект более выражен в клетках, обладающих высоким входным сопротивлением).

Кривые зависимости потенциала покоя от $[K^+]_o$. Связь между V_m и внеклеточной концентрацией K^+ ($[K^+]_o$) была определена в эксперименте с миокардом эмбрионов разного возраста [14, 16]. Данные, полученные на миокарде 3, 5 и 15-дневного эмбрионов, представлены на рис. 26.1. Концентрацию внутриклеточного калия ($[K^+]_i$) определяли, экстраполируя к нулевому потенциалу. Результаты варьировали от 125 ммоль (2-й день) до 155 ммоль (14—20-й день развития) (см. табл. 26.1). На рис. 26.1 представлены также теоретические кривые, рассчитанные по уравнению Гольдмана для постоянного поля (на вставке), для пяти отношений P_{Na}/P_K : 0,001, 0,01, 0,05, 0,1 и 0,2. При расчетах предполагалось, что $[Na^+]_i$ составляет 30, а $[K^+]_i$ — 150 ммоль. Экспериментальные точки для сердца 3-дневного эмбриона совпадают с таковыми на теоретической кривой при $P_{Na}/P_K=0,2$, для 5-дневного — при $P_{Na}/P_K=0,1$, а для 15-дневного находятся на кривых с P_{Na}/P_K между 0,05 и 0,01. Эти данные свидетельствуют о том, что на раннем этапе эмбрионального развития P_{Na}/P_K велико, что и объясняет в клетках низкий потенциал покоя, т. е. низкий абсолютный V_m не связан с очень малой внутриклеточной концентрацией K^+ (и E_K). Как показано на рис. 26.1, в процессе эмбрионального развития расчетная величина E_K увеличивается незначительно: приблизительно от -100 мВ (2-й день) до -106 мВ (14—20-й день развития). Таким образом, в сердце эмбриона на ранней стадии развития потенциал покоя заметно отличается от E_K вследствие большого значения отношения P_{Na}/P_K . В этом смысле миокардиальные клетки эмбрионов на ранней стадии развития напоминают клетки синоатриального узла сердца половозрелого животного.

В сердце куриного эмбриона на поздней стадии развития и у половозрелой курицы кривая зависимости V_m от $[K^+]_o$ практически линейна при $[K^+]_o$, превышающей 10 ммоль с наклоном, приближающимся к теоретическому (61 мВ при 10-кратном изменении концентрации, согласно уравнению Нернста). Если бы наклон точно соответствовал 61 мВ при 10-кратном изменении концентрации, то V_m был бы равен E_K и мембрана была бы проницаема только для K^+ . Данные, приведенные на рис. 26.1 и в табл. 26.1, свидетельствуют о том, что наклон кривых для сердца эмбриона в возрасте 7—20 дней равен 51—53 мВ при 10-кратном

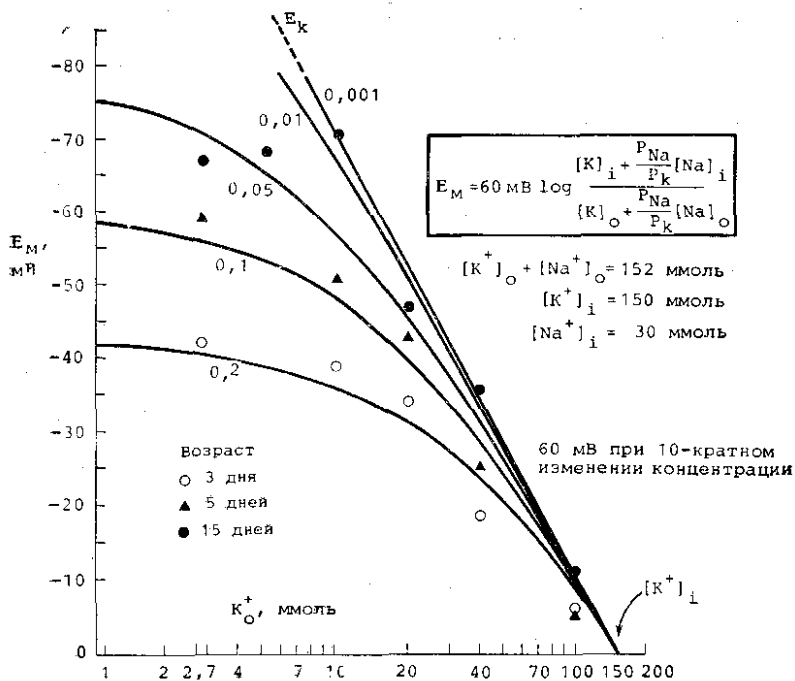


Рис. 26.1. Зависимость потенциала покоя (E_m) сердечной мышцы куриного эмбриона разных возрастов от $[K^+]_o$ в логарифмических координатах. Уровень $[K^+]_o$ повышали путем замены части Na^+ эквимолекулярным количеством K^+ . Непрерывные линии получены путем теоретических расчетов уравнения постоянного поля (на вставке) для отношений P_{Na}/P_K , равных 0,001; 0,01; 0,05; 0,1 и 0,2. Величины $[K^+]_i$ и $[Na^+]_i$, использованные для расчетов, показаны под вставкой. Для $P_{Na}/P_K=0,001$ зависимость представляет собой прямую линию во всем диапазоне с наклоном 60 мВ при десятикратном изменении концентрации, т. е. мембрана ведет себя как чисто калиевый электрод. Символами обозначают данные, получаемые при исследовании миокарда куриного эмбриона в типичных условиях инкубации. Результаты эксперимента с эмбрионом в возрасте 3 дней аппроксимируются кривой с $P_{Na}/P_K=0,2$, 5 дней — $P_{Na}/P_K=0,1$, 15 дней — находятся между 0,01 и 0,05. Активность внутриклеточного калия ($[K^+]_i$), рассчитанная путем экстраполяции к нулевому потенциалу, практически одинакова у эмбрионов всех возрастов (цитировано по [13]).

изменении концентрации, в то время как средний наклон кривых (они не имеют линейного участка) для сердец эмбрионов в возрасте 4, 3 и 2 дней равен соответственно 46, 40 и 30 мВ при 10-кратном изменении концентрации. Аналогичные результаты получены для $[K^+]_i$ и расчета наклона кривых в миокардиальных клетках предсердий куриного эмбриона на разных стадиях развития [17].

Сопротивление мембраны. Для того чтобы выяснить причину больших значений отношений P_{Na}/P_K мембраны миокардиальных клеток куриного эмбриона (вследствие высокой проницаемости для Na^+ или низкой проницаемости для K^+), было рассчитано входное сопротивление ($r_{вх}$) при учете вольт-амперных зависимо-

стей для установившихся условий. Величина g_{K^+} в миокардиальных клетках желудочков сердца 2-дневного эмбриона имеет довольно высокое значение (13 МОм), но затем оно быстро уменьшается, достигая на 14-й день развития своего конечного значения, характерного для половозрелой курицы (4,5 МОм) (см. табл. 26.1). Если предположить, что за это время средний размер клеток или степень электрического сопряжения между ними не изменяется, то большая величина g_{K^+} означает, что сопротивление мембраны (R_m) миокардиальных клеток эмбрионов на ранней стадии развития также должно быть высоким. Последнее обстоятельство согласуется с предположением о низкой калиевой проводимости и проницаемости мембраны для K^+ . Эти результаты свидетельствуют о том, что отношение P_{Na}/P_K мембраны миокардиальных клеток сердца эмбриона на ранней стадии развития имеет большую величину из-за низкой P_K , а не из-за высокой P_{Na} .

С предположением о низкой P_K согласуются данные о том, что хронаксия в миокарде эмбрионов на ранней стадии развития (2-й день) приблизительно в 4 раза больше, чем в миокарде 9—16-дневного эмбриона [9]. Это указывает на то, что в первом случае постоянная времени мембраны приблизительно в 4 раза больше, и если емкость ее не изменяется, то в 4 раза больше должно быть и ее сопротивление.

Carmeliet с соавт. [18], измеряя потоки $^{42}K^+$, определили, что P_K мембраны миокардиальных клеток эмбриона в возрасте 6—8 дней в 2—3 раза меньше, чем у эмбриона в возрасте 18—20 дней. Это согласуется с выводами, полученными на основе изучения электрических параметров. (Следует заметить, что эти авторы сообщают о том, что рассчитанная для мембраны кардиомиоцитов 3—5-дневных эмбрионов P_K примерно соответствует P_K у эмбрионов в возрасте 18—20 дней, а это противоречит результатам электрофизиологических измерений.) Однако они не учитывали спонтанные сокращения и ПД, вызывающие увеличение потока K^+ в сердце 3—5-дневного эмбриона, что могло обусловить завышение величины P_K в их расчетах. В сердце 7-дневного эмбриона P_K составляет $13,2 \cdot 10^{-8}$ см/с, а у 19-дневного — приблизительно $27,5 \cdot 10^{-8}$ см/с (при $[K^+]_o$ порядка 2,5—5,0 ммоль). При $[K^+]_o$, равной 0 ммоль, P_K значительно уменьшается. Отношения P_{Na}/P_K , рассчитанные с помощью уравнения постоянного поля, составили 0,018 и 0,037 соответственно для сердца 19-дневного и 7-дневного эмбриона. Величина P_{Na} , рассчитанная при учете уровня P_K и P_{Na}/P_K , не изменяется в ходе эмбрионального развития (P_{Na} постоянна и составляет $0,50 \cdot 10^{-8}$ см/с).

Чувствительность к повышению $[K^+]_o$. Поскольку на ранней стадии развития эмбриона кривая зависимости потенциала покоя от $\log [K^+]_o$ идет более полого при низкой $[K^+]_o$, т. е. миокардиальные клетки меньше деполяризуются при заданном повышении $[K^+]_o$ (см. рис. 26.1), последнее должно оказывать меньшее влияние на сердце. В эксперименте было подтверждено, что на ранней стадии развития сердце менее чувствительно к повышению $[K^+]_o$.

чем на поздней стадии [13, 19]. Это справедливо как в отношении угнетения автоматической активности целого сердца, так и для потери возбудимости миокарда желудочков при электрической стимуляции [13]. Автоматизм и возбудимость миокарда 2-3-дневного эмбриона полностью угнетаются при увеличении $[K^+]_o$ до 25 ммоль, в то время как в миокарде 14-20-дневного эмбриона угнетение достигается при увеличении концентрации K^+ до 15 (подавление автоматизма) или до 20 ммоль (подавление возбудимости). При любом возрасте эмбриона угнетающее действие увеличения $[K^+]_o$ на автоматизм начинает проявляться, когда его концентрация достигает 12 ммоль.

Отсутствие влияния ацетилхолина на R_K . Миокардиальные клетки желудочков у эмбрионов на ранней стадии развития не гиперполяризуются при действии ацетилхолина (Ацх), несмотря на то, что теоретически возможна очень сильная гиперполяризация, так как потенциал покоя значительно выше E_K [13]. Следовательно, Ацх, скорее всего, не вызывает существенного увеличения R_K мембраны миокардиальных клеток желудочков. В миокарде желудочков у эмбриона на поздней стадии развития Ацх также практически не уменьшает длительность ПД, в то время как ПД предсердных клеток существенно укорачивается. Последние у эмбрионов на ранней стадии развития несколько деполяризуются при действии Ацх в обычном растворе и слабо гиперполяризуются в безнатриево-м растворе, что свидетельствует об увеличении под влиянием Ацх проницаемости мембран как для Na^+ , так и для K^+ [17, 20, 21]. Parano [17] считает, что некоторая гиперполяризация, вызываемая Ацх в безнатриево-м растворе, согласуется с низкой R_K , т. е. в мембране имеется лишь небольшое количество калиевых каналов, которые могут быть открыты при действии Ацх.

Активность (Na^+, K^+) -АТФазы

В сердце эмбрионов на ранней стадии развития удельная активность (Na^+, K^+) -АТФазы очень низка и увеличивается в процессе эмбриогенеза [22]. Средняя активность на 4-й день развития составляет 35% от активности на 16-й день [выход неорганического фосфата (Φ_n) равен $7,4 \pm 0,7$ моль/г на 1 г белка], на 8-й день — 42%, на 9-й день — 57%, на 13-й день — 77%. Активность фермента максимальна на 20-й день (около 144% по сравнению с 16-м днем). Уровень активности в сердце половозрелой курицы равен наблюдаемому в сердце 16-дневного эмбриона.

Таким образом, по мере увеличения R_K в процессе эмбрионального развития, а значит, и увеличения пассивной утечки K^+ в выходящем направлении и утечки Na^+ во входящем (вследствие увеличения электрохимической движущей силы), соответственно повышается мощность Na^+/K^+ -насоса, т. е. увеличение мощности насоса стремится компенсировать повышение требований к нему вследствие увеличения утечки катионов. Однако мощность насоса клеток сердца эмбрионов на ранней стадии раз-

вития должна быть достаточна для поддержания относительно большой $[K^+]_i$ и низкой $[Na^+]_i$.

Если миокардиальные клетки желудочка сердца 16-дневного эмбриона поместить в условия монослойной культуры клеток, то удельная активность (Na^+, K^+) -АТФазы уменьшается более чем в 3 раза [23]. Низкая мощность Na^+/K^+ -насоса клеток в условиях культуры согласуется с тем, что обычно в них наблюдаются низкая проницаемость мембраны для K^+ и некоторое уменьшение $[K^+]_i$ [22].

Ионный состав

Натрий. При анализе электролитного состава ткани желудочков сердца куриного эмбриона было выявлено, что общий уровень Na^+ в миокарде эмбрионов на ранней стадии развития очень высок, но до 13-го дня постепенно снижается, после чего остается постоянным [10, 24]. Скорость обмена Na^+ при этом очень низка, но постепенно увеличивается, достигая 70% от уровня у птенцов, готовых вылупиться. Таким образом, в миокарде эмбрионов на ранней стадии развития может содержаться большое количество связанного Na^+ , включая находящийся в ядре [25] и во внеклеточном (субэндокардиальном) мукополисахаридном геле, играющем роль клапанов [26]. Данные электрофизиологических исследований [10, 13] свидетельствуют о том, что внутриклеточная концентрация свободных, термодинамически активных, Na^+ не должна быть исключительно высокой, так как овершут ПД, зависящий от входа Na^+ , в миокарде 2-дневного эмбриона составляет +11 мВ; он быстро увеличивается, достигая у 8-дневного эмбриона 28 мВ; эта же величина характерна для овершута в миокарде половозрелой курицы. McDonald и De Naap [14] сообщили о том, что уровень Na^+ в миокарде куриного эмбриона не изменяется в процессе его развития. Согласно данным Carmeliet с соавт. [18], $[Na^+]_i$ составляет 16 ммоль в миокарде 7-дневного и 15 ммоль в миокарде 19-дневного эмбриона. Harsch и Green [27] сообщили, что между 8-м и 18-м днем развития $[Na^+]_i$ остается практически постоянной (23—28 ммоль). Таким образом, внутриклеточная концентрация свободных ионов натрия в миокарде эмбрионов на ранней стадии развития, скорее всего, относительно невелика.

Внеклеточное пространство; хлор. В процессе развития сердца куриного эмбриона происходит уменьшение внеклеточного пространства. Показано, что инулиновое пространство уменьшается с 39% на 8-й день до 19% на 18-й день [27]. Внеклеточное пространство, измеренное с помощью комплекса радиоактивного хрома с ЭГТА, составило 34% на 6—8-й день развития и 27% на 18—20-й день [18].

Уровень внутриклеточных Cl^- на 8—18-й день развития составляет 36—45 ммоль [27]. Эти цифры слишком велики для того, чтобы соответствовать потенциалу покоя (от -70 до -80 мВ), если Cl^- распределяются пассивно. Однако пока нет убедительных доказательств в пользу существования Cl^- -насоса в мембране миокардиальных клеток [28].

Калий. Показано, что уровень K^+ в сердце куриного эмбриона в процессе развития постепенно повышается с 68 ммоль/кг на 2-3-й день развития до постоянного, равного 86 ммоль/кг на 13-й день [24]. Однако существует предположение о том, что рассчитанная $[K^+]_i$ может реально уменьшаться со 145 ммоль на 8-й день до 91 ммоль на 18-й день [27]. McDonald и De Naap [14] сообщили также, что $[K^+]_i$ уменьшается с 167 на 2-й день до 118 ммоль на 14—18-й день развития, а Carmeliet с соавт. [18] рассчитали, что $[K^+]_i$ составляет 151 на 6—8-й день и 122 ммоль на 18—20-й день развития куриного эмбриона. Данные электрофизиологических исследований (зависимость V_m от $\log [K^+]_o$) свидетельствуют о том [13], что на 2-й день развития $[K^+]_i$ равна приблизительно 125 ммоль, а затем к 14—20-му дню постепенно увеличивается до 155 ммоль (см. табл. 26.1). Рассчитанное E_K увеличивается по абсолютной величине с -100 мВ на 2-й день до -106 мВ на 14—20-й день (см. табл. 26.1). Parrano [17] обнаружил большую $[K^+]_i$ в клетках предсердия у 4-дневного куриного эмбриона. Таким образом, $[K^+]_i$ в миокарде эмбрионов уже на ранней стадии развития большая, поэтому механизм транспорта катионов в миокардиальных клетках должен быть активирован ранее 2-го дня развития.

Потенциал электрогенного насоса

В клеточной мембране существует электрогенный насос, поддерживающий на необходимом уровне градиенты концентраций Na^+ и K^+ по отношению к клеточной мембране. Этот насос электрогенен в том случае, если отношение количества Na^+ , выводимых из клетки за один цикл, к количеству K^+ , вводимых в клетку, превышает 1. При этом условии работа насоса вызывает разность потенциалов ($V_{эн}$), играющую определенную роль в измеряемом потенциале покоя, составляющем обычно 2—15 мВ в зависимости от типа клетки и физиологических условий (см. обзоры Thomas [29] и Sperelakis [28]). Такой потенциал электрогенного натриевого насоса продемонстрирован в различных участках сердца [30—35].

Изучая ионные потоки, Lieberman с соавт. [36] обнаружил, что натриевый насос в культивируемых миокардиальных клетках куриного эмбриона (возраст 11 дней) электрогенен. Pelleg и соавт. [37] зарегистрировали потенциал электрогенного насоса, равный нескольким милливольтам, в культивируемых реагрегатах миокардиальных клеток, выделенных из куриного эмбриона как на ранней (3 дня), так и на поздней (16 дней) стадии развития. Потенциал увеличивался после периода высокочастотной стимуляции. Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что электрогенный транспорт существует уже на ранней стадии эмбрионального развития и механизм этот сохраняется в условиях *in vitro*. Если $[Na^+]_i$ на ранней стадии развития несколько выше, чем на поздней стадии, и если коэффициент сопряжения насоса (Na^+/K^+) зависит от $[Na^+]_i$, то следует ожидать, что на ранней

стадии развития величина $V_{эн}$ будет больше, особенно если учесть более высокое сопротивление клеточной мембраны. Однако это не доказано экспериментально. Тот факт, что в миокардиальных клетках на ранней стадии развития не удалось зарегистрировать $V_{эн}$ большой величины, можно объяснить более низкой плотностью насосных комплексов в клеточной мембране кардиомиоцитов.

Гиперполяризация и угнетение автоматизма после высокочастотной стимуляции

Если миокардиальные клетки, обладающие автоматизмом, стимулировать с частотой, превышающей их естественный ритм, то после окончания стимуляции возникает кратковременная пауза, после которой спонтанный ритм постепенно возвращается к исходному уровню [32, 37]. Такое явление угнетения автоматизма после стимуляции с высокой частотой (*overdrive suppression*) представляет собой результат небольшой кратковременной гиперполяризации в несколько милливольт. Она и служит причиной угнетения автоматизма. Vassalle [32] показал, что гиперполяризация обусловлена стимуляцией электрогенного Na^+ -насоса и увеличением генерируемого им потенциала, что, скорее всего, относится к результату увеличения $[Na^+]_i$ и $[K^+]_o$ при стимуляции с высокой частотой. Высокая частота следования ПД во время частой стимуляции способствует увеличению входящего потока Na^+ и выходящего потока K^+ , так что мощность Na^+/K^+ -насоса оказывается недостаточной для поддержания градиентов концентраций ионов, вследствие чего $[Na^+]_i$ и $[K^+]_o$ увеличиваются. Это в свою очередь вызывает повышение активности Na^+/K^+ -насоса и, возможно, увеличение коэффициента сопряжения Na^+/K^+ -насоса, что приводит к увеличению $V_{эн}$ и гиперполяризации.

Явление угнетения автоматизма после стимуляции с высокой частотой наблюдали в интактном сердце 3-дневного эмбриона (до развития иннервации сердца), что объясняют высвобождением из миокардиальных клеток Ацх-подобного вещества [38]. Однако Pelleg и соавт. [37] недавно показали, что гиперполяризация и угнетение автоматизма в этих условиях, наблюдаемые в культуре вируемых миокардиальных клетках (предсердия и желудочка), изолированных из сердца куриного эмбриона любого возраста, блокируются оубаином и нечувствительны к воздействию атропина. Эти результаты подтверждают предположение о том, что упомянутые эффекты определяются стимуляцией электрогенного насоса. Кроме того, это означает, что в миокардиальных клетках эмбрионов на ранней стадии развития Na^+/K^+ -насос электрогенен.

Автоматизм

Для развития автоматической активности необходима низкая проводимость: а) хлора (g_{Cl}), что обычно справедливо в отношении миокардиальных клеток, и б) калия g_K . Низкая g_K увеличи-

Таблица 26.2. Относительное число сердец (%), в которых выявляются пейсмерные и гиперполяризующие следовые потенциалы (результаты получены при изучении кардиомиоцитов желудочков сердца куриного эмбриона на разных стадиях развития)

Возраст эмбриона, дни	Гиперполяризующие следовые потенциалы интактные сердца	Пейсмерные потенциалы	
		интактные сердца	изолированные препараты желудочков
2—3	81	80—100	100
4	63	60—100	100
7	38	20—40	100
10	0	0	100
12	0	0	0
17	0	0	0
20	0	0	0
27	0	0	0

Обычно если в клетках выявлялись пейсмерные потенциалы, то в них можно было обнаружить и гиперполяризующие следовые потенциалы, обратное же выявлялось не всегда [13, 49, 131, 132].

наст индуктивность мембраны, включенную последовательно с K^+ -каналами особого типа (каналы с аномальным направленным внутрь выпрямлением), что способствует возникновению осцилляций V_m). Вследствие низкой g_K потенциал покоя смещается в сторону положительного (т. е. V_m еще больше удаляется от E_K) и попадает в диапазон потенциалов, в котором спонтанные колебания его поддерживаются длительное время.

В процессе эмбрионального развития значительно изменяется и автоматическая активность, что можно предсказать исходя из изменений R_K . В сердце эмбрионов на ранней стадии развития довольно часто наблюдаются следовые гиперполяризации (в 80—100% случаев), однако на поздних стадиях процент таких случаев уменьшается до 0 (табл. 26.2) [13]. Если выделить часть миокарда желудочка, чтобы изолировать его от водителя ритма, то до 10-го дня эмбрионального развития в 100% случаев наблюдаются пейсмерные потенциалы, а после 12-го дня и позднее процент таких случаев уменьшается до 0 (см. табл. 26.2 и рис. 26.2). Эти результаты свидетельствуют о том, что клетки миокарда желудочков обладают способностью к автоматической активности на ранней стадии эмбрионального развития, но эта способность теряется с возрастом.

Однако клетки миокарда желудочков эмбриона на поздней стадии развития снова приобретают способность к автоматической активности, если их обработать трипсином и поместить в условия монослойной культуры клеток. Например, клетки миокарда желудочков, выделенные из сердца 16-дневного куриного эмбриона и растущие в условиях монослоя, обычно снова приобретают электрические свойства кардиомиоцитов эмбриона ранней стадии развития, включая способность к автоматизму [13]. Однако если позволить клеткам реагировать с образованием небольших сфер,

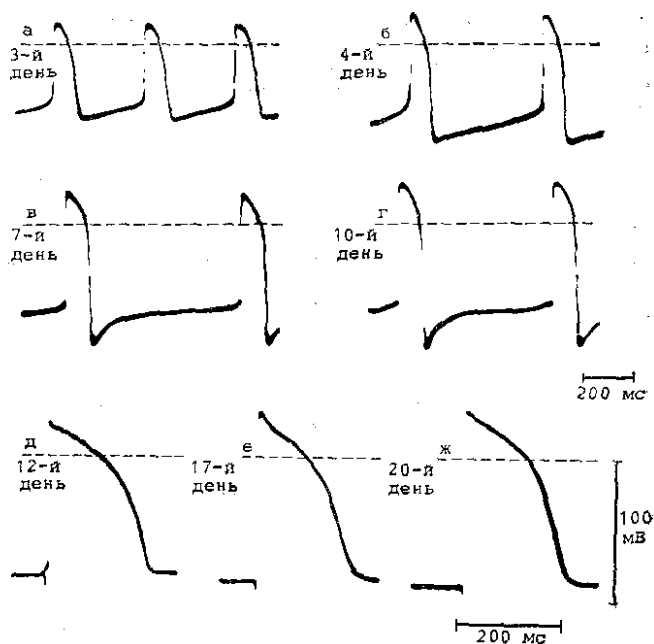


Рис. 26.2. Электрическая активность желудочковой мышцы сердца куриного эмбриона разных сроков инкубации.

В миокарде эмбрионов на 3-й, 4-й, 7-й и 10-й дни инкубации (а—г) каждому потенциалу действия предшествует медленная диастолическая (пейсмерная) деполяризация; максимальные скорость нарастания и величина диастолического потенциала не менялись при выделении мышцы из интактного сердца; выделенные фрагменты спонтанно сокращались. Желудочковая мышца, выделенная из сердца эмбриона на 12-й день инкубации и позднее (д—ж), не обладает автоматической активностью; в мышце, выделенной из сердца эмбрионов на 12-й, 17-й и 20-й дни инкубации при помощи электрической стимуляции полем (видны артефакты стимула) удается вызвать потенциалы действия с высокой скоростью переднего фронта (аналогичные регистрируемые в интактном сердце эмбриона соответствующего возраста). Калибровка времени относится к записи на фрагментах а—г, а калибровка на фрагментах ж—и—к записям на д—ж (в модификации по [49]).

то они часто вновь приобретают электрические свойства, характерные для высокого уровня дифференцировки, включая исчезновение автоматизма [39, 40]. Некоторые регенераты сохраняют автоматическую активность, даже если их ПД нарастают относительно быстро, фронт их чувствителен к тетродотоксину (ТТХ). Восстановление автоматической активности клеток в условиях культуры, по-видимому, отражает уменьшение P_K [41—43]. В некоторых случаях мембраны одиночных изолированных клеток миокарда желудочков в условиях культуры отличаются столь низкой P_K , что они оказываются слишком деполяризованными, чтобы обладать автоматизмом или возбуждаться при стимуляции [44]. Однако если такие клетки гиперполяризовать путем пропускания через них тока, то в них возникают спонтанные ПД и сокращения [44].

Выдвинуто предположение, что механическое растяжение стенок трубчатого сердца эмбриона на ранней стадии развития

вследствие постепенного повышения давления и объема циркулирующей крови может иметь определенное значение для инициации сокращений и постепенного увеличения частоты сердечных сокращений в процессе развития [45]. Однако эту точку зрения трудно согласовать с другими фактами, как то: а) надсердечный участок бластодермы куриного эмбриона способен *in vitro* сформировать спонтанно сокращающиеся сердцеподобные трубки, пузырьки или кластеры клеток [2, 4, 5, 46, 47] без какого бы то ни было увеличения внутрисердечного давления и б) восстановление автоматической активности одиночных изолированных миокардиальных клеток и кардиомиоцитов в монослойной культуре.

Изменения потенциала действия

Скорость нарастания и овершут. В процессе эмбрионального развития потенциалы действия (ПД) миокардиальных клеток *in situ* постепенно изменяются [13, 48, 49], что показано на рис. 26.3. Заметно увеличиваются максимальная скорость нарастания ($+\dot{V}_{\text{макс}}$) (см. рис. 26.3 и 26.4) и овершут ПД (см. рис. 26.3), а также потенциал покоя, который становится все более отрицательным. На 2-й день развития овершут в среднем составляет +14 мВ и в течение последующих нескольких дней постепенно повышается, достигая к 8-му дню максимума (+28 мВ). Длительность ПД на уровне 50% реполяризации изменяется мало и в среднем составляет 110 мс. Временное увеличение $+\dot{V}_{\text{макс}}$ не совпадает с увеличением абсолютной величины V_m , изменения последнего на несколько дней опережают изменения $+\dot{V}_{\text{макс}}$. В сердце эмбриона на ранней стадии развития довольно часто можно встретить клетки, обладающие довольно глубоким потенциалом покоя, но $+\dot{V}_{\text{макс}}$ в них невелик.

Потенциал действия на ранней стадии развития (2—3-й день) характеризуется низкой скоростью нарастания (10—40 В/с) (см. рис. 26.4) и ему предшествует медленная диастолическая деполяризация (см. рис. 26.3а). Гиперполяризация не вызывает существенного увеличения скорости нарастания ПД (рис. 26.5), что свидетельствует о том, что небольшая величина $+\dot{V}_{\text{макс}}$ обусловлена не инактивацией быстрых натриевых каналов вследствие низкого потенциала покоя, а скорее всего небольшой плотностью каналов в клеточной мембране. Возбудимость не исчезает, пока мембрана не деполяризуется более -20 мВ (рис. 26.5), что говорит о преобладании медленных каналов. Нарастание ПД на ранней стадии развития обусловлено поступлением Na^+ в клетку через медленные (ТТХ-нечувствительные) натриевые каналы, о чем свидетельствует зависимость овершута (см. рис. 26.6а) и скорости нарастания ПД (см. рис. 26.6б) от внеклеточной концентрации K^+ . Наклон кривой зависимости овершута от $[\text{Na}^+]_o$ приближается к теоретической величине 61 мВ/10-кратное изменение концентрации (согласно уравнению Нернста) при уменьшении $[\text{Na}^+]_o$ (рис. 26.6, а).

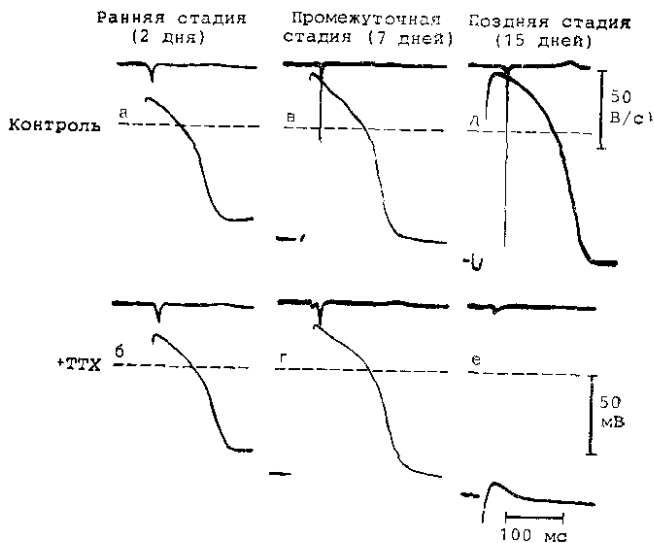


Рис. 26.3. Потенциалы действия в интактной сердечной мышце куриного эмбриона на разных стадиях развития.

Внутриклеточный потенциал в мышце сердца: 2-дневного эмбриона до добавления (а) тетродотоксина (ТТХ) и через 2 мин после его добавления (б) в концентрации 20 мкг/мл; 7-дневного эмбриона до добавления ТТХ (в) и через 2 мин после добавления (г) в концентрации 2 мкг/мл [Обратите внимание на угнетение скорости увеличения (г) потенциала действия]; 15-дневного эмбриона до добавления ТТХ (д) и через 2 мин после его добавления (е) в дозе 1 мкг/мл (потенциалы действия полностью угнетены и их не удается вызвать даже при повышении интенсивности стимуляции электрическим полем). Таким образом, в процессе развития эмбриона миокард становится все более чувствительным к ТТХ, т. е. действие последнего усиливается по мере увеличения возраста эмбриона. Вверху на каждом фрагменте представлена запись dV/dt , сдвинутая вправо по отношению к записи потенциала, для того чтобы более четко был виден максимум dV/dt . Пунктиром обозначена линия нулевого потенциала. Калибровка dV/dt (г) и времени (д) относятся ко всем фрагментам (в модификации из [13]).

Количество быстрых натриевых каналов существенно увеличивается к 5-му дню эмбрионального развития. Приблизительно в это же время начинается циркуляция крови между эмбрионом и хорионаллантоисной мембраной, что обеспечивает газообмен. К этому моменту $+V_{\text{макс}}$ составляет 50–70 В/с (см. рис. 26.4 и табл. 26.3). На этой промежуточной стадии развития (от 5-го до 7-го дня) в клеточной мембране кардиомиоцитов одновременно с быстрыми натриевыми каналами существует большое количество медленных.

На 8-й день возбудимость кардиомиоцитов исчезает при деполаризации более -50 мВ (см. рис. 26.5). Это свидетельствует о том, что фаза парастазии ПД в это время определяется быстрыми натриевыми каналами, а не неспецифическими медленными. На рис. 26.6а, б представлена зависимость $V_{\text{макс}}$ и овершута, отражающих изменения входящего тока, определяющего нарастание ПД, от внеклеточной концентрации Na^+ в сердце эмбриона на поздней стадии развития. Плотность быстрых натриевых каналов в клеточной мембране продолжает повышаться вплоть до 18-го дня, когда $+V_{\text{макс}}$ достигает 150 мВ/с, что свойственно сердцу

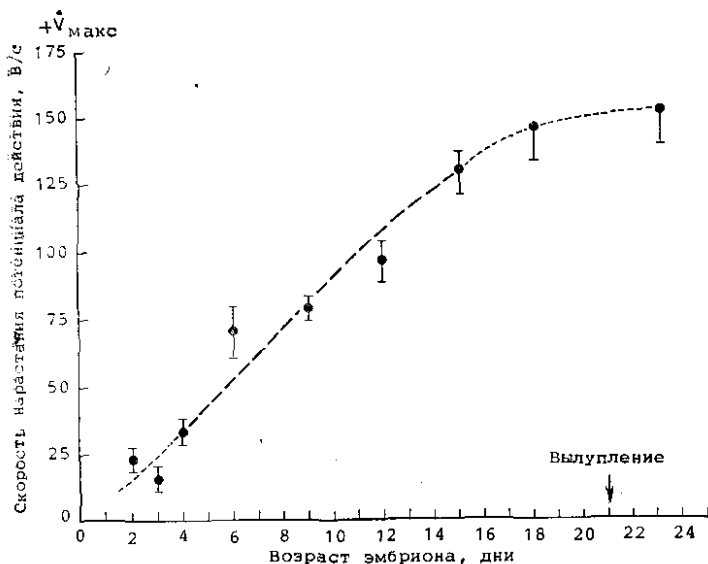


Рис. 26.4. Изменения максимальной скорости нарастания потенциала действия ($+V_{\text{макс}}$) миокардиальных клеток куриного эмбриона в процессе его развития.

Наблюдается постепенное увеличение $+V_{\text{макс}}$, причем насыщение достигается примерно к 18-му дню. Вертикальные отрезки соответствуют стандартному отклонению. Данные получены Sperelakis [13] и Youdon с соавт. (неопубликованные).

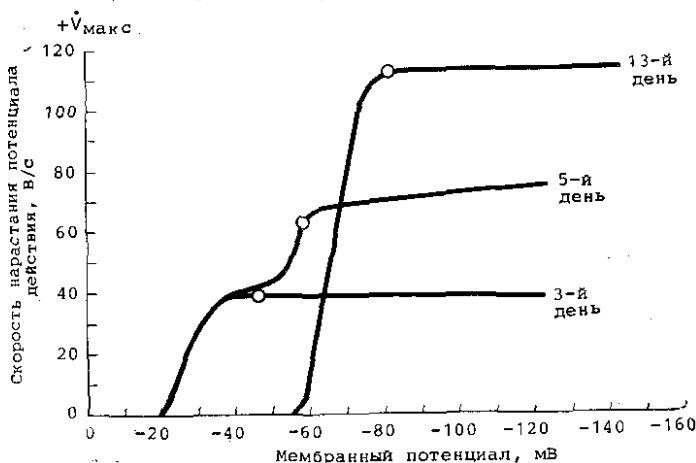


Рис. 26.5. Свидетельство в пользу существования двух типов натриевых каналов.

Зависимость максимальной скорости нарастания потенциала действия ($+V_{\text{макс}}$) от мембранного потенциала (V_m) в сердечной мышце куриного эмбриона разного возраста (3, 5 и 13 дней). Мембранный потенциал изменяли путем воздействия прямоугольных импульсов поляризующего тока большой продолжительности (несколько секунд). Кружками отмечены средние величины потенциала покоя (без воздействия на мышцу поляризующего тока). Обратите внимание на то, что латентная инактивация натриевого тока в сердце 13-дневного эмбриона достигается при -55 мВ, в то время как в сердце эмбрионов в возрасте 3 и 5 дней для этого необходима деполаризация до -25 мВ. В сердце эмбрионов в возрасте 3 и 13 дней, по-видимому, присутствуют каналы лишь одного типа; медленные и быстрые соответственно. Данные, полученные в эксперименте с 5-дневным эмбрионом, позволяют предположить существование в его миокарде каналов двух типов: инактивируемых при -55 мВ и -25 мВ (в модификации из [13]).

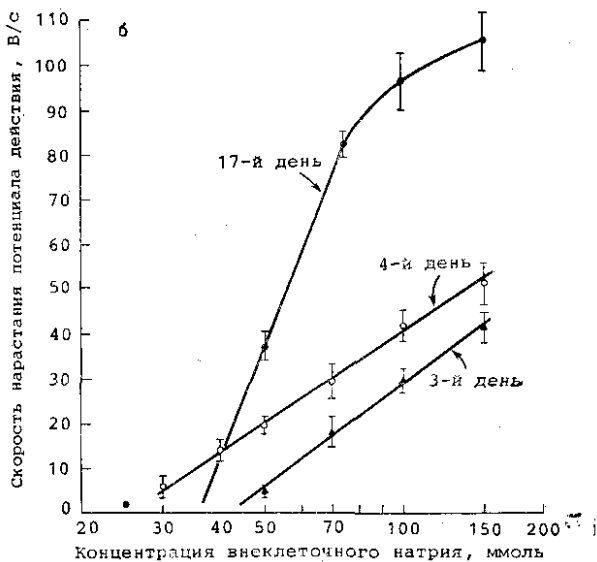
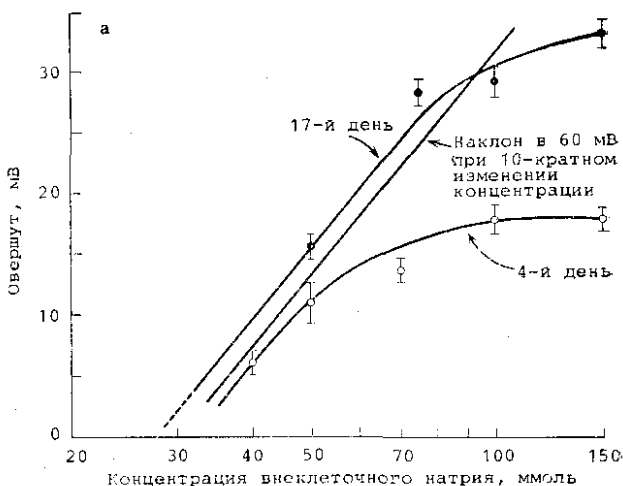


Рис. 26.6. Доказательство того, что основным переносчиком входящего тока в миокарде куриных эмбрионов любого возраста служат Na^+ . Средние величины овершута ($+E_{\text{макс}}$) для сердец 4-дневного и 17-дневного эмбрионов в обычных условиях (а) представлены в полулогарифмической шкале в зависимости от внеклеточной концентрации Na^+ . Для сравнения дана линия с наклоном 60 мВ при 10-кратном изменении концентрации. Ей практически параллельны линии, соответствующие низкому уровню $[\text{Na}^+]_o$, но отклоняются от нее линии, соответствующие высокому его уровню. При изменении уровня $[\text{Na}^+]_o$ изменяется и максимальная скорость нарастания потенциала действия ($+V_{\text{макс}}$) (б); уровень $[\text{Na}^+]_o$ понижали путем замены NaCl эквимоллярным количеством холин- Cl . Экспериментальные данные представлены в виде средней \pm стандартное отклонение для миокарда эмбрионов в возрасте 3, 4 и 17 дней. Кривая для миокарда 17-дневного эмбриона линейна при низких величинах $[\text{Na}^+]_o$ и изгибается при более высоких концентрациях, у эмбрионов в возрасте 3 и 4 дней зависимость оказывается линейной во всем диапазоне ([13]).

Таблица 26.3. Влияние тетродотоксина (ТТХ) на максимальную скорость нарастания потенциала действия $+\dot{V}_{\text{макс}}$ кардиомиоцитов желудочков сердца куриного эмбриона на разных стадиях развития

Возраст эмбриона, дни	$\dot{V}_{\text{макс}}$, В/с		Чувствительность к ТТХ
	контроль	ТТХ	
2—3	15—35	10—30	Малая или отсутствует Частичная Полная То же » »
5—6	50—70	10—30	
8—10	75—90	0	
12—16	90—140	0	
17—21	140—170	0	

Данные из работы [13].

половозрелой курицы (см. рис. 26.4). Этот вывод подтверждается результатами работ Iijima и Parrano [50] и Marcus и Fozzard [51]. Большая часть медленных каналов становится функционально неактивна, а остаток их продолжает поддерживать регенеративное возбуждение. Однако происходящее в то же время увеличение абсолютной величины потенциала покоя затрудняет распространение возбуждения при такой плотности медленных каналов, так как для достижения порога оказывается необходима большая деполяризация, а увеличение калиевой проводимости затрудняет ее. Добавление в раствор некоторых положительных инотропных веществ приводит к быстрому увеличению количества медленных Na^+ , Ca^{2+} -каналов в клеточной мембране, способствует восстановлению возбудимости клеток, быстрые Na^+ -каналы которых были блокированы или инактивированы повышением потенциала [52—54].

Чувствительность к ТТХ и антагонистам кальция. Тетродотоксин (ТТХ), специфический блокатор быстрых Na^+ -каналов, не влияет или очень слабо влияет на скорость повышения ПД и overshoot в кардиомиоцитах эмбриона на 2—3-й день развития (см. рис. 26.3б и табл. 26.3). На промежуточной стадии развития (5—7-й день) ТТХ вызывает уменьшение $+\dot{V}_{\text{макс}}$ приблизительно на 10—20 В/с, но полного блокирования ПД и сопровождающего его сокращения не наступает (см. рис. 26.3б и г и табл. 26.3). После 8-го дня развития ТТХ полностью блокирует ПД, несмотря на увеличение интенсивности стимуляции (рис. 26.3д и е и табл. 26.3).

Потенциал действия кардиомиоцитов на ранней стадии развития блокируется такими антагонистами кальция, как верапамил и D-600 [55, 56]. Это свидетельствует о том, что они блокируют не только медленные кальциевые и Na^+ , Ca^{2+} -каналы, но и медленные Na^+ -каналы, т. е. они неспецифичны для Ca^{2+} тока. В отличие от антагонистов кальция, Mn^{2+} в концентрации 1 ммоль не угнетают ПД кардиомиоцитов эмбрионов на ранней стадии, хотя и блокируют сокращение, т. е. они обладают значительно

большей специфичностью для медленных Ca^{2+} , чем для медленных Na^{+} -каналов [13].

Результаты экспериментов Kojima и Sperelakis (неопубликованные данные) на сердце 3-дневных эмбрионов подтвердили, что верапамил и D-600 угнетают и блокируют ПД. Увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_o$ не способно устранить блокирующего действия этих веществ, в то время как оно устраняется при увеличении $[\text{Na}^{+}]_o$ (начиная с 50% от нормы), что согласуется с предположением о том, что исследуемый канал представляет собой медленный Na^{+} , а не медленный Ca^{2+} -канал. Кроме того, было обнаружено, что блокирующим свойством обладает лифедипин, тогда как дилтиазем, бепридил и мезудилин не блокируют ПД кардиомиоцитов 3-дневных эмбрионов.

Calper и Catterall [57] сообщили о том, что миокард эмбриона на ранней стадии развития не чувствителен к действию ТТХ, но чувствителен к действию D-600. В процессе дальнейшего развития чувствительность к ТТХ повышается, а к D-600 уменьшается. Kasuya и соавт. [58] подтвердили также, что медленно нарастающие ПД кардиомиоцитов 3-дневного эмбриона определяются током через катионные каналы, по своим фармакологическим свойствам отличающиеся от соответствующих каналов эмбрионов на ранней стадии развития. Nathan и DeNaan [59] обнаружили, что в реакгатах кардиомиоцитов в культуре (3-дневный эмбрион) чувствительные к ТТХ быстрые Na^{+} -каналы либо отсутствуют, либо находятся в нефункционирующем состоянии. Ishima [60] показал, что ТТХ не влияет на сокращение сердца 3—5-дневных эмбрионов.

При изучении электрофизиологических свойств в ряде лабораторий было показано, что в процессе эмбрионального развития происходит существенное увеличение количества быстрых Na^{+} -каналов. Это согласуется с данными Renand с соавт. [61], свидетельствующими о наличии в миокарде 3-дневных эмбрионов очень небольшого количества мест специфического связывания ТТХ (определяемого по связыванию ^3H -этилендиамин-ТТХ), число которых по мере развития эмбриона увеличивается в 4—5 раз. Эти авторы подтвердили также, что ПД кардиомиоцитов 2—3-дневных эмбрионов нечувствителен к ТТХ. Iijima и Parrano [50], Marcus и Fozzard [51] сообщили, что на 3-й день развития можно уже выявить некоторое количество быстрых Na^{+} -каналов и что чувствительность их к блокирующему действию ТТХ не изменяется в процессе развития. Renand с соавт. [61] обнаружили, что в многослойной культуре дедифференцированных кардиомиоцитов происходит распад рецепторных мест связывания ТТХ с временем полужизни 9 ч, а в культуре реакгатов высокодифференцированных клеток рецепторные места связывания ТТХ остаются стабильными в течение 24 ч после ингибирования синтеза белков.

Резюме. Обобщая результаты, полученные при изучении миокарда 2—3-дневных эмбрионов, можно сделать вывод о том, что ПД кардиомиоцитов у них характеризуется относительно неболь-

ной скоростью нарастания, мало изменяющейся при воздействии ТТХ [13, 48, 62—65]. Она существенно не увеличивается при гиперполяризации, что означает низкую плотность функционирующих быстрых Na^+ -каналов в клеточной мембране. Плотность же медленных каналов в мембране кардиомиоцитов этих эмбрионов, наоборот, очень высока. Они блокируются антагонистами кальция типа верапамила, но не блокируются Mn^{2+} [13, 55]. В процессе развития количество функционирующих быстрых Na^+ -каналов постепенно увеличивается, достигая уровня, свойственного половозрелой курице, к 18-му дню развития. И наоборот, количество медленных каналов уменьшается, достигая уровня половозрелой птицы к 8-му дню. С этого времени ТТХ способен полностью блокировать ПД, т. е. количества функционирующих медленных каналов уже недостаточно для поддержания регенеративного возбуждения. Однако добавление в раствор таких положительных инотропных веществ, как бета-адренергические агонисты, гистамин или метилксантины, вызывает быстрое увеличение числа функционирующих медленных каналов. Это позволяет вызвать в клетке регенеративную деполяризацию по типу медленного ПД на фоне блокирования быстрых Na^+ -каналов с помощью ТТХ или инактивации путем повышения потенциала покоя (в растворе с $[\text{K}^+]_0 = 25$ ммоль). На промежуточной стадии развития (5—7-й день) в мембране приблизительно в равных количествах определяются как быстрые, так и медленные Na^+ -каналы, поэтому при блокировании быстрых каналов с помощью ТТХ развиваются медленные ПД, напоминающие ПД кардиомиоцитов эмбриона на ранней стадии развития (2—3-й день).

Биохимические изменения

Уровень цАМФ. В процессе развития в сердце куриного эмбриона значительно изменяется уровень внутриклеточного циклического АМФ (цАМФ) [49, 66, 67]. Самый высокий уровень его определяется на ранней стадии развития, и в процессе эмбриогенеза он снижается. Согласно данным McLean с соавт. [66], на 4-й день эмбрионального развития уровень цАМФ составляет 116 нмоль/мг белка, на 5-й день достигает 41 нмоль/мг белка, в дальнейшем продолжая постепенно снижаться и достигая к 16-му дню уровня, характерного для миокарда половозрелых птиц (0,4 нмоль/мг белка). Согласно данным Renand с соавт. [67], уровень цАМФ на 4-й день развития составляет 33,6, а на 16-й день — 11,7 нмоль/мг белка.

Пока еще не совсем ясна взаимосвязь между изменениями свойств мембраны и уровня цАМФ. При культивировании клеток клеточной мышцы в момент слияния миобластов с образованием мютобул, т. е. в процессе дифференцировки, в них резко снижается уровень цАМФ. Кроме того, повышение его сопровождается увеличением количества функционирующих медленных каналов. Следовательно, можно предположить, что уменьшение количества медленных каналов клеточной мембраны кардиомиоцитов курино-

го эмбриона в процессе развития представляет собой результат снижения уровня цАМФ. Это позволяет положительным инотропным веществам, способствующим повышению уровня цАМФ, не вызывать кратковременного регуляторного повышения плотности медленных каналов в клеточной мембране до уровня, характерного для сердца эмбриона на ранней стадии развития. Другими словами, изменение базального уровня цАМФ в кардиомиоцитах в процессе эмбриогенеза позволяет инотропным веществам модулировать работу части медленных каналов, способных к активации.

Уровень цАМФ в кардиомиоцитах, находящихся в условиях культуры, либо тот же, что в миокарде 16-дневного эмбриона (16 нмоль/мг белка) [66], либо несколько снижен (например, 4,5 нмоль/мг белка) [67]. В клетках, выделенных из сердца 4-дневного куриного эмбриона и находящихся в условиях культуры, уровень цАМФ снижается. Если эти клетки содержать в условиях культуры в течение 2 нед, то уровень цАМФ в них достигает 5,6 нмоль/мг белка даже при том условии, что не происходит дальнейшей дифференцировки клеток в отношении электрических свойств или ультраструктуры [67]. Аналогичное снижение уровня цАМФ до 5,3 нмоль/мг белка наблюдали в культивируемых кардиомиоцитах 16-дневного куриного эмбриона.

Изопротеренол способствует существенному повышению уровня цАМФ на ранней и поздней стадиях развития эмбриона, в условиях культуры и в свежевыделенных препаратах, что свидетельствует о существовании в клеточной мембране функционально активных β -адренергических рецепторов. Например, при добавлении изопротеренола в концентрации 10^{-6} моль уровень цАМФ в миокарде 7—8-дневного эмбриона повышается с 35 до 80 нмоль/мг белка в течение 3 мин (время до максимального эффекта) [66]. В миокарде 4-дневного эмбриона он повышается под действием изопротеренола с 34 до 116 нмоль/мг белка, что подтверждает существование функционально активных β -рецепторов в миокарде эмбрионов до установления симпатической иннервации. Кардиомиоциты 4- и 16-дневных эмбрионов, находящиеся в условиях культуры клеток или культуры ткани, также четко реагируют на воздействие изопротеренола.

Существуют данные о том, что уровень цАМФ в кардиомиоцитах сердца крысы повышается с момента рождения до 10-го дня жизни [68]. Изменения его в клетках скелетной мышцы крысы аналогичны его изменению в сердце. Уровень цАМФ в скелетной мышце куриного эмбриона также повышается между 7-м и 15-м днем развития [69, 70].

Haddock с соавт. [71] обнаружили, что активность цАМФ-зависимой протеинкиназы в сердце мышцы усиливается начиная с 16-го дня эмбрионального развития до 10-го дня жизни, после чего постепенно снижается до уровня миокарда половозрелого животного (рис. 26.7, отмечено квадратами). Chen с соавт. [72] показали, что на 14-й день эмбрионального развития базальный уровень активности аденилатциклазы очень низкий и постепенно

Метаболизм циклических нуклеотидов

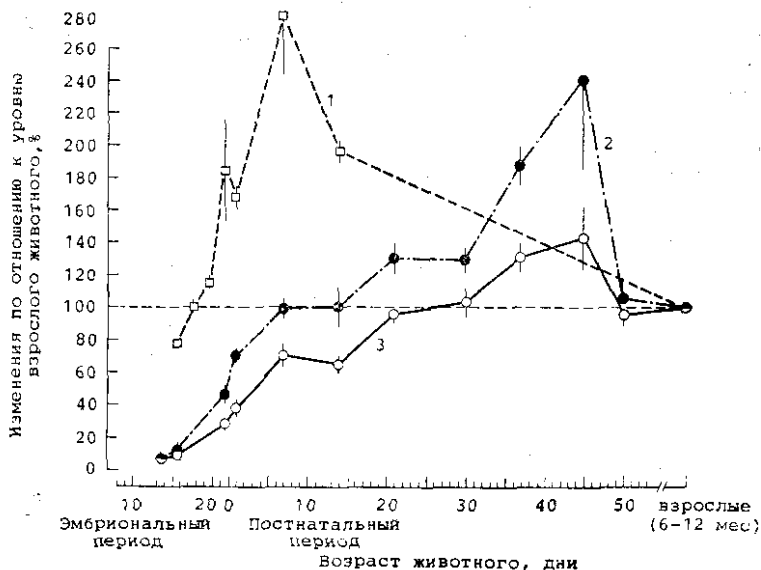


Рис. 26.7. Изменения активности цАМФ-зависимой протеинкиназы и аденилатциклазы в сердечной мышце мыши в зависимости от возраста (начиная с эмбрионального периода).

По оси ординат приведены относительные изменения (в процентах от наблюдаемых у животного в 6—12 мес) общей активности цАМФ-зависимой протеинкиназы типов I и II (1), активности аденилатциклазы базальной (2) и на фоне $1 \cdot 10^{-6}$ моль изопроterenола (3). Величины для цАМФ-зависимой протеинкиназы рассчитаны на основании данных, приведенных в статье Haddock с соавт. [71], а для базальной активности аденилатциклазы и увеличенной под действием изопроterenола — из работы: Chen с соавт. [72]. Автор настоящей работы благодарит Michio Kojima за подготовку рисунка и расчет величин на основе данных оригинальных работ.

повышается до 45-го дня жизни (на рисунке отмечено темными кружками). Способность изопроterenола (10^{-6} моль/м) стимулировать активность аденилатциклазы увеличивается параллельно увеличению базальной активности (на рисунке отмечено светлыми кружками).

Поглощение глюкозы и аминокислот, текучесть мембраны.

В процессе эмбрионального развития изменяются и другие свойства клеточной мембраны. Например, на ранней стадии развития в кардиомиоцитах определяется очень большая скорость поглощения глюкозы, снижающаяся по мере развития эмбриона. Система транспорта глюкозы с помощью переносчика, обладающая насыщением, появляется в мембране кардиомиоцитов на 7-й день эмбриогенеза; вскоре после этого удается выявить усиление поглощения глюкозы под действием инсулина [73]. Таким образом, инсулин не влияет на ее поглощение в кардиомиоцитах 5-дневного эмбриона, но ускоряет в кардиомиоцитах 7-дневного эмбриона. По-видимому, поглощение глюкозы до 5-го дня развития обусловлено простой диффузией ее через клеточную мембрану [74, 75]. Оубаин стимулирует поглощение в сердце 10-дневного

эмбриона, но не влияет на него в сердце 5-дневного [76]. По мере развития миокарда уменьшается проницаемость клеточной мембраны кардиомиоцитов для сорбитола.

Аминокислоты активно транспортируются через мембрану кардиомиоцитов против градиента концентраций уже у 5-дневного эмбриона, а инсулин увеличивает скорость их транспорта. Скорость поглощения аминокислот снижается по мере развития эмбриона.

В сердце куриного эмбриона происходит изменение текучести клеточной мембраны (микровязкость) [75]. В процессе его развития она увеличивается, как и отношение уровня холестерина к фосфолипидам сарколеммы и одновременно числа ненасыщенных остатков жирных кислот. Все эти изменения слишком сложны для того, чтобы можно было обнаружить их корреляцию с изменениями электрических свойств, например с проницаемостью калия. Текучесть мембран миобластов куриного эмбриона в условиях культуры увеличивается при их слиянии и образовании миотубул [78].

Изменения метаболизма. В кардиомиоцитах куриного эмбриона на 2—3-й день развития содержится большое количество гликогена, метаболизм которого происходит в основном путем анаэробного гликолиза. Циркуляция крови между эмбрионом и хорион-аллантоисной мембраной под скорлупой яйца для обеспечения газообмена начинается лишь с 5-го дня развития. После этого метаболизм в миокарде переходит на аэробный путь, что сопровождается изменением состава и активности ферментов. Например, увеличивается активность пируваткиназы [79, 80]. Большая часть биохимических изменений в миокарде эмбриона суммирована в обзоре Naguru [81].

Основным путем метаболизма на ранней стадии развития куриного эмбриона служит фосфоглюконатный, а не цикл трикарбоновых кислот, тогда как для поздней стадии развития и миокарда половозрелых птиц справедливо обратное [82]. Для пролиферирующих клеток характерна высокая активность ферментов пентозного цикла [83]. Активность ферментов шунтирующего пентозного пути, например глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и дегидрогеназы 6-фосфатглюконовой кислоты, уменьшается начиная с 4-го к 20-му дню развития, в то время как активность ферментов, участвующих в цикле Кребса, например дегидрогеназы изопитрата или дегидрогеназы α -кетоглутаровой кислоты, повышается [84]. Кроме того, в несколько раз увеличивается активность гексокиназы. Способность кардиомиоцитов метаболизировать высокомолекулярные жирные кислоты появляется лишь на поздней стадии развития (после 12-го дня) [85].

В миокарде крысы в процессе эмбриогенеза происходит смещение изоферментного состава лактатдегидрогеназы (ЛДГ), причем вначале преобладает эмбриональная М-форма (катализирующая восстановление пирувата до лактата), а затем Н-форма, характерная для миокарда половозрелых крыс (которая облегчает окисление пирувата до CO_2 и H_2O) [86]. Те же изменения проис-

ходят и в скелетных мышцах эмбриона [87]. Если миокардиальные клетки куриного эмбриона на поздней стадии развития поместить в условия монослойной культуры, они начинают синтезировать эмбриональную М-форму ЛДГ [88]. Изменения состава изоферментов в миокарде крысы относятся и к креатинфосфокиназе [89].

С представлением о том, что скорость аэробного метаболизма в миокарде эмбрионов на ранней стадии развития очень небольшая и основную роль при этом играет гликолиз, согласуется относительно высокая резистентность миокарда к метаболическим воздействиям. Например, гипоксия не сопровождается блокированием медленных ПД кардиомиоцитов [90]. Аналогичным образом клетки миокарда желудочков 7-дневного эмбриона значительно менее чувствительны к различным метаболическим ядам, чем клетки 15-дневного эмбриона [91]. В миокарде предсердий млекопитающих, отличающемся высоким уровнем гликогена, гипоксия лишь незначительно угнетает медленные ПД, вызываемые стимуляцией на фоне изопротеренола [92].

Изменения ультраструктуры

Тонкие нити миофибрилл обнаруживаются уже через 30 ч эмбрионального развития, а через 36 ч они начинают группироваться [93]. Тонкие нити часто выявляют без соответствующих толстых нитей, однако последние удается найти обычно только в окружении тонких нитей. Миофибриллы кардиомиоцитов на 2—3-й день развития эмбриона расположены в цитоплазме относительно редкими группами, которые находятся на разных стадиях образования (рис. 26.8а) и идут не параллельно друг другу, а разбросаны хаотично во всех направлениях, в том числе и перпендикулярно друг другу. Пучки миофибрилл, соединенные вместе в области Z-линии, часто расходятся в разных направлениях, не образуя правильных саркомеров (рис. 26.8а). На ранней стадии в саркомерах обычно не выявляется полного набора характерных элементов, а миофибриллы отличаются небольшой длиной. H-зоны впервые удается выявить лишь на 8-й день, а M-линии — на 18-й. В цитоплазме в большом количестве содержатся полирибосомы, параллельно которым проходят тубулы шероховатого эндоплазматического ретикулума. Часто полирибосомы располагаются недалеко от формирующихся миофибрилл. В миокарде эмбриона на 2—3-й день развития можно видеть богатые запасы гликогена.

МИОКАРД ЭМБРИОНА В УСЛОВИЯХ КУЛЬТУРЫ ТКАНИ

Миокард эмбриона на ранней стадии развития

Культивирование сердца эмбриона в условиях *in vitro* помогает выявить и уточнить изменения, происходящие в нем в процессе развития *in situ*. В клеточной мембране кардиомиоцитов



Рис. 26.8. Ультраструктура миокардиальных клеток куриного эмбриона в возрасте 3 и 19 дней *in situ*.

В клетке миокарда желудочка сердца 3-дневного эмбриона (а) можно видеть малое количество миофибриллярного материала и хаотичное расположение миофибрилл, большое число рибосом в цитоплазме; соседние клетки плотно сцеплены с помощью десмосом. В клетке миокарда желудочка сердца 19-дневного эмбриона (б) отмечается правильное расположение большого количества миофибрилл; видны извилистые контуры вставочных дисков между соседними клетками (по [49], [131] и [132]).

куриного эмбриона на стадии, когда еще не развита ни симпатическая, ни парасимпатическая иннервация, в условиях культуры ткани не появляются чувствительные к ТТХ быстрые натриевые каналы [94, 95]. Потенциал действия продолжает зависеть от активности медленных каналов, нечувствительных к ТТХ, скорость его нарастания остается небольшой, сохраняется медленная диастолическая деполяризация (рис. 26.9). Он сходен с ПД, регистрируемым в кардиомиоцитах 3-дневного эмбриона, развивающимся *in situ*. Аналогичные изменения происходят и в том случае, если сердце эмбриона соединяли в условиях культуры ткани с хорион-аллантоисной мембраной эмбриона-донора для перфузии кровью [96]. Таким образом, в культуре ткани не происходит дальнейшей дифференцировки клеток сердца эмбриона, и они как бы останавливаются в своем развитии на ранней стадии эмбриогенеза.

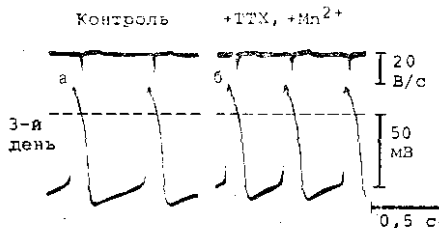


Рис. 26.9. Рост миокардиальных клеток 3-дневного куриного эмбриона в условиях культуры не приводит к появлению быстрых натриевых каналов. Потенциалы действия, зарегистрированные в одной клетке до воздействия ТТХ (а) и в другой после добавления его в раствор (б), практически одинаковы. Величины $V_{d/dt}$ (вверху) в них также близки. Последующее добавление Mn^{2+} в концентрации 1 ммоль (б) на фоне ТТХ не оказало влияния на максимальную скорость нарастания потенциала действия, т. е. входящий ток, определяющий его развитие, скорее всего переносится не Ca^{2+} (в модификации из [13]).

Если на такое сердце в условиях культуры ткани воздействовать фракцией миокарда, полученной от половозрелой курицы и обогащенной РНК, то в клеточной мембране появляются быстрые натриевые каналы, а кардиомиоциты становятся чувствительными к ТТХ [97–99], т. е. в культуре ткани можно индуцировать дальнейшую дифференцировку клеточной мембраны кардиомиоцитов у куриного эмбриона. Таким образом, сердце эмбриона в этих условиях служит полезной моделью для изучения регуляции дифференцировки мембраны.

Миокард эмбриона на промежуточной и поздней стадиях развития

В культуре ткани в сердце эмбриона на промежуточной стадии развития (5–7-й день) выявляются как быстрые, так и медленные натриевые каналы, что наблюдается в сердце *in situ* [94–96]. Скорость повышения ПД довольно мала (40–70 В/с), и при воздействии ТТХ она уменьшается до 10 В/с. Сердце 17-дневного эмбриона в культуре ткани сохраняет ПД с большой скоростью его нарастания и высокую чувствительность к ТТХ, но эти свойства сохраняются лишь в течение нескольких дней. Таким образом, помещенное в условия культуры ткани сердце эмбриона сохраняет степень дифференцировки, достигнутую им на момент погружения в искусственную среду.

КАРДИОМИОЦИТЫ В УСЛОВИЯХ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК

В культуре клеток удается промоделировать разные стадии дифференцировки в отношении их электрических свойств. Эти моделирования могут помочь выяснить механизмы, управляющие митогенезом в обычных условиях. Выявляемые при этом элек-

трофизологические свойства клеток существенно зависят от возраста сердца, из которого были изолированы клетки, и метода ведения культуры клеток.

Миокард эмбриона на поздней стадии развития

Монослойная культура. Если с помощью трипсина выделить клетки из сердца эмбриона на поздней стадии развития и приготовить из них стандартную монослойную культуру, то ПД в них будет отличаться малой скоростью нарастания, не изменяющейся при добавлении ТТХ, и медленной диастолической деполаризацией (рис. 26.10в, г). Иными словами, эти ПД аналогичны регистрируемым в кардиомиоцитах эмбрионов на 2—3-й день развития, а не тем, которые свойственны клеткам миокарда эмбриона на поздней стадии развития, из которых были получены клетки (рис. 26.10а, б). По-видимому, это означает, что разделение клеток приводит к быстрой их дедифференцировке в направлении кардиомиоцитов эмбрионов на ранней стадии развития [3, 55, 62, 100, 104].

Частично такую дедифференцировку можно предотвратить (или даже обратить), разделяя клетки с помощью раствора, содержащего кроме трипсина, большое количество ионов калия (до 12—60 ммоль при изомолярной замене Na^+ на K^+) и 5 ммоль АТФ [39]. Потенциал покоя клеток, приготовленных таким образом, довольно устойчив и равен приблизительно -60 мВ, а ПД чувствителен к ТТХ, однако скорость нарастания ПД остается невысокой, в среднем 30 В/с (рис. 26.10д, е). Механизм снижения степени дедифференцировки клеток путем добавления K^+ и АТФ в раствор для выделения неизвестен; известно лишь, что $[\text{K}^+]_i$ в дедифференцированных клетках уменьшается приблизительно до 90—100 ммоль, чего не наблюдается в высокодифференцированных клетках в культуре.

Jones с соавт. [102] сообщили, что если клетки желудочков выращивать в условиях монослойной культуры, то их морфология остается характерной для высокодифференцированных кардиомиоцитов (например, наличие плотно упакованных и расположенных параллельными рядами миофибрилл, между которыми выявляются митохондрии); то же относится и к их электрическим свойствам. Такой эффект достигается путем уменьшения концентрации бычьей сыворотки в среде инкубации с 10 до 0,1% через несколько дней роста в культуре, что, по-видимому, объясняется удалением из среды факторов роста, и содержанием полученной культуры *in vitro* в течение нескольких недель.

Renand с соавт. [103] недавно показали, что кардиомиоциты, образующие монослой в среде на основе сыворотки с низким уровнем липопротеинов, дифференцируются, по крайней мере в отношении их электрических свойств, по сравнению с клетками, культивируемыми в обычной среде. Для клеток, растущих в среде, не содержащей липиды, характерны большие абсолютная величина потенциала покоя и скорость нарастания ПД, чувствительная и

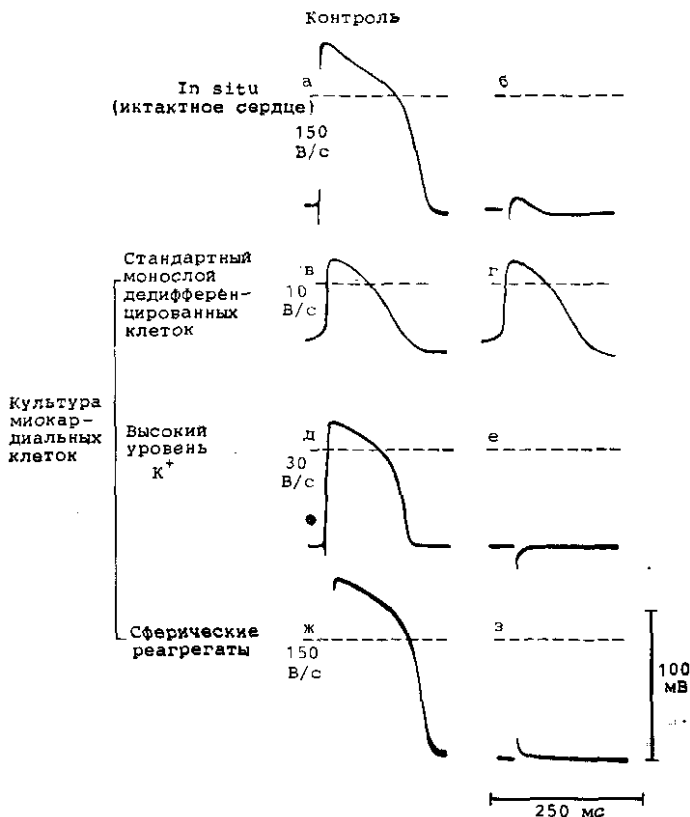


Рис. 26.10. Сравнение электрофизиологических свойств миокарда 16-дневно-эмбриона в условиях *in situ* (а и б) и миокардиальных клеток эмбриона того же возраста, выделенных из сердца после воздействия трипсином и выращенных в условия культуры в соответствии с тремя методами (б-з). В интактном сердце (а-б) контрольный потенциал действия (а) отмечается большой скоростью нарастания (150 В/с), обладает стабильным потенциалом покоя (около -80 мВ) и полностью блокируется ТТХ в концентрации 0,1 г/мл (б). В стандартном монослое дифференцированных клеток (в-г) контрольный потенциал действия характеризуется низкой скоростью переднего фронта (10 В/с) и ему предшествует быстрая диастолическая деполяризация; потенциал покоя имеет небольшую величину (около -50 мВ) (в) и ТТХ не влияет на такой потенциал действия (г). В высоко дифференцированных клетках, культивируемых в условиях культуры (д) с большой концентрацией K^+ (25 ммоль) контрольные потенциалы действия регистрируются средней скоростью переднего фронта -30 В/с (д), отсутствием пейсмейкерного потенциала и промежуточным уровнем потенциала покоя (-60 мВ); потенциалы действия полностью блокируются ТТХ (е). В высокодифференцированных клетках в культуре сферических реагрегатов (ж-з) контрольные потенциалы действия отличаются большими скоростью нарастания (150 В/с) и абсолютной величиной потенциала покоя (-80 мВ) (ж) и угнетаются ТТХ (з) по [49], [131] и [132].

ТТХ, и возможность блокирования автоматической активности миокардиальными агонистами. Авторы обнаружили, что в мембране миоциты в монослойной культуре снижается уровень холинэстеразы, а удаление липопротеинов из среды сопровождается его активацией. Было также показано, что в высокодифференци-

рованных клетках рецепторные места связывания ТТХ и мускариновые рецепторы не распадаются в течение более 25 ч после ингибирования синтеза белков, в то время как в дедифференцированных клетках они быстро распадаются (со временем полужизни 9—14 ч).

Культуры сферических реагрегатов. Высокодифференцированные в отношении электрофизиологических свойств кардиомиоциты могут быть получены *in vitro*, если после выделения отдельных клеток трипсином (в растворе с высоким уровнем K^+ и 5 ммоль АТФ) позволить им реагрегировать в условиях культуры с образованием небольших сфер (0,1—0,5 мм в диаметре) [39]. (Следует отметить, что не во всех реагрегатах содержатся высокодифференцированные клетки, т. е. часть их может дедифференцироваться.) Реагрегация достигается либо путем вращения емкости с питательной средой в течение 24—48 ч, либо культивированием клеток на целлофане, к которому они плохо прикрепляются. Потенциалы действия, регистрируемые в клетках таких реагрегатов, характеризуются большой скоростью нарастания (до 200 В/с) и возникают со стабильного низкого (около -80 мВ) потенциала покоя; ТТХ полностью подавляет возбудимость (рис. 26.10ж, з). Записи внутриклеточных потенциалов неотличимы от получаемых в интактных желудочках сердца 16-дневного эмбриона (рис. 26.10а, б). Как и в интактном сердце, при блокировании быстрых натриевых каналов высокодифференцированных клеток в культуре с помощью ТТХ положительно инотропные вещества вызывают медленные ПД [39, 104, 105]. Ацетилхолин не оказывал заметного влияния на ПД миокардиальных клеток желудочков в культуре, как дедифференцированных [106], так и высокодифференцированных [39].

Миокард эмбриона на ранней стадии развития

Если клетки сердца эмбриона на ранней стадии развития выделить трипсином и позволить им реагрегировать *in vitro*, то их свойства остаются теми же, что в кардиомиоцитах интактного сердца. Их потенциал покоя относительно невысок по абсолютной величине, в них спонтанно генерируют ПД и они нечувствительны к ТТХ. Однако, как и в сердце эмбриона на ранней стадии развития, помещенном в условия культуры ткани, добавление к реагрегировавшим кардиомиоцитам экстракта из миокарда половозрелой курицы, обогащенного РНК, приводит к появлению ПД с большой скоростью нарастания (порядка 100 В/с) и стабильности потенциала покоя на уровне от -70 до -80 мВ, причем клетки становятся чувствительными к ТТХ [96, 97]. Такая дифференцировка клеток сопровождается появлением электрофизиологических свойств, аналогичных свойствам кардиомиоцитов эмбрионов на поздней стадии развития *in situ*. Механизм действия активного начала в экстракте еще не изучен. Nathan и De Naap [59] сообщили, что им удалось добиться дальнейшей диф-

ференцировки кардиомиоцитов эмбриона на ранней стадии развития, reagрегировавших в культуре клеток, без добавления в среду специальных экстрактов.

МЕХАНИЗМ ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВЕРАТРИДИНА

Sperelakis и Parrano [107] впервые показали, что дедифференцированные кардиомиоциты в условиях монослойной культуры деполяризуются при добавлении вератридина, а ТТХ предотвращает их деполяризацию, даже если не влияет на параметры ПД. Для объяснения этого результата авторы предположили, что вератридин открывает натриевые каналы покоя (т. е. не зависящие от времени), а ТТХ блокирует этот эффект. Поскольку на фоне ТТХ вератридин вызывает даже гиперполяризацию клеток, они сделали вывод, что последний увеличивает и проницаемость мембраны для K^+ и (P_K) . Эти данные были впоследствии подтверждены другими исследователями при изучении действия вератридина и таких веществ, как батрахотоксин и грайанотоксин, на нервные клетки и кардиомиоциты (см. обзор Sperelakis [108]). Поскольку вератридин вызывает деполяризацию и увеличивает вход Na^+ в дедифференцированные миокардиальные клетки в условиях монослойной культуры (ПД которых отличается небольшой скоростью нарастания и нечувствителен к ТТХ), было выдвинуто предположение о существовании в мембране этих клеток «молчащих» (т. е. не функционирующих) быстрых натриевых каналов, которые могут быть открыты при действии вератридина [61, 109]. Однако такой подход основывается на предположении о том, что вератридин может влиять только на быстрые каналы, что неоспорно. В поддержку этого предположения Renand с соавт. [61] сообщили о том, что в миокарде эмбрионов на ранней стадии развития выявляется некоторая способность специфически связывать ТТХ (число мест специфического связывания его в процессе эмбрионального развития увеличивается почти в 6 раз), т. е. в мембране кардиомиоцитов действительно должно быть некоторое количество «молчащих» быстрых натриевых каналов.

Однако Pang и Sperelakis [110] показали, что стимулированное вератридином поступление $^{45}Ca^{2+}$ в миокардиальные клетки, которое должно отражать величину входа Na^+ вследствие работы системы Na - Ca -обмена, не зависит от возраста эмбриона. В связи с этим они пришли к выводу о том, что вератридин должен действовать не только на быстрые натриевые каналы, но и на каналы другого типа. Это могло бы объяснить увеличение входа Na^+ и Ca^{2+} в миокардиальные клетки и их деполяризацию, так как по мере развития эмбриона количество мест специфического связывания ТТХ увеличивается [61] при одновременном увеличении скорости нарастания ПД [8, 13, 62], отражающей количество быстрых натриевых каналов. Это означает, что появляется все большее количество быстрых каналов, способных открываться при

возбуждении, а вератридин не изменяет вход Ca^{2+} по мере роста эмбриона. Вторым типом каналов, на которые действует вератридин, могут быть натриевые каналы покоя или зависимые от потенциала медленные натриевые каналы.

В пользу того, что вератридин не представляет собой специфического активатора быстрых натриевых каналов в мембране миокардиальных клеток, свидетельствуют данные, полученные недавно Romney и Lazdunski [111]. Авторы показали, что вератридин, аконитин, батрахотоксин и грайанотоксин влияют не только на быстрые натриевые каналы клеток нейробластомы, но в той же или даже более малой концентрации блокируют зависимые от потенциалов медленные кальциевые каналы.

СВОЙСТВА МЕДЛЕННЫХ КАНАЛОВ КАРДИОМИОЦИТОВ

Действие положительных инотропных агентов

Некоторые положительные инотропные средства воздействуют на поверхностную мембрану миокардиальных клеток, увеличивая в ней число медленных каналов, что позволяет, по крайней мере частично, объяснить увеличение сократимости миокарда под влиянием этих веществ. Именно по этим каналам в кардиомиоциты во время ПД входят ионы кальция, а их количество, поступающее в клетки, влияет на силу сокращения миокарда. Кальций, поступающий через мембрану, способствует увеличению $[\text{Ca}^{2+}]_i$, что определяет активацию миофибрилл и косвенно воздействует на нее, поскольку начинают высвобождаться дополнительные порции Ca^{2+} из внутриклеточных запасов [112]. Блокирование медленных каналов, а значит, и поступление Ca^{2+} с помощью таких его антагонистов, как верапамил D-600, нифедипин, Mn^{2+} , Co^{2+} и La^{3+} , приводит к подавлению сокращений без заметного изменения «быстрого» ПД, т. е. происходит разобщение возбуждения и сокращения.

К веществам, обладающим положительными инотропными свойствами и влияющим на медленные каналы миокардиальных клеток, относятся катехоламины (агонисты β -адренергических рецепторов), гистамин (H_2 -рецепторы), метилксантины, ангиотензин II и ионы фтора. Действие большинства из них развивается очень быстро, и максимум эффекта достигается за 1—3 мин.

Один из методов выявления эффектов этих веществ на медленные каналы кардиомиоцитов заключается в предварительном блокировании быстрых Na^+ -каналов и возбудимости с помощью ТТХ или их инактивации при частичной деполяризации клеток (например, до -40 мВ) в растворе с увеличенной $[\text{K}^+]_o$ (например, 25 ммоль) [52]. Добавление в раствор, например, катехоламинов, быстро увеличивающих число медленных каналов, способных активироваться при электрической стимуляции, вызывает появление медленно нарастающих ПД с явно выраженным овершуттом (т. е. медленные ответы), напоминающих фазу плато

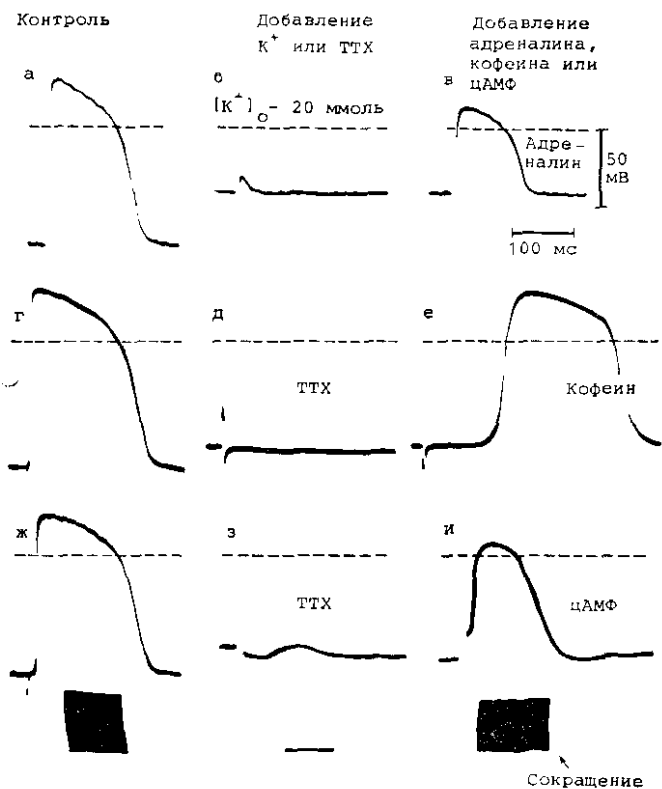


Рис. 26.11. Появление медленных потенциалов действия в миокарде куриного эмбриона (16 дней) под влиянием веществ с положительным инотропным действием.

Быстрые натриевые каналы инактивируются при повышении уровня $[K^+]_o$ (а–б) или ТТХ (г, е–и), воздействиями ионов калия и стимулируются при воздействии адреналина (а–в). Представлены контрольный быстрый потенциал действия (а) и изменение возбудимости при повышении уровня $[K^+]_o$ до 20 ммоль, несмотря на обратное увеличение интенсивности стимуляции (б). Через 1 мин после добавления адреналина ($1 \cdot 10^{-5}$ моль) быстро возникают медленные ответы (г), причем электрическая активность сопровождается сокращением (не показано). Через 2 мин после добавления Mn^{2+} или La^{3+} (1 ммоль) блокируются медленные потенциалы действия (не показано). Быстрые натриевые каналы инактивируются тетродотоксином (г–е); контрольный быстрый потенциал действия (г) исчезновение его через 2 мин после добавления 4 мкг/мл ТТХ. Электрическая (и сократительная) активность восстанавливается при добавлении 1 ммоль кофеина (е), медленные ответы появляются под воздействием цАМФ (ж–и); контрольный быстрый потенциал действия (ж), устранение возбудимости под воздействием ТТХ (з) и восстановление медленных ответов через 20–60 мин после добавления 3 ммоль цАМФ (и). На вставках (ж–и) показаны записи силы сокращения, зарегистрированной самописцем на медленной скорости. Обратите внимание на то, что сила сокращения на фрагментах и и ж одинакова (по [13]).

обычного быстрого ПД (рис. 26.11). Медленные ПД сопровождаются сокращением. Было показано, что в их развитии принимают участие входящие токи Na^+ и Ca^{2+} [52, 113]. Медленные ответы угнетаются веществами, специфически блокирующими медленный входящий Ca^{2+} -ток, в том числе Mn^{2+} , La^{3+} , а также верапамил и D-600 [56, 113, 114].

Связь с циклическим АМФ

Известно, что связывание гистамина и β -адренергических агонистов с соответствующими специфическими рецепторами сопровождается быстрой стимуляцией аденилатциклазы, в результате чего повышается внутриклеточная концентрация цАМФ [114, 115]. Метилксантины проникают в миокардиальные клетки и ингибируют фосфодиэстеразу, также вызывая повышение уровня цАМФ [114]. Эти соединения быстро вызывают появление медленных ПД, увеличивая число медленных каналов в мембране. Следовательно, цАМФ играет некоторую роль в регуляции работы медленных каналов [53, 113, 114, 116, 117].

С таким предположением согласуется тот факт, что цАМФ и его дибутириловый аналог также вызывают появление медленных ПД, но с значительно большей задержкой (максимум эффекта достигается через 15—30 мин), что и следует ожидать, учитывая их медленное проникновение через поверхность мембрану [53, 113]. Другой метод проверки гипотезы участия цАМФ в регуляции медленных каналов состоит в использовании аналога ГТФ [5'-гуанилимидодифосфат, или Gpp(NH)p], как известно, непосредственно активирующего аденилатциклазу в различных гомогенизованных клеточных препаратах. Добавление ГТФ (10^{-5} — 10^{-3} ммоль) в среду, в которой находятся культивируемые reagregаты кардиомиоцитов куриного эмбриона, при электрической стимуляции вызывает появление медленных ПД уже через 5—30 мин [118]. Все эти результаты подтверждают гипотезу о том, что внутриклеточный уровень цАМФ регулирует число медленных каналов сарколеммы кардиомиоцитов, способных активироваться при стимуляции.

Еще одним методом проверки этой гипотезы служит инъекция цАМФ клетки волокна Пуркинье сердца собаки и миокарда желудочков сердца морской свинки [119]. Было показано, что в этих клетках цАМФ вызывает на короткое время (1—2 мин) появление медленных ПД. Амплитуда и длительность индуцированных медленных ПД зависела от количества введенного цАМФ. Если медленные ПД вызывали при помощи теофиллина, то инъекция цАМФ увеличивала их скорость нарастания и амплитуду, причем эффект также продолжался в течение короткого времени.

Зависимость от метаболизма

Медленные ПД, вызываемые положительными инотропными веществами, угнетаются при гипоксии, ишемии и воздействии метаболических ядов (в том числе цианиды, динитрофенол и валиномицин), что сопровождается снижением внутриклеточного уровня АТФ [54]. Это свидетельствует о том, что угнетение метаболизма некоторым образом приводит к блокированию медленных каналов. Такой эффект развивается относительно быстро, часто за 5—15 мин. Быстрые же ПД в этих условиях не изменяются, что указывает на отсутствие зависимости быстрых Na^+ -каналов от

метаболизма. Таким образом, выявляется зависимость работы медленных каналов от энергетического метаболизма. Сокращения, сопровождающие быстрые ПД, также угнетаются при ингибировании метаболизма, что говорит о разобщении возбуждения и сокращения, как и следует ожидать при блокировании медленных каналов.

Кроме влияния метаболизма на медленные каналы, при продолжительном угнетении его, например при гипоксии в течение 60—120 мин, наблюдается постепенное уменьшение длительности обычного «быстрого» ПД, пока не остается относительно короткий «спайкообразный» компонент, обладающий тем не менее высокой скоростью нарастания [54, 91]. Таким образом, угнетение метаболизма оказывает еще одно значительно более медленное воздействие на мембрану, а именно ускорение кинетики открывания g_K , приводящее к укорочению ПД. Этот эффект может быть опосредован постепенным увеличением $[Ca^{2+}]_i$, так как в последнем случае в состоянии покоя может наступить увеличение g_K путем открывания активируемых кальцием K^+ -каналов [120].

Медленные каналы мембраны миокардиальных клеток селективно блокируются при ацидозе [121]. Например, медленные ПД, вызванные стимуляцией миокарда на фоне изопроterenолом (в растворе с 25 ммоль калия), угнетаются, т. е. уменьшаются их скорость нарастания, амплитуда и длительность при рН перфузионного раствора ниже 7,0 [122]. Полная блокада наступает при рН 6,1, а 50% ингибирования — при рН 6,6. Параллельно угнетению медленных ПД снижается амплитуда силы сокращения. Ацидоз мало или совсем не влияет на «быстрые» ПД, но сопровождающее их сокращение угнетается или блокируется в зависимости от степени ацидоза [123], т. е. возникает разобщение возбуждения и сокращения, что характерно для селективной блокады медленных каналов. Поскольку при ишемии и гипоксии развивается ацидоз, он обуславливает, по крайней мере частично, влияние этих метаболических процессов на медленные каналы [123].

Гипотеза фосфорилирования

После выявления связи между уровнем цАМФ и числом медленных каналов, способных активироваться при возбуждении, и зависимости функционирования этих каналов от энергетического метаболизма было выдвинуто предположение о том, что для приобретения медленным каналом способности активироваться при изменении мембранного потенциала необходимо фосфорилирование некоторого белка мембраны [53, 54, 116, 124—127] (рис. 26.12). Единственным точно установленным эффектом цАМФ внутри клетки является активация цАМФ-зависимой протинкиназы (расщепление димера на два активных мономера), а этот фермент в присутствии АТФ фосфорилирует большое количество разных белков. В соответствующих условиях происходит фосфорилирование ряда мембранных белков [128], что было пока-



Рис. 26.12. Рисованная модель медленного канала мембраны миокардиальной клетки.

Показаны два гипотетических состояния канала: дефосфорилированная (слева) и фосфорилированная (справа) формы. Предполагается, что для перехода канала в рабочее состояние, когда он способен активироваться при деполяризации, необходимо фосфорилирование некоторого белкового компонента его. Каждый канал управляется воротами двух видов: активационными [А-ворота $d(m)$] и инактивирующими [I-ворота $f(h)$]. Возможно, что эти ворота несут положительный заряд и поэтому чувствительны к изменению потенциала. I-ворота перемещаются медленнее. Ворота медленного канала открываются и закрываются со значительно меньшей скоростью по сравнению с воротами быстрого натриевого канала. В состоянии покоя А-ворота закрыты, а I-ворота открыты. В активированном состоянии открыты ворота того и другого вида каналов. Деполяризация приводит к относительно быстрому открыванию А-ворот, поэтому канал приобретает способность проводить ионный ток (активированное состояние), однако при этом происходит медленное закрытие I-ворот, что приводит к инактивации канала (инактивированное состояние). В процессе восстановления возбудимости при реполяризации закрываются А-ворота и открываются I-ворота (возврат к состоянию покоя, реактивация). Верапамил и Mn^{2+} блокируют медленный канал. Тетродотоксин блокирует быстрые натриевые каналы с внешней стороны, скорее всего связываясь с их устьями (по [8]).

зано на препаратах очищенных мембран сарколеммы кардиомиоцитов [129, 130].

Фосфорилируемый при этом белок может быть составной частью медленного канала. Фосфорилирование может позволить последнему активироваться при возбуждении, вызывая изменение его конформационного состояния, в результате чего либо открываются активационные ворота при деполяризации, либо увеличивается эффективный диаметр поры канала, заполненной водой, а Na^+ и Ca^{2+} получают возможность проходить через него. Независимо от механизма фосфорилированная форма медленного канала будет активной («работающей»), т. е. лишь в фосфорилированной форме канал способен активироваться (проводить ионный ток) при деполяризации до уровня порога. Дефосфорилированный канал не способен проводить ионный ток. Таким образом, вещества, повышающие уровень цАМФ путем стимуляции аденилатциклазы или ингибирования фосфодиэстеразы, будут повышать долю медленных каналов, находящихся в фосфорилированной форме, т. е. способных активироваться при деполяризации. Некоторые вещества, обладающие положительными инотропными свойствами, но не повышающие внутриклеточного уровня цАМФ и при этом все же индуцирующие медленные каналы, могут действовать путем ингибирования фосфатазы, дефос-

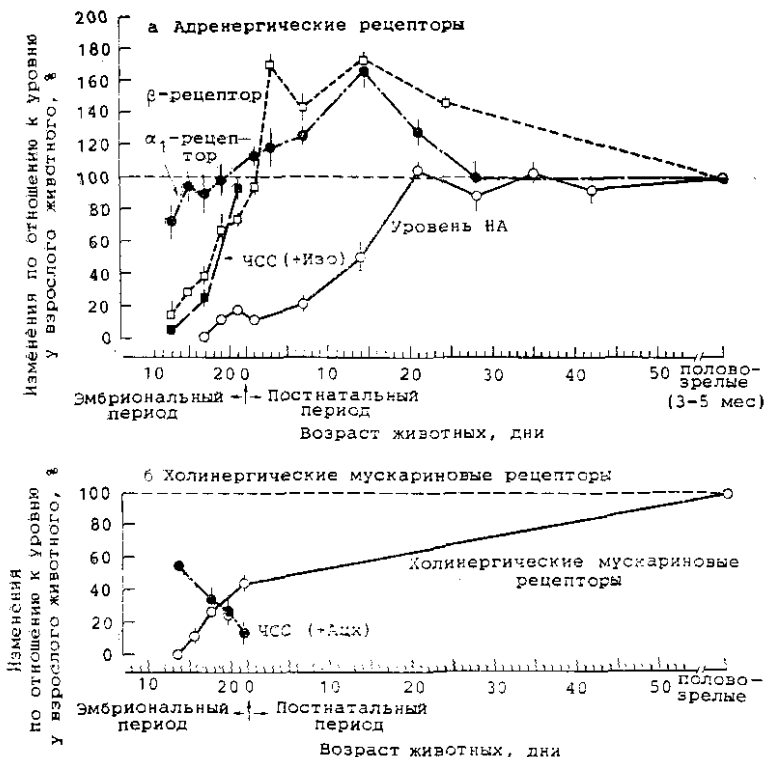


Рис. 26.13. Суммарные данные по изменениям свойств рецепторов вегетативной нервной системы в процессе онтогенетического развития мышечного сердца по отношению к характеристикам сердца взрослой мыши.

Изменяются количество адренергических рецепторов миокарда, уровень норадреналина (НА) и хронотропная реакция на изопроterenол (а). Представлены графики изменений количества α_1 - (темные кружки) и β - (светлые квадраты) адренергических рецепторов, уровня норадреналина (светлые кружки) и частоты сердечных сокращений (ЧСС) (в процентах к контролю) при воздействии изопроterenола (Изо) в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ моль (темные квадраты). На оси абсцисс — дни интраутробного развития (от 10-го до 22-го) и развитие в постнатальный период (0-55-й день и взрослые животные). Количество α_1 -адренергических рецепторов определяли по связыванию $^3\text{H-WB4101}$ ($^3\text{H-2-N}$ [2,6-диметоксифеноксигетил] аминокетил-4-бензодиазепан), а β -адренергических рецепторов — по связыванию $^3\text{H-дигидроалprenолола}$ ($^3\text{H-ДГА}$). Экспериментальные данные представлены в виде средней плюс стандартное отклонение (не показано на графике, оно меньше размера сим-вола). Средство рецепторов к агонистам ($^3\text{H-WB4101}$ и $^3\text{H-ДГА}$) в процессе развития миокарда не изменялось (не показано). Количество α_1 -адренергических рецепторов и уровень норадреналина рассчитывали на основании данных Yamada с соавт. [133], а количество β -адренергических рецепторов и хронотропную реакцию на изопроterenол — на основании данных Shen с соавт. [134]. Представлены изменения количества холинергических мускариновых рецепторов (светлые кружки) и хронотропной реакции на ацетилхолин (темные кружки) (б). Изменения плотности мускариновых рецепторов и ЧСС под воздействием ацетилхолина (АЧХ) в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ моль выражены в процентах по отношению к уровню в миокарде взрослых животных и контрольному соответственно. Количество холинергических мускариновых рецепторов определяли по связыванию $^3\text{H-QNB}$ ($^3\text{H-хиниклидинбензилат}$). Показаны средние плюс стандартное отклонение. В процессе развития средство рецепторов к антагонисту ($^3\text{H-QNB}$) не изменялось (не показано). Величины рассчитаны на основе данных Roeske и Yamashita [135].

форилирующей белок медленного канала, что также приводит к увеличению роли каналов в фосфорилированной форме.

На рис. 26.13 представлены суммарные данные об изменениях, относящихся к рецепторам миокарда мышцы и медиаторам вегетативной нервной системы в процессе эмбрионального развития. На рис. 26.13а можно видеть изменения свойств адренергических рецепторов (α_1 - и β -адренергические рецепторы), а на рис. 26.13б — изменения свойств холинергических мускариновых рецепторов. Более подробно вопрос об изменении свойств рецепторов в процессе эмбриогенеза см. в главе 16.

РЕЗЮМЕ И ВЫВОДЫ

В процессе эмбрионального развития сердца куриного эмбриона происходят значительные изменения электрических свойств поверхностной мембраны миокардиальных клеток. Кардиомиоциты трубчатого сердца эмбриона на ранней стадии развития (2—3-й день) характеризуются небольшой абсолютной величиной потенциала покоя (около -40 — -50 мВ), несмотря на то что $[K^+]_i$ в этих клетках почти та же, что и в сердце половозрелой курицы. Низкий потенциал покоя связан с низкой проницаемостью мембраны для K^+ (P_K). Этим же объясняется высокая степень автоматизма в кардиомиоцитах желудочков сердца эмбрионов на ранней стадии развития. В процессе эмбриогенеза P_K быстро увеличивается, достигая величины, характерной для сердца половозрелой курицы, к 12-му дню развития. При этом потенциал покоя достигает -80 мВ, а автоматизм угнетается. В миокарде эмбрионов на ранней стадии обнаружена низкая активность (Na^+ , K^+)-АТФазы, повышающаяся в процессе эмбрионального развития.

Потенциалы действия кардиомиоцитов эмбриона на 2—3-й день развития отличаются небольшой скоростью нарастания ($+\dot{V}_{\max}$), равной 10 — 30 В/с. На такие медленно нарастающие ПД тетродотоксин практически не оказывает воздействия, а гиперполяризация не приводит к увеличению скорости их нарастания. Они зависят в основном от $[Na^+]_o$. Таким образом, в миокарде эмбрионов на ранней стадии развития быстрые Na^+ -каналы либо отсутствуют, либо находятся в очень небольшом количестве, а входящий ток, определяющий развитие ПД, переносится преимущественно через медленные каналы, нечувствительные к ТТХ. Медленные Na^+ -каналы блокируются верапамилом, но не блокируются Mn^{2+} (1 ммоль). Однако последние угнетают сокращение таких кардиомиоцитов, по-видимому, за счет блокирования входа Ca^{2+} . Поступление в клетки Ca^{2+} зависит от их тока по медленным Ca^{2+} -каналам, которым скорее всего уже содержатся в поверхностной мембране. Во многих отношениях трубчатое сердце эмбриона на ранней стадии развития напоминает пульсирующий кровеносный сосуд и его электрические свойства во многом сходны с таковыми гладкой мышцы сосуда.

В процессе эмбриогенеза постепенно увеличивается $+V_{\text{макс}}$. К 5-му дню $+V_{\text{макс}}$ составляет 50—80 В/с, а ТТХ способен теперь уменьшить ее до 10—30 В/с, т. е. до величины, характерной для миокарда 3-дневного эмбриона. Таким образом увеличивается число чувствительных к ТТХ быстрых Na^+ -каналов, пока на 18-й день оно не достигает уровня миокарда половозрелой курицы. Между 5-м и 7-м днем в мембране в большом количестве одновременно присутствуют как быстрые, так и медленные Na^+ -каналы. После 8-го дня ТТХ способен полностью подавить возбудимость, т. е. число медленных Na^+ -каналов уменьшается до такой степени, что они не способны поддерживать регенеративное возбуждение.

Уровень цАМФ в кардиомиоцитах эмбриона на ранней стадии очень велик, но снижается с возрастом. Высокий уровень его приводит к тому, что большая часть медленных каналов или все они находятся в фосфорилированном состоянии и способны активироваться при деполяризации. Снижение уровня цАМФ в процессе развития позволяет осуществлять контроль за числом активируемых медленных каналов. β -Адренергические рецепторы присутствуют в мембране кардиомиоцитов уже на ранней стадии развития эмбриона (2—3-й день), до установления симпатической иннервации, о чем свидетельствует способность изопротеренола повышать уровень цАМФ в этих клетках.

Медленные каналы мембраны кардиомиоцитов эмбрионов на ранней стадии развития представляют собой преимущественно медленные Na^+ -каналы, в то время как индуцируемые изопротеренолом медленные каналы на более поздних стадиях развития представляют собой медленные Na^+ , Ca^{2+} -каналы.

В миокарде эмбрионов мыши на ранней стадии развития также регистрируются медленно нарастающие ПД, нечувствительные к ТТХ. Основное отличие от миокарда куриного эмбриона состоит в том, что медленные каналы мембраны кардиомиоцитов эмбриона мыши, проводящие ток, ответственный за развитие ПД, относятся к типу медленных Ca^{2+} -, а не медленных Na^+ -каналов.

В сердце куриного эмбриона (3-й день развития), выделенном до установления иннервации и помещенном в культуру ткани на 2 нед или снабжаемом кровью от хордон-аллантоисной мембраны эмбриона-донора, не наблюдается появления быстрых Na^+ -каналов или других признаков дифференцировки. Это свидетельствует о том, что для дальнейшей дифференцировки кардиомиоцитов необходимы некоторые факторы, имеющиеся в условиях *in situ*, например пейрогенные. Если же сердце, растущее в условиях культуры ткани, на несколько дней поместить в экстракт миокарда половозрелой курицы, обогащенной РНК, то в мембране кардиомиоцитов появляются чувствительные к ТТХ быстрые Na^+ -каналы. Их индукция блокируется ингибиторами синтеза белков, например циклогексамидом. Таким образом, синтез специфических мембранных белков контролирует появление в мембране быстрых Na^+ -каналов. Следовательно, можно индуцировать даль-

нейшую дифференцировку миоцитов, развитие которых в смысле электрических свойств мембраны было остановлено в условиях *in vitro*. Миокардиальные клетки, выделенные трипсином из сердца куриного эмбриона на ранней стадии развития и помещенные в условия культуры клеток на несколько недель, не способны к дальнейшей дифференцировке *in vitro*, если они не обработаны экстрактом из миокарда половозрелой курицы, обогащенным РНК.

Кардиомиоциты, выделенные из желудочков сердца куриного эмбриона на поздней стадии развития и помещенные в условия монослойной культуры клеток, быстро дедифференцируются и становятся сходными с кардиомиоцитами эмбрионов на ранней стадии развития. Например, из клеточной мембраны исчезают почти все быстрые Na^+ -каналы, вместо них появляются медленные, и кардиомиоциты становятся автоматически активны вследствие понижения R_k ; кроме того, в них практически исчезают миофибриллы. Если же позволить таким клеткам reagрегировать с образованием небольших шариков и инкубировать их в условиях культуры в течение 1—3 нед, они снова приобретают электрические свойства, характерные для высокодифференцированных кардиомиоцитов. В мембранах этих клеток восстанавливаются рецепторы для катехоламинов, гистамина и ангиотензина. В культивируемых клетках миокарда желудочков (и предсердий) имеются рецепторы к ацетилхолину. Таким образом, при создании соответствующих условий высокая степень дифференцировки культивируемых миокардиальных клеток может сохраняться. Кроме того, дедифференцированные клетки в условиях монослойной культуры вновь приобретают электрические свойства, присущие высокодифференцированным кардиомиоцитам, если их поместить в делипидированную сыворотку, причем в их мембране восстанавливается высокий уровень холестерина.

На основании результатов изучения деполяризации и увеличения входа Na^+ и Ca^{2+} в клетки миокарда, находящиеся в монослойной культуре, под действием вератридина при учете блокирования этих эффектов тетродотоксином, было выдвинуто предположение, что в мембране дедифференцированных клеток может существовать некоторое количество «молчащих» (не «работающих») быстрых натриевых каналов, открывающихся под действием вератридина. С этим предположением согласуется присутствие в миокарде куриного эмбриона на ранней стадии развития (3-й день) небольшого числа мест специфического связывания ^3H -ТТХ (местами специфического связывания ^3H -ТТХ служат преимущественно быстрые Na^+ -каналы).

Число мест специфического связывания ^3H -ТТХ увеличивается в процессе эмбриогенеза почти в 6 раз одновременно с увеличением $+\dot{V}_{\text{макс}}$ потенциала действия, что подтверждает увеличение числа быстрых Na^+ -каналов. Однако степень стимуляции поступления $^{45}\text{Ca}^{2+}$ в кардиомиоциты под действием вератридина не зависит от возраста эмбриона, что свидетельствует против концепции «молчащих» быстрых Na^+ -каналов в сердце эмбрионов на

ранней стадии развития, но в пользу того, что вератридин влияет на каналы другого типа, например, на медленные Na^+ , Ca^{2+} -каналы или на Na^+ -каналы покоя, а не только на быстрые Na^+ -каналы.

Вещества, оказывающие положительное инотропное действие на миокард, например норадреналин, гистамин и метилксантины, вызывают быстрое появление дополнительного числа функционирующих медленных Na^+ , Ca^{2+} -каналов в мембране кардиомиоцитов эмбрионов на поздней стадии развития. После блокирования быстрых Na^+ -каналов при действии ТТХ эти вещества обуславливают появление медленных ПД при электрической стимуляции. Поскольку норадреналин, гистамин и метилксантины быстро повышают внутриклеточный уровень цАМФ, упомянутые результаты позволяют предположить, что уровень последнего регулирует число функционирующих медленных каналов. Экзогенный цАМФ вызывает те же эффекты, но значительно более медленно, и то время как введение его в клетку сопровождается увеличением числа функционирующих медленных каналов за несколько секунд.

Медленные каналы мембраны кардиомиоцита очень чувствительны к блокирующему действию различных метаболических ядов, к гипоксии и ишемии. Однако эти воздействия не влияют на быстрые Na^+ -каналы, но угнетают сокращения, сопровождающие нормальные «быстрые» ПД, т. е. вызывают разобщение возбуждения и сокращения, чего и следует ожидать при блокировании медленных каналов. Следовательно, последние, в отличие от быстрых, зависят от энергетического метаболизма. Медленные каналы, также в отличие от быстрых, чувствительны к блокирующему действию ацидоза.

Поскольку функционирование медленных каналов зависит от уровня цАМФ и энергетического метаболизма, то можно предположить, что для открывания медленных каналов под влиянием деполяризации необходимо фосфорилирование некоторого белка, входящего в состав этих каналов, с помощью цАМФ-зависимой протеинкиназы и в присутствии АТФ. Благодаря особым свойствам медленных каналов возможна регуляция входа Ca^{2+} в кардиомиоциты с помощью таких внешних факторов, как стимулирующее влияние вегетативной нервной системы или гормонов крови, а также с помощью внутренних факторов, например уровня внутриклеточного рН или АТФ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Rosenquist G., De Haan R. L.* Migration of precardiac cells in the chick embryo: a radioautographic study. — *Contrib. Embryol. Carnegie. Inst. Wash.*, 1966, vol. 263, p. 113—121.
2. *LeDouarin G., Obracht G., Coraboeuf E.* Determinations regionales dans l'air cardiaque presomptive mises en evidence chez l'embryon de poulet par la methode microelectrophysiologique. — *J. Embryol. exp. Morphol.*, 1966, vol. 15, p. 153—167.
3. *Renaud D.* Etude electrophysiologique de la differentiation cardiaque chez l'embryon de poulet. Thesis. University of Nantes, 1973.

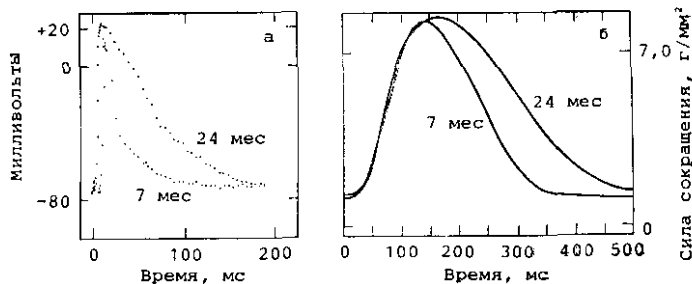


Рис. 27.2. Зависимость электрической и механической активности миокарда от возраста.

Типичные трансмембранные потенциалы действия, зарегистрированные в сосочковой мышце правого желудочка сердца взрослой (7 мес) и старой (24 мес) крысы (а). Мышцы стимулировали с постоянной частотой 24 миг⁻¹ в растворе Krebsa — Рингера, содержащем 2.5 ммоль Са²⁺, при температуре 29 °С. Длину мышцы подбирали для получения максимальной силы сокращения ($L_{\text{макс}}$). Типичные записи сокращения в изометрическом режиме сосочковой мышцы правого желудочка сердца взрослой и старой крысы, находящейся в тех же условиях (б). Цитировано по [19].

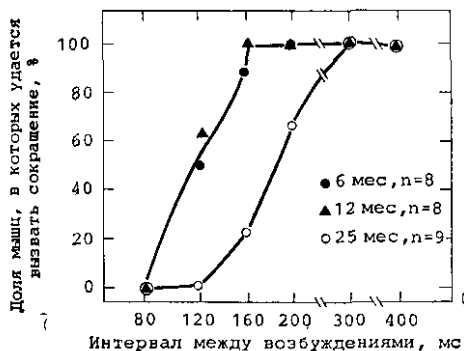


Рис. 27.3. Возраст и изменение силы сокращения в зависимости от межстимуляционного интервала (по [16]).

менения ионных токов в фазы плато и реполяризации потенциала действия еще предстоит изучить. К числу реальных гипотез о влиянии на эти изменения возраста относятся: а) увеличение медленного входящего тока или б) задержка развития тока электрогенного (Na⁺, Ca²⁺)-обмена или выходящего K⁺ тока, возможно, из-за задержки или других отличий в вызванном возбуждением транзиторном увеличении миоплазматической концентрации ионов Са²⁺.

Удлинение с возрастом изометрического сокращения (см. рис. 27.26) наблюдали на многочисленных препаратах миокарда животных разных видов [16, 21, 22]. Точное соотношение между удлинением потенциала действия и увеличением длительности сократительного цикла еще предстоит установить. Влияние на них возраста можно объяснить тем, что: (а) вероятно, более длительная деполаризация задерживает восстановление миоплазматической концентрации ионов Са²⁺ до уровня, регистрируемого перед

возбуждением, что задерживает расслабление; б) более позднее повышение концентрации ионов Ca^{2+} в миоплазме при возбуждении приводит к более позднему развитию выходящих токов; в) пролонгация электрических и механических параметров не взаимосвязана и независимо отражает более продолжительное восстановление градиентов ионов на клеточной мембране и в миоплазме до уровня покоя. Удлинение всего цикла электромеханического сопряжения в миокарде старых крыс приобретает особое функциональное значение при прогрессирующем укорочении интервала между двумя последовательными стимулами (рис. 27.3). Обращает на себя внимание то, что при укорочении интервала между стимулами до 160 мс сокращение вызывается только в 20% мышц, полученных от старых крыс, а при 120 мс способность сокращаться теряли все исследованные мышцы. Это может быть обусловлено в первую очередь электрической рефрактерностью, например, задержанным восстановлением механизмов возбуждения, необходимых для начала высвобождения Ca^{2+} из внутриклеточных запасников, и/или задержкой восстановления их внутриклеточной концентрации до уровня покоя после окончания предыдущего сокращения. По-видимому, именно в этом заключается причина электромеханической диссоциации, которая может быть вызвана у животных этого вида [23].

Саркоплазматический ретикулум

В изолированных кардиомиоцитах или механически сканированных клеточных фрагментах небольшое увеличение количества Ca^{2+} в миоплазме влияет на их высвобождение из саркоплазматического ретикулума [24, 25], что можно назвать «вызванное Ca^{2+} высвобождение Ca^{2+} ». Будучи запущенным, цикл высвобождения и повторного захвата Ca^{2+} может повторяться бесконечно, не требуя дополнительного поступления Ca^{2+} в клетку, т. е. при некоторых условиях загрузки ее Ca^{2+} происходит спонтанное Ca^{2+} — Ca^{2+} высвобождение [24, 25]. Результаты недавно проведенных исследований с применением лазерных спектрометрических методов свидетельствуют о том, что вызванное Ca^{2+} высвобождение кальция из саркоплазматического ретикулума происходит и в интактных препаратах, полученных из сердца животных разных видов [26, 27]. В частности, на препаратах сердца крысы в экспериментальных условиях, аналогичных отображенным на рис. 27.2 и 27.3, т. е. обычно создаваемых при изучении механизмов электромеханического сопряжения в сердечной мышце *in vitro*, продемонстрировано возникновение спонтанных осцилляций концентрации Ca^{2+} в миоплазме благодаря его высвобождению из саркоплазматического ретикулума.

Возрастные различия в поглощении и высвобождении Ca^{2+} саркоплазматическим ретикулумом могли бы частично объяснить неспособность мышцы к сократительной реакции в ответ на экстрастимул (см. рис. 27.3). В некоторых условиях сканирован-

129. *Carty D., Sperelakis N., Villar-Palasi C.* Ca²⁺-antagonistic drugs reverse cyclic AMP-dependent phosphorylation of heart sarcolemmal proteins. — *Biochem. Pharmacol.* (submitted for publication).
130. *Rinaldi M. L., Capony J. P., Demaile J. C.* The cyclic AMP-dependent modulation of cardiac sarcolemmal slow calcium channels. — *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1982, vol. 14, p. 279—289.
131. *Sperelakis N., McLean M. J.* The electrical properties of embryonic chick cardiac cells. — In: *Fetal and newborn cardiovascular physiology. Vol. 1: Developmental aspects*/Ed. L. D. Longo, D. D. Reneau. — New York: Garland, 1978, p. 191—236.
132. *Sperelakis N., McLean M. J.* Electrical properties of cultured chick heart cells. — In: *Recent advances in studies on cardiac structure and metabolism. Vol. 12*/Ed. N. S. Dhalla, T. Sano. — Baltimore: University Park Press, 1978, p. 645—666.
133. *Yamada S., Yamamura H. I., Roeske W. R.* Ontogeny of C¹-adrenergic receptors in the mammalian myocardium. — *Eur. J. Pharmacol.*, 1980, vol. 68, p. 217—221.
134. *Chen F.-C. M., Yamamura H. I., Roeske W. R.* Ontogeny of mammalian beta-adrenergic receptors. — *Eur. J. Pharmacol.*, 1979, vol. 58, p. 255—264.
135. *Roeske W. R., Yamamura H. I.* Maturation of mammalian myocardial muscarinic cholinergic receptors. — *Life Sci.*, 1978, vol. 23, p. 127—132.

Глава 27

СТАРЕНИЕ СЕРДЦА

Э. ДЖ. ЛАКАТТА (E. J. LAKATTA)

ВВЕДЕНИЕ

Как количественные, так и качественные оценки деятельности сердечно-сосудистой системы зависят от возраста исследуемого организма [1—4]. В связи с этим результаты изучения функции сердца у животных одного возраста неполны и представляют собой лишь одну точку из непрерывного множества. Исчерпывающее понимание его функции при стрессах и в условиях патологии должно быть основано на том, что возрастные изменения модифицируют субстрат, который подвергается воздействию стресса или патологического процесса, и что проявления заболевания определяются не только им самим, но отражают взаимосвязь его и возраста. Ярким примером этой зависимости могут служить механическая перегрузка сердца [5] или результаты адаптации миокарда к хронической физической нагрузке [6].

В настоящей главе суммированы данные, полученные при изучении влияния старения на функции сердца, обсуждаемые в других главах книги. Такой подход представляется оптимальным для наиболее естественного включения зависимых от возраста факторов в круг современных представлений деятельности сердца в норме и патологии. Основное внимание уделено изучению сердца половозрелого животного. Кроме того, внимание будет сконцентрировано на процессах старения сердца крысы, так как большая часть исследований в этой области была проведена на этой модели.

Масса сердца и его ультраструктура

Отмечено, что у многих видов животных, а также у человека [2, 7] масса сердца увеличивается при старении. Постепенное повышение систолического артериального давления у человека, обусловленное, по-видимому, увеличением жесткости главных артерий служит, по всей вероятности, причиной гипертрофии сердца [2]. У грызунов некоторых линий гипертрофия бывает без повышения давления в покое, хотя у особой других линий по мере старения развивается гипертензия, которая может стать причиной гипертрофии сердца [7, 8]. У крыс линии Вистар изучали биохимию и физиологию сердца при старении; степень гипертрофии левого желудочка, определяемая в возрасте между 6 и 24 мес, составляет у них 20—40% в зависимости от того, относят массу

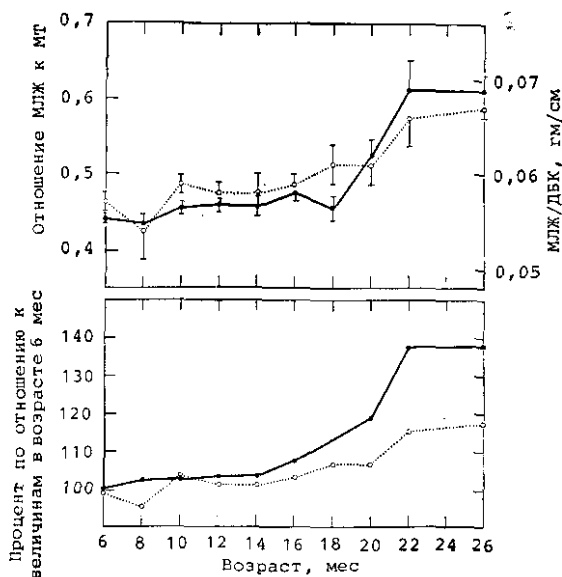


Рис. 27.1. Зависимость отношения массы левого желудочка к массе тела (МЛЖ/МТ; темные кружки) и к длине большеберцовой кости (МЛЖ/ДБК; светлые кружки) от возраста у крыс линии Вистар.

В нижней части рисунка представлены те же соотношения, нормированные по величинам, соответствующим возрасту 6 мес (по [9]).

сердца к размеру животного, т. е. к длине задней конечности, или к массе тела (рис. 27.1). Поскольку масса тела уменьшается при старении, степень гипертрофии, 40%, оцениваемой путем отношения массы левого желудочка к массе тела, по-видимому, завышена [9]. В абсолютных величинах масса левого желудочка увеличивается на 20%. Содержание воды в сердце не изменяется, поэтому, хотя концентрация гидроксипролина почти удваивается [10], его абсолютное количество может объяснить только 1—2% увеличения массы сердца. Средний объем клеток увеличивается приблизительно на 20% между периодами зрелости и старости, поэтому почти все увеличение массы органа обусловлено увеличением их массы [9]. Для этого возрастного диапазона не было получено количественных оценок плотности внутриклеточных оргanelл. У этой линии крыс не развивается коронарная атеросклероз, поэтому невозможно определить возраст сердца по внешнему виду коронарных артерий при использовании светового микроскопа [10]. При количественном изучении плотности капилляров и мышечных волокон выявили снижение первой из них и уменьшение их отношения [11, 12]. Как и в большинстве других тканей, с возрастом в клетках происходит накопление гранул липофусцина [13], но это не имеет функционального значения.

Сердце старой особи по многим функциональным изменениям напоминает сердце, гипертрофированное при повышении физической нагрузки в эксперименте. К ним относятся изменения в нем уровня катехоламинов, формы потенциала действия, длительности цикла сокращения, вязкостно-эластических свойств, скорости аккумуляции Ca^{2+} саркоплазматическим ретикулумом, активности миофибриллярной АТФазы и синтеза белков [1, 4]. Поскольку

предстоит обсуждение возрастных изменений в сердце, важно определить, не могут ли они быть обусловлены гипертрофией самой по себе.

ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКОЕ СОПРЯЖЕНИЕ

Потенциал действия

Зависимость от возраста после наступления периода половозрелости потенциала действия изучали на миокарде предсердий и желудочков крысы, желудочков морской свинки и проводящих сердечных миоцитах собаки [14—19]. В нерастянутом предсердии крысы [14, 15] существенное увеличение продолжительности потенциала действия происходит начиная с возраста 2 мес до наступления периода половозрелости (6—12 мес) без каких-либо дальнейших изменений по мере старения (до 28 мес). Аналогичным образом не обнаружено изменений длительности потенциала действия или рефрактерного периода в эндокарде желудочка крысы без преднагрузки при исследовании их в возрасте от половозрелости до наступления старости [16]. Также от возраста зависит потенциал действия нерастянутых проводящих сердечных миоцитов в сердце собаки [17].

Потенциал действия не представляет собой нечто неизменное, а зависит от многих экспериментальных факторов. К одним из них относится обратная связь между возбуждением и сокращением, т. е. либо механические факторы, либо концентрация Ca^{2+} в миоплазме модулируют длительность потенциала действия [20]. Для изучения связи между ним и сокращением обе величины необходимо регистрировать одновременно. На изолированных сосочковых мышцах правого желудочка сердца морской свинки в условиях одновременной регистрации изометрического сокращения и трансмембранного потенциала действия при частоте стимуляции 30—400 в 1 мин показано, что продолжительность как фазы плато потенциала действия, так и цикла сокращения увеличиваются у особей в возрасте 26—40 мес по сравнению с возрастом 3—4 мес. Эти данные не позволяют определить, происходят ли эти изменения в период от половозрелости до старости или же, как и в ненагруженных препаратах миокарда крысы [14], они происходят в основном в период взросления животных. В сосочковой мышце из правого желудочка в условиях изометрического сокращения на максимуме кривой сила—длительность у старых животных (24 мес) наблюдали удлинение потенциала действия и сократительного цикла мышц по сравнению со зрелыми (6—8 мес) животными [19]. Типичные потенциалы действия сосочковых мышц у половозрелых и старых животных представлены на рис. 27.2а, а типичное изометрическое сокращение — на рис. 27.2б. Мышцы старых особей по сравнению с половозрелыми отличались большими величиной овершута, областью выше уровня 0 мВ и временем реполяризации [19]; эти отличия наблюдались в широком диапазоне концентрации ионов Ca^{2+} . Конкретные из-

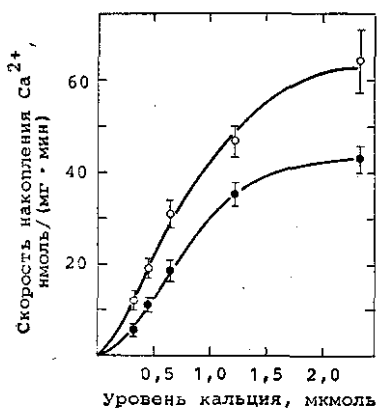


Рис. 27.4. Скорость накопления Ca^{2+} пузырьками саркоплазматического ретикулума, выделенными из сердца крыс в возрасте 6—8 (светлые кружки) и 24—25 мес (темные кружки). Достоверность различий составляет $<0,001$ (по [30]).

ным кардиомиоцитам, выделенным из сердца старой крысы, действительно необходима большая концентрация Ca^{2+} для того, чтобы начал высвобождаться кальций из саркоплазматического ретикулума [28]. Кроме того, скорость поглощения Ca^{2+} изолированными везикулами саркоплазматического ретикулума в диапазоне P_{Ca} , который, как предполагается, наблюдается в клетках после возбуждения, существенно снижена у старых животных по сравнению с половозрелыми (рис. 27.4). Аналогичный результат был получен при сравнении изолированных фрагментов саркоплазматического ретикулума из сердца молодых (3—4 мес) и старых особей (24—25 мес) [29]. Кроме того, предполагается, что угнетение транспорта Ca^{2+} представляет собой результат возрастных изменений в сопряжении гидролиза АТФ с системой транспорта [29], так как возрастных изменений в активности $(\text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+})$ -АТФазы обнаружено не было. Однако поскольку в этом исследовании не был изучен саркоплазматический ретикулум сердца половозрелых (6—12 мес) животных, невозможно определить, относится ли это к процессу старения сердца, или отражает процесс развития.

Снижение скорости поглощения Ca^{2+} саркоплазматическим ретикулумом может приводить к задержке расслабления не только в данном цикле сокращения (см. рис. 27.26), но и влиять на сократительные ответы, вызываемые последующими экстрастимулами (см. рис. 27.3), так как степень загрузки ретикулума Ca^{2+} может быть недостаточной для реакции на стимул, вызывающий их высвобождение [28]. Таким образом, и большую длительность сокращения, и задержку восстановления нормального цикла электромеханического сопряжения в сердце старого животного можно объяснить возрастными различиями в скорости транспорта Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикулуме или пороге его высвобождения. И хотя фундаментальные механизмы возрастных различий (см. рис. 27.2, 27.3, 27.4) требуют дальнейшего разъяснения, они настолько поразительны, что модель старения крысы могла бы оказаться важным инструментом для изучения электромеханического сопряжения в сердце [30].

ГЕНЕРАЦИЯ СИЛЫ, ЖЕСТКОСТЬ И УКОРОЧЕНИЕ

В мышце, активированной Ca^{2+} , жесткость и развиваемая ею сила определяются взаимодействием миофибрилл (т. е. количеством поперечных мостиков) и их геометрической связью с пассивными структурами, например коллагеновыми волокнами и мембранными системами. Силу и жесткость последних (пассивные свойства) можно отделить от таковых, зависящих от активации, при создании условий, в которых можно предположить, что активация миофибрилл Ca^{2+} отсутствует. В классической механике такое допущение может быть сделано для интервала между стимулами (т. е. диастолический период) или при отсутствии стимуляции. Однако результаты некоторых недавно проведенных исследований свидетельствуют о том, что такое допущение несправедливо для сердечной мышцы, особенно миокарда крысы, в которой происходит ритмичная случайная асинхронная активация миофибрилл Ca^{2+} в отсутствие стимуляции, что представляет собой результат спонтанных осцилляций концентрации Ca^{2+} и объясняет некоторую малую часть напряжения покоя [26, 31].

В условиях, в которых можно было бы измерять только пассивные свойства мышцы, точная характеристика активации миофибрилл на основе измерений силы и жесткости требует моделирования геометрической конфигурации или связи миофибрилл и пассивных вязкостно-эластичных структур. Измерение силы и жесткости в некотором диапазоне активации миофибрилл Ca^{2+} , а не при каком-либо одном их уровне, позволяет до некоторой степени преодолеть эту проблему и получить информацию относительно взаимодействия миофибрилл.

В мышечных препаратах, химически скапнированных с помощью детергента, установившееся значение напряжения, развиваемого в том диапазоне P_{Ca} , который, вероятнее всего, достигается при возбуждении, не изменяется с возрастом (рис. 27.5а). Тот факт, что на форму кривой зависимости относительной величины силы от P_{Ca} не влияет возраст (рис. 27.5б), также свидетельствует о том, что он не влияет и на чувствительность тропонина С к Ca^{2+} .

В мышечных препаратах с интактными мембранами вследствие присутствия в них сарколеммного барьера и секвестрации Ca^{2+} внутри клетки механическое напряжение, развиваемое в ответ на стимуляцию, изменяется в более широком диапазоне концентраций ионов кальция в перфузате ($[\text{Ca}^{2+}]_o$). В интактном миокарде половозрелой крысы активное напряжение изменяется в относительно более узком диапазоне $[\text{Ca}^{2+}]_o$ по сравнению с другими видами животных (рис. 27.6). Такой выраженный сдвиг зависимости развиваемой силы сокращения от уровня ионов кальция у крысы при низкой $[\text{Ca}^{2+}]_o$ не может быть обусловлен различиями в зависимости механического напряжения от $[\text{Ca}^{2+}]_o$ (см. рис. 27.5), так как эта зависимость практически одинакова у всех видов животных [28]. Такое различие связано скорее всего с видовыми различиями загрузки клеток Ca^{2+} . Поскольку частота

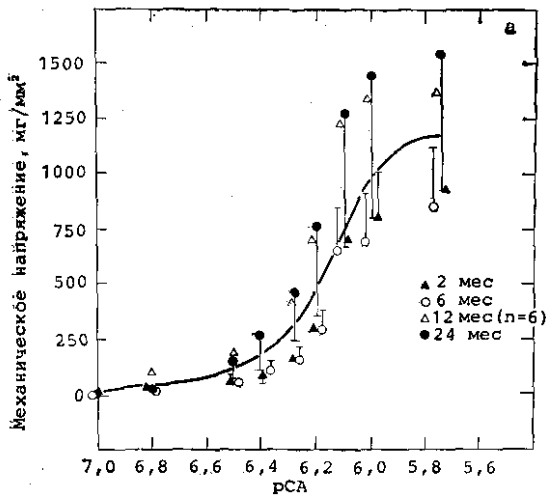
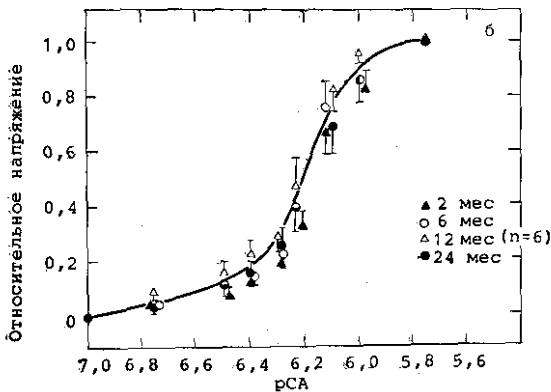


Рис. 27.5. Возраст и величина механического напряжения миокарда крысы в зависимости от pCa.

Исходные данные (а) и данные, нормированные на максимальную величину напряжения для каждого возраста в отдельности (б) (по [32]).



и амплитуда осцилляций внутриклеточной концентрации кальция, о которых упоминалось ранее, зависят от степени загрузки им клеток, изменения интенсивности флюктуаций рассеянного света, возникающих из-за осцилляций концентрации Ca^{2+} , отражают изменения нагрузки ими клеток даже в отсутствие стимуляции [26, 33]. Как показано на рис. 27.6а, этот метод позволяет выявить повышенную нагрузку кардиомиоцитов крысы ионами кальция, что, по-видимому, и определяет сдвиг зависимости силы от $[\text{Ca}^{2+}]_o$ у животных этого вида (рис. 27.6б). Следует отметить, что в изолированной сердечной мышце сила сокращения уменьшается при уровне $[\text{Ca}^{2+}]_o$, превышающем некоторое оптимальное значение (см. рис. 27.6б). В связи с этим изучать влияние $[\text{Ca}^{2+}]_o$ или других инотропных факторов, способствующих повышению уровня кальция в клетках, следует при оптимальных концентрациях $[\text{Ca}^{2+}]_o$, т. е. не достигающих 3 мМоль для миокарда крысы, стимулируемого с низкой частотой при умеренно низкой температуре окружающей среды; при малой $[\text{Ca}^{2+}]_o$ реакция

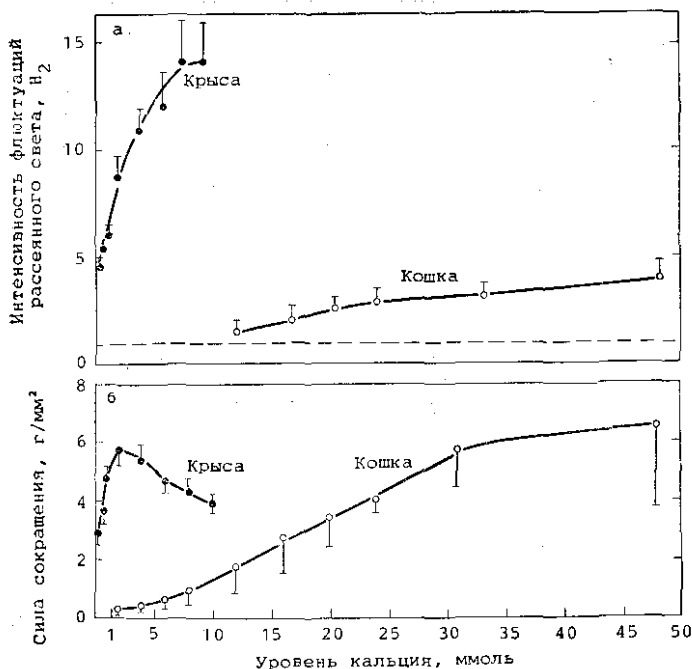


Рис. 27.6. Влияние внеклеточной концентрации Ca^{2+} на флюктуации интенсивности рассеянного света, вызванные спонтанными диастолическими колебаниями внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , измеряемые до начала очередного возбуждения (а), и силу сокращения в ответ на возбуждение (б) в изолированном миокарде крысы ($n=3$).

Частота стимуляции составляла 2 мин^{-1} , температура — 29°C . Важно отметить, что представленные кривые изменяются в зависимости от частоты стимуляции, особенно это относится к миокарду кошки. Кроме того, частота флюктуаций рассеянного света выше, чем частота внутриклеточных колебаний концентрации Ca^{2+} , вызывающих флюктуации, так как амплитуда движения отдельных частей клетки в несколько раз превышает длину волны лазерного излучения ($0,5 \text{ мкм}$), используемого для определения микроскопических движений.

что на инотропные воздействия качественно сходна с реакцией миокарда животных других видов [21, 31, 34]. Старение не влияет на зависимость развиваемой силы сокращения от $[\text{Ca}^{2+}]_0$ при оптимальных значениях его (рис. 27.7а). Кроме того, при оптимальной $[\text{Ca}^{2+}]_0$ влияние длины мышцы в покое, которая также изменяет степень активации миофибрилл при заданной величине $[\text{Ca}^{2+}]_0$ [35, 36], на развиваемую силу сокращения не изменяется с возрастом (рис. 27.7б).

Несмотря на то что амплитуда силы сокращения не изменяется с возрастом, другие характеристики сократительного ответа зависят от него. Например, в миокарде старого животного удлиняются сократительный ответ (см. рис. 27.2б) и период повышенной жесткости (рис. 27.8а), но увеличиваются как время достижения максимума этих параметров, так и продолжительность периода расслабления. Такие результаты, были получены в несколь-

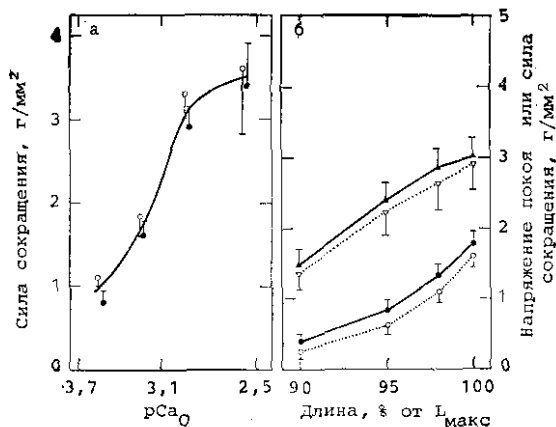


Рис. 27.7. Влияние внеклеточной концентрации Ca^{2+} и длины мышцы в покое на механическую активность миокарда.

Влияние концентрации Ca^{2+} на силу сокращения свободно идущей трабекулы, выделенной из левого желудочка сердца взрослой (6–8 мес; темные кружки) и старой (25 мес; светлые кружки) крысы линии Вистар (а). Мышцы стимулировали с частотой 24 мин^{-1} в изометрическом режиме при температуре 29°C (по [4]). Влияние длины мышцы в покое на напряжение покоя (кружки) или силу сокращения (треугольники) свободно идущей трабекулы, изолированной из левого желудочка сердца взрослой (темные символы) и старой (светлые символы) крысы (б). Частота стимуляции составляла 24 мин^{-1} , внеклеточная концентрация Ca^{2+} — $2,5 \text{ ммоль}$. $L_{\text{макс}}$ — длина, при которой сила сокращения была максимальной (по [17]).

ких независимо проведенных исследованиях [6, 7, 37], на основании чего предполагают, что по мере старения замедляется процесс активации миофибрилл миокардиальных клеток [4]. Кроме того, при старении увеличивается коэффициент наклона (α) кривой зависимости жесткости мышцы от силы сокращения (рис. 27.8б). По-видимому, это не связано с возрастными изменениями пассивных (т. е. не зависящих от активации миофибрилл) вязкостно-упругих свойств, так как коэффициент α , определяемый в покое (до возбуждения миокарда), не зависит от возраста [7, 37].

Изменения продолжительности сократительного цикла и периода увеличенной жесткости, а также коэффициента α в цикле сокращения, выявляемые в миокарде старых крыс по сравнению с половозрелыми, могут варьировать в зависимости от физического статуса животного [6]. На рис. 27.9 можно видеть зависимость от умеренной ежедневной физической нагрузки (бег по тредмилу в течение 5 мес (приблизительно 20% от продолжительности жизни крысы) длительности цикла сокращения в зависимости от длины миокардиального препарата (рис. 27.9а) и $[\text{Ca}^{2+}]_0$ (рис. 27.9б). Следует обратить внимание на то, что умеренная физическая нагрузка не влияла на параметры сократительного ответа миокарда, включая его длительность, у половозрелых крыс. Однако продолжительность цикла сокращения миокардиального препарата старой крысы уменьшается до уровня,

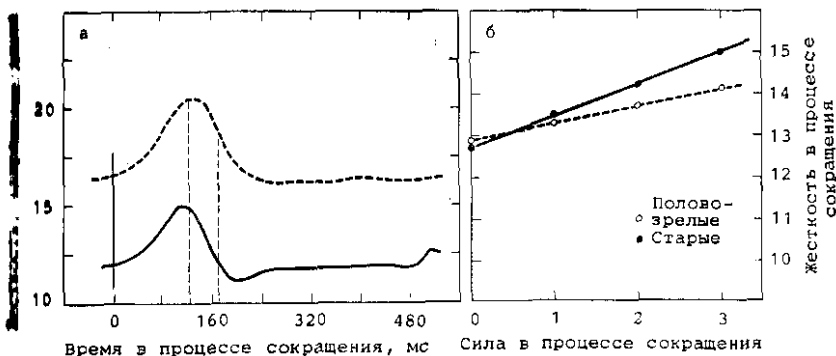


Рис. 27.8. Влияние возраста на жесткость миокардиальных препаратов.

Изменение жесткости мышцы в процессе сокращения свободно идущей трабекулы, оторванной из левого желудочка сердца старой ($n=17$, пунктир) и взрослой ($n=8$, сплошная линия) крысы (а). Для измерения жесткости мышцы при изометрическом сокращении была сконструирована система с сервомотором, способным на изометрических условиях производить небольшие изменения длины препарата. С помощью такой системы можно накладывать флюктуации любой длины на исходную длину с максимальной амплитудой до 0,24 мм и частотой до 100 Гц. В настоящие исследования использовали синусоидальные флюктуации длины с максимальной амплитудой до 0,025 мм. Управляющая цепь ограничивает количество прикладываемых флюктуаций 20 последовательными циклами с частотой 25 Гц и генерирует синусоидальный сигнал для стимуляции мышцы электрическим полем с помощью плавающих электродов (3 мс, супрамаксимальная интенсивность), подключенных к стимулятору Grass SD5. Синхронимпульс вырабатывается после прохождения 1,5 флюктуации с частотой 25 Гц. Такая последовательность повторяется каждые 5 с. Между последовательными тестирующими циклами сокращения вызывали контрольное сокращение (без флюктуаций длины). Путем вычитания записи контрольного силы сокращения из записи силы сокращения на фоне флюктуаций длины получали обусловленный прирост силы сокращения. Исходя из изменений силы сокращения и длины препарата, рассчитывали динамическую жесткость мышцы, определяемую как dT/dL . В основе зависимости жесткости от силы в цикле сокращения мышцы были расписаны коэффициенты изменения жесткости (б). Жесткость в цикле сокращения описалась линейной функцией от силы (жесткость $=\alpha F + B$), наклон которой изменяется по мере роста животного. Наклон прямых α составляет $0,41 \pm 0,05$ для миокарда взрослой крысы ($n=8$) и $0,76 \pm 0,05$ для миокарда старой ($n=17$) с $p < 0,03$. Точка пересечения прямых с осью ординат (б) не зависела от возраста: $12,9 \pm 0,14$ для миокарда взрослой крысы и $12,7 \pm 1,3$ для миокарда старой крысы (по [37]).

соответствующего таковому у более молодых животных. Точно так же в миокарде старых животных, тренированных на тредмиле, уменьшаются продолжительность периода повышенной жесткости в цикле сокращения и коэффициент наклона ее зависимости от силы сокращения, а в миокарде половозрелых животных такие изменения не выявляются [6]. Эти результаты не только демонстрируют возможность модификации некоторых механических свойств миокарда тренированных на тредмиле старых крыс, но и служат удивительным примером того, как возраст влияет на механическую тренированность миокарда. Поскольку физическая нагрузка не влияет на количество коллагена в миокарде [38, 39], увеличением его количества нельзя объяснить возврат длительности сокращения и других механических свойств миокарда старой крысы к уровню более молодого животного [10]. Кроме того, можно отметить, что такая физическая нагрузка не изменяет массу сердца или отношение ее к массе тела животного любого возраста, но предотвращает удлинение сократительного ответа и периода повышенной жесткости в процессе сокращения миокарда у

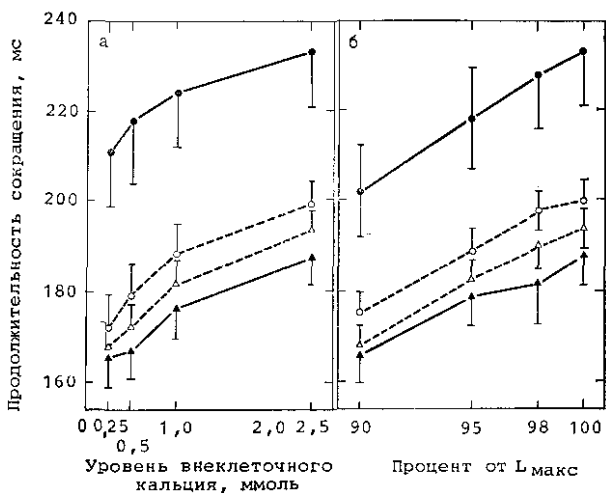


Рис. 27.9. Влияние хронической физической нагрузки на длительность сокращения (время от артефакта стимула до момента половины расслабления) свободно идущей трабекулы левого желудочка сердца половозрелой и старой крысы.

Показана зависимость от длины мышцы (а) и внеклеточной концентрации Ca^{2+} (б). Треугольники — крыса в возрасте 6–8 мес; кружки — 24 мес; сплошная линия — контроль, пунктирная — нагрузка. Мышцы стимулировали с частотой 24 мин^{-1} при 29°C ; длина мышцы (а) равна $L_{\text{макс}}$, внеклеточная концентрация Ca^{2+} (б) — $2,5 \text{ ммоль}$. Физическая нагрузка практически не влияла на амплитуду силы сокращения или максимальную скорость ее развития в каждой возрастной группе (по [6]).

старого животного. Это свидетельствует о том, что такие изменения в миокарде старых животных нельзя объяснить его гипертрофией при старении. Такой вывод подтверждается и результатами другого исследования, в котором у половозрелой крысы, гипертрофию миокарда, степень которой соответствовала таковой у старого животного, вызывали частичным пережатием аорты [7]. Хотя для препаратов миокарда, выделенных из гипертрофированного левого желудочка, и характерно увеличение длительности сократительного ответа и коэффициента « α » по сравнению с контролем, они были значительно меньше наблюдаемых в миокарде старых животных.

Увеличение жесткости миокарда, в результате чего развивается сила сокращения, является лишь одной из важнейших функций сердечной мышцы. Другая важная функция состоит в укорочении миокардиальных волокон, цель которого заключается в изгнании крови из полостей сердца. Скорость укорочения, согласно теории скользящих нитей и поперечных мостиков для сокращения мышцы, определяется в конечном итоге кинетикой цикла движения поперечных мостиков. Скорость укорочения обратно пропорциональна нагрузке, при которой миофибриллы вынуждены сокращаться. При очень низкой нагрузке (например, равной 0, если позволяют условия эксперимента) достигается максимальная скорость укорочения, отражающая максимальную скорость

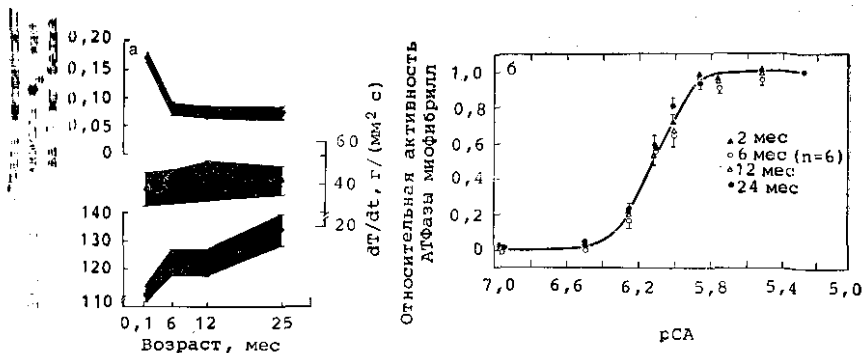


Рис. 27.10. Влияние возраста на максимальную скорость АТФазной активности миофибрилл, время до максимума сокращения (ВМС) и максимальную скорость развития силы сокращения (а). АТФазную активность миофибрилл измеряли в миофибриллах, выделенных детергентом, при $p\text{Ca}=5,8$ (б). Измеряли параметры сокращения сосочковой мышцы, выделенной из правого желудочка сердца крысы и стимулируемой с частотой 24 мин^{-1} при температуре 29°C ; длина мышцы составляла $L_{\text{макс}}$, внеклеточная концентрация Ca^{2+} — $2,5 \text{ ммоль}$ (по [32]).

цикла движения поперечных мостиков. Максимальная скорость укорочения зависит также от уровня активации миофибрилл (Ca^{2+}), который не постоянен, а изменяется в процессе сокращения. Было показано, что скорость укорочения миокардиального препарата уменьшается при старении [22, 40, 41], что позволило предположить об усилении этого эффекта в процессе роста [40]. Можно отметить, что в этих измерениях исследователи не учитывали влияния возраста на временной ход активации миофибрилл (рис. 27.10б). В связи с этим различия скорости укорочения препаратов сердца животных разного возраста, измеряемой после их освобождения (они получают возможность укоротиться) в разные моменты времени после стимуляции обусловлены, вероятно, уменьшением скорости активации миофибрилл при старении, чем с возрастом изменениями кинетики поперечных мостиков.

Косвенную оценку скорости цикла образования поперечных мостиков можно получить в некоторых случаях при измерении частоты изометрического сокращения. Например, от скорости образования поперечных мостиков частично зависит максимальная скорость развития силы (dT/dt). Однако она определяется и многими факторами, например, активной и пассивной жесткостью, синхронностью активации миокардиальных клеток, составляющих мышцу, и др. Поскольку эти параметры могут изменяться с возрастом, отсутствие изменений dT/dt (рис. 27.10а) не обязательно свидетельствует о том, что возраст не влияет на скорость образования поперечных мостиков при заданном уровне активации миофибрилл Ca^{2+} . Показано, что время до максимума силы сокращения и длительность сократительного ответа, связанные со скоростью укорочения обратной зависимостью, увеличиваются по

мере роста животного (см. рис. 27.10а). Однако эти параметры зависят и от временного изменения внутриклеточной концентрации кальция и активации миофибрилл, происходящих медленнее в миокарде старого животного. Поскольку скорость укорочения зависит от уровня активации миофибрилл ионами Ca^{2+} , удлинение сократительного ответа миокарда у старого животного можно объяснить только уменьшением скорости образования поперечных мостиков.

Максимальная активность АТФазы миофибрилл коррелирует со скоростью укорочения и обратна характерному времени сократительного ответа [42, 43]. АТФазная активность актомиозина, миозина и интактных миофибрилл (см. рис. 27.10а) действительно изменяется с возрастом, однако в основном она снижается в период взросления: при старении снижение ее происходит значительно меньше. С возрастом не изменяется зависимость активности миофибриллярной АТФазы от концентрации Ca^{2+} в широком диапазоне P_{Ca} , характерном для сократительного ответа (см. рис. 27.10б). Следует отметить, что гидролиз АТФ, если выбрать его в качестве меры активности миофибриллярной АТФазы, само по себе не представляет собой критической стадии цикла движения поперечных мостиков и что с помощью применявшихся методов измерялась скорость всей последовательности промежуточных реакций, происходящих в цикле ферментативного гидролиза, начиная со связывания Ca^{2+} и кончая высвобождением конечных продуктов [44]. В этом смысле кинетика поперечных мостиков и продолжительность периода активации, скорее всего, определяются скоростью диссоциации Ca^{2+} с мест связывания на тропонине. Влияние возраста на диссоциацию Ca^{2+} с мест связывания на миофибриллах пока не изучалось.

ВЛИЯНИЕ АДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА РАБОТУ СЕРДЦА

Согласно большому количеству данных литературы, как у человека, так и у интактных животных по мере их старения уменьшаются реакции сердечной-сосудистой системы на адренергическую стимуляцию [45]. Результаты исследований изолированных миокардиальных препаратов свидетельствуют о снижении с возрастом постсинаптического компонента реакции миокарда на активацию β -адренергических рецепторов [46—48]. Активация β -адренергических рецепторов сопровождается увеличением сократимости и уменьшением длительности сократительного ответа (релаксирующее действие). Как видно на рис. 27.11, реакция сократимости при воздействии изопротеренола уменьшается по мере старения, а величина релаксирующего действия его не изменяется. Аналогичные результаты получены при изучении влияния на миокард норадреналина [16]. Зависимость скорости поглощения Ca^{2+} изолированными препаратами саркоплазматического ретикулума в присутствии экзогенной протейкиназы от концентрации

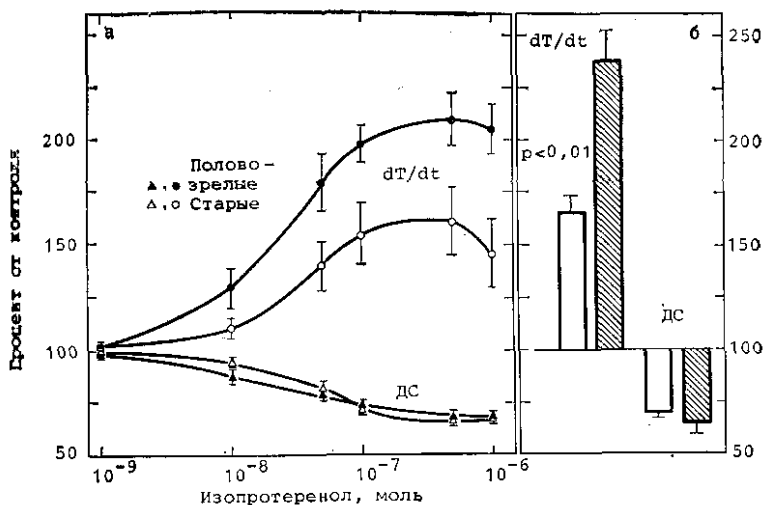


Рис. 27.11. Влияние изопротеренола и дибутрил-цАМФ на механические параметры миокарда.

Влияние изопротеренола на показатели сократимости (dT/dt) и расслабления (длительность сокращения, ДС) межпредсердной перегородки у половозрелой (темные кружки) и старой (светлые кружки) крысы (а). Перфузию препарата производили через сосуды перегородки. В отсутствие изопротеренола dT/dt не зависит от возраста, ДС значительно больше у старой крысы. Влияние дибутрил-цАМФ на максимальную скорость развития силы сокращения (dT/dt) и ДС (б) (по [46]).

цАМФ в широком диапазоне не изменяется с возрастом [49, 50]. Поскольку увеличение скорости поглощения Ca^{2+} считают одним из предполагаемых механизмов релаксирующего действия при стимуляции β -адренергических рецепторов, можно сказать, что результаты, полученные на изолированных препаратах саркоплазматического ретикулула, согласуются с приведенными на рис. 27.11а. Основываясь на возможности разделения сократительного и релаксирующего эффектов β -адренергической стимуляции в миокарде старых животных, можно предположить, что исследование такого препарата позволяет лучше уяснить механизмы действия катехоламинов на субклеточном уровне. Уменьшение стимулирующего влияния β -адренергических агонистов на сократимость миокарда старого животного нельзя объяснить исключительно снижением реакции миофибрилл или энергетического метаболизма на повышение внутриклеточного уровня Ca^{2+} при стимуляции β -рецепторов, так как реакции миокарда на повышение $[Ca^{2+}]_i$ без их стимуляции не зависят от возраста (см. рис. 27.7). Возможный механизм изменения стимулирующего действия β -агонистов состоит в уменьшении степени фосфорилирования миофибрилл при старении, что приводит к изменению связывания Ca^{2+} и активности миофибриллярной АТФазы при данном уровне P_{Ca} . Другая гипотеза состоит в предположении о влиянии возраста на фосфорилирование белков сарколеммы или изменений от него транспорт Ca^{2+} сарколеммой. В любом случае

механизм возрастных различий в сократительной реакции миокарда на катехоламины, по-видимому, не связан с цАМФ-зависимой активацией протеинкиназы, так как повышение уровня цАМФ и степень активации протеинкиназы при действии изопротеренола на миокард половозрелого и старого животных одинаковы [47]. Это свидетельствует о том, что при старении свойства β -рецепторов не изменяются, и не этим объясняется снижение сократительной реакции на катехоламины. Это предположение дополнительно подтверждается тем, что аналогичное снижение сократительной реакции миокарда старых животных происходит и в том случае, если вместо изопротеренола в перфузат добавляют дибутирилцАМФ (см. рис. 27.11б).

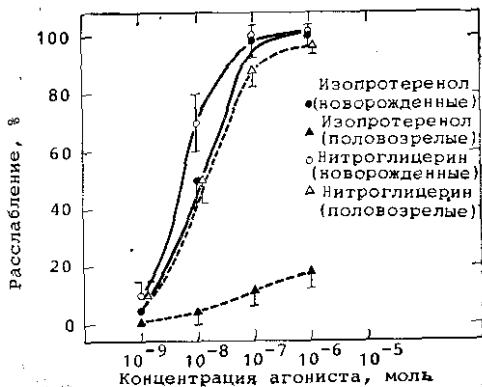
Измерение количества β -рецепторов в миокарде и их сродства к агонистам и антагонистам показали, что ни один из этих параметров не изменяется в процессе старения [47, 51]. Однако было обнаружено отличие сродства β -рецепторов к катехоламинам в миокарде старых крыс (24 мес) по сравнению с растущими животными, не достигшими половозрелости [52]. Более того, у растущего животного уменьшается повышение активности аденилатциклазы в ответ на стимулирующее действие гуаниннуклеотидов NaF и изопротеренола [52, 53]. По-видимому, это изменение происходит в период между половым созреванием и половой зрелостью животного, т. е. от 3 до 12 мес, так как препараты миокарда 12- и 24-месячного животных не отличались один от другого [53]. Интересно отметить также, что при гипертиреозидизме плотность β -рецепторов в миокарде крысы увеличивается независимо от ее возраста [54, 55].

Результаты, полученные в ряде лабораторий, показали, что по мере старения ослабевает релаксирующее действие β -агонистов на гладкую мускулатуру системных сосудов [48, 56]. Степень снижения релаксирующего действия значительна, ослабление реакции наступает уже в период полового созревания (рис. 27.12) и продолжается по мере старения животного [57, 58]. Введение старым крысам (22 мес) больших доз тироксина в течение 3 мес сопровождается заметным восстановлением реакции релаксации сосудов на стимуляцию β -адренергических рецепторов [58].

Меньше работ посвящено результатам изучения изменения холинергической регуляции работы сердца на клеточном уровне при старении. В отличие от наркотизированных половозрелых крыс ваготомия у старой крысы не вызывает увеличения частоты сердечных сокращений [59]. Было обнаружено, что по мере старения значительно снижается концентрация ацетилхолина в предсердии крысы [60]. Кроме того, у старых животных снижается порог реакции миокарда на стимуляцию блуждающего нерва [61] и уменьшается реакция на его высокочастотную стимуляцию [59]. Снижение частоты сердечных сокращений при аппликации метахолина на сердце у старой наркотизированной крысы с перерезанными блуждающими нервами было слабее по сравнению с половозрелыми или новорожденными крысятами [59]. Ацетилхолин в малых концентрациях вызывает большее изменение уровня

27.12. Влияние изопро-
 та и нитроглицерина на
 расслабления фраг-
 мента грудного участка аорты
 новорожденных (46—59 дней)
 и половозрелых (279—294 дня)
 крыс.

Обратить внимание на то, что
 реакция на нитроглицерин не из-
 меняется у старых крыс, несмот-
 ря на существенное уменьшение
 реакции на изопроterenол (из
 работы [56]).



аденизинмонофосфата в срезах миокарда старых, нежели полово-
 зрелых крыс, а при более высоких концентрациях различий не
 наблюдается [62].

СЕРДЕЧНЫЕ ГЛИКОЗИДЫ

Чувствительность миокарда крысы к сердечным гликозидам
 заметно изменяется с возрастом, так что при комнатной темпе-
 ратуре и низкой частоте электрической стимуляции его реакция
 на гликозиды исчезает на 21-й день после рождения [63]. Миокард
 половозрелой крысы в этих условиях реагирует на гликозиды
 лишь при снижении уровня кальция в кардиомиоцитах вследствие
 предварительного снижения $[Ca^{2+}]_i$. Однако концентрации глико-
 зидов, при которых проявляется положительное инотропное дей-
 ствие на сердце половозрелой крысы, значительно больше необ-
 ходимых для достижения того же эффекта в сердце животных
 других видов, что частично обусловлено более низкой способно-
 стью сарколеммы кардиомиоцитов крысы связывать гликозиды
 [10, 64]. Было показано, что реакция сократимости миокарда на
 действие гликозидов заметно угнетается с возрастом (рис. 27.13а),
 и реакция как инотропная реакция препаратов миокарда старых
 крыс на парную ритмичную стимуляцию была больше, чем на
 действие оубаина, и не отличалась от реакции миокарда полово-
 зрелого животного [34]. Влияние возраста на плотность комплек-
 сов (Na^+, K^+) -АТФазы в сарколемме и связывание с ними оуба-
 ина изучалось. Следует отметить, что в очищенных препаратах
 сарколеммы, выделенных из миокарда старых крыс, плотность
 комплексов несущественно отличалась от их плотности в
 миокарде крыс в период полового созревания [29]. У половозре-
 лых животных относительное ингибирование (Na^+, K^+) -АТФазы
 оубаином сарколеммы при действии оубаина не изменяется с
 возрастом [34]. Аналогичная картина получена при изучении ино-
 тропных реакций миокарда биглей на ацетилстрофантин [66].
 Было выявлено существенное уменьшение инотропной реакции у
 старых собак (11—13 лет) по сравнению с животными в возрасте

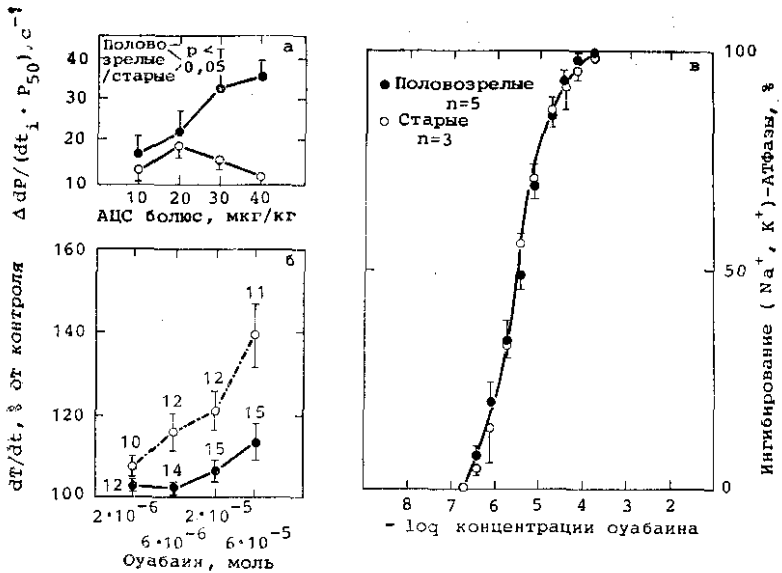


Рис. 27.13. Инотропная ($dP/(dt \cdot P)$) реакция сердца бодрствующих ненаркозизированных собак породы бигль в возрасте 3 (темные кружки) и 11—13 (светлые кружки) лет на болюсное введение ацетилстрофантидина (АПС); (а) и реакция сократимости (dT/dt) трабекулы из левого желудочка сердца половозрелой (светлые кружки) и старой (темные кружки) крысы на действие оубаина (б).

Мышцу стимулировали с частотой 24 мин^{-1} при 29°C ; длина ее составляла $L_{\text{макс}}$; внеклеточная концентрация кальция — $0,25 \text{ ммоль}$. Величина dT/dt в контроле без оубаина не зависела от возраста [34]. Ингибирование оубаином в разных концентрациях активности (Na^+, K^+) -АТФазы в препаратах мембран, изолированных из миокарда половозрелых и старых биглей (в). Абсолютная активность чувствительной к оубаину (Na^+, K^+) -АТФазы не зависела от возраста (по [66]).

1—3 лет (см. 27.13б), в то время как относительная величина ингибирования АТФазы не зависела от возраста (см. рис. 27.13в). При дополнительных исследованиях механизмов снижения реакции миокарда старых животных на сердечные гликозиды могут быть выявлены полезные подходы для разрешения старой проблемы влияния гликозидов на накопление Ca^{2+} в кардиомиоцитах.

МЕТАБОЛИЗМ

Энергетический метаболизм

Для осуществления циклического взаимодействия актина и миозина в кардиомиоцитах необходимо в период диастолы поступление определенной энергии в виде АТФ к внутриклеточным насосам, поддерживающим $[Na^+]_i$ и $[Ca^{2+}]_i$ на уровне, далеком от термодинамического равновесия, а в период систолы — к сократительным белкам для обеспечения их относительного перемещения. Для выяснения точной связи метаболизма с функцией мио

нредполагается, что необходимо одновременно изучать эти два локуса использования энергии, что было предпринято при определении влияния возраста на аэробный метаболизм в изолированном сокращающемся сердце при перфузии по Лангендорфу [67]. Авторы этой работы выявили, что после 30 мин работы с максимальной нагрузкой умеренно (приблизительно на 20%) снижаются потребление кислорода, окисление пальмитата и уровень АТФ и фосфоиремитина, уменьшается отношение АТФ/АДФ в сердце крыс линии Фишера в возрасте 24—28 мес по сравнению с более молодыми животными (5—12 мес). Примерно на столько же в миокарде старых крыс увеличивался гликолиз (статистически достоверно). Однако не была измерена полная совершаемая сердцем работа, т. е. рассчитываемая на основании изменений систолического напряжения в стенках желудочков в процессе сердечного цикла. В связи с этим не ясно, действительно ли уменьшение аэробного метаболизма в миокарде старых крыс способствует уменьшению работы сердца против внешних сил, определяемой по произведению частоты сердечных сокращений на систолическое давление [67]. Другая гипотеза состоит в том, что уменьшение поступления кислорода в миокард обусловлено снижением на 20% от максимальной величины коронарного кровотока на 1 г массы сердца [67, 68]. При этом снижается верхний предел скорости окислительного метаболизма и увеличивается роль гликолиза при работе с максимальной нагрузкой. В гомогенизо-ванном миокарде старых крыс увеличение скорости гликолиза, сопровождающееся снижением аэробного метаболизма, было еще более выражено по сравнению с миокардом половозрелых животных. В результате было выдвинуто предположение о том, что в процессе старения повышается относительная роль гликолиза по сравнению с аэробным метаболизмом в общем производстве энергии в кардиомиоцитах [69]. Однако исследователи не контролировали функциональное состояние миокарда. В митохондриях, выделенных из миокарда старой крысы, скорость окисления пальмитата меньше, чем в митохондриях половозрелой [70], что может быть еще одним объяснением уменьшения скорости окислительных процессов в интактном сердце старой крысы при использовании пальмитата в качестве субстрата. Снижается так-же скорость дыхания при окислении других субстратов, например глутамата с пируватом или глутамата с малатом, однако скорость окисления некоторых субстратов, таких как сукцинат или аскорбат, в митохондриях миокарда старых и половозрелых крыс одинакова. Влияние возраста на энергетические процессы в митохондриях см. в обзоре [71].

При снижении P_{O_2} в перфузате энергетический метаболизм смещается в сторону гликолиза. Миокард старых животных реагирует так же, как миокард половозрелых, противостоять длительным периодам гипоксии (рис. 27.14). После окончания периода гипоксии сила сокращения восстанавливалась одинаково у животных обеих групп. Длительность сократительного ответа у них при реоксигенации превышала контрольные величины, но более всего

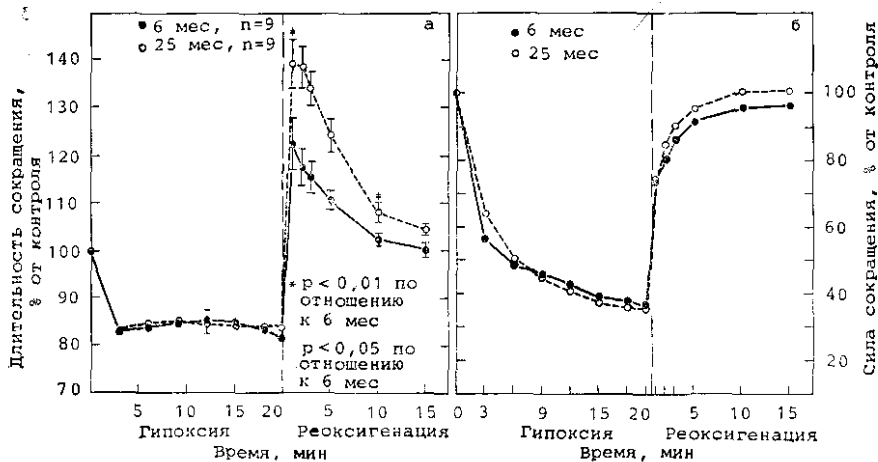


Рис. 27.14. Влияние возраста крысы на силу (а) и длительность (б) сокращения препаратов миокарда при гипоксии и реоксигенации.

Мышцы стимулировали с частотой 24 мин^{-1} при 29°C , длина их составляла $L_{\text{макс}}$, внеклеточная концентрация $\text{Ca}^{2+} - 2,2 \text{ ммоль}$. Без гипоксии сила сокращения не зависела от возраста, а длительность сокращения увеличивалась, если животное было в возрасте старше 24 мес (по [16]).

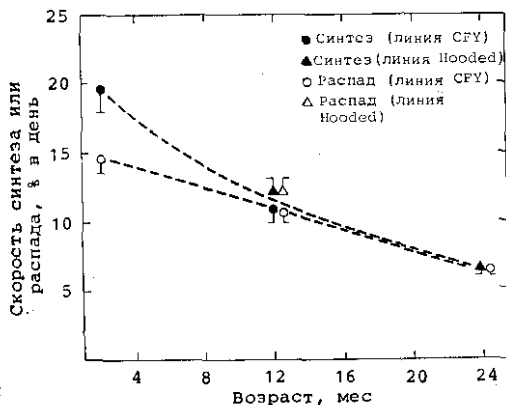


Рис. 27.15. Влияние возраста на синтез белков in vivo в миокарде крыс двух линий (по [77]).

это выражено в миокарде старых животных [20]. При реоксигенации в состоянии покоя кратковременно повышается миоплазматический уровень кальция, поэтому увеличение длительности сократительного ответа можно объяснить изменением характеристик систем удаления его из миоплазмы, что подтверждается результатами изучения изолированных везикул саркоплазматического ретикулума миокарда старых крыс (см. рис. 27.4).

Метаболизм белка

Влияние возраста на метаболизм белка изучали в миокарде мышц и крыс разных линий как у интактных животных, так и в изолированном сердце, а также в гомогенате и искусственных

системах. Было показано, что синтез белка уменьшается в процессе взросления животного до стадии полной зрелости [72—77]. По сравнению с миокардом 3-месячных крыс у 24-месячных уровень РНК снижен на 20%, скорость синтеза РНК — на 50%, а белка — на 35% [76]. Эти результаты свидетельствуют о том, что с возрастом в кардиомиоцитах уменьшается число рибосом, а поскольку скорость разрушения РНК в миокарде старых крыс также снижена на 40% по сравнению с молодыми, скорость транскрипции также снижается. Кроме того, при добавлении экзогенной транспортной РНК скорость синтеза белка в гомогенате миокарда 3-месячных крыс не изменялась, тогда как у старых крыс на 40—50% увеличивался синтез. В связи с этим предполагают, что с возрастом замедляется и процесс трансляции. Все эти результаты однозначно свидетельствуют о том, что скорость синтеза белка в миокарде снижается после окончания роста и что это можно объяснить замедлением процессов транскрипции и трансляции. Целью проведенного недавно исследования, в котором сравнивали скорости синтеза и разрушения белка в миокарде животных трех возрастов, было выяснение того, изменяются ли синтез и разрушение белков в процессе старения [77]. Следует обратить внимание на то, что в возрасте между 12 и 24 мес на 45% уменьшается скорость как синтеза, так и разрушения белка (рис. 27.15). Скорость синтеза его в миокарде мышцы снижается на 26% в возрасте между 7-м и 26-м месяцем; после введения тиреоидных гормонов она увеличивается в миокарде старых мышной до уровня, наблюдаемого у молодых [73]. Таким образом, даже после окончания стадии созревания происходит дальнейшее уменьшение скоростей синтеза и разрушения белка в миокарде как мыши, так и крысы. Уменьшение скорости его метаболизма означает, что время жизни белков миокарда в сердце старых животных увеличено, однако в настоящее время неизвестны эффекты, влияющие на скорости синтеза и разрушения белка и работу сердца. Следует отметить, что при гипертрофии миокарда у молодых животных, вызванной перегрузкой левого желудочка давлением, скорость синтеза и разрушения его снижается также, как в сердце старых животных, что позволило предположить, что эта форма гипертрофии представляет собой ускоренное старение [75, 76, 78]. Однако для подтверждения этой гипотезы необходимы дальнейшие исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gerstenblith G., Lakatta E. G., Weisfeldt M. L. Age changes in myocardial function and exercise response. — *Prog. Cardiovasc. Dis.*, 1976, vol. 19, p. 1—21.
2. Lakatta E. G. Alterations in the cardiovascular system that occur in advanced age. — *Fed. Proc.*, 1979, vol. 38, p. 163—167.
3. Lakatta E. G. Heart. — In: *CRC handbook of physiology of aging*/Ed. E. J. Masoro Boca Ranton FL: CRC, 1981, p. 269—282.
4. Lakatta E. G., Yin F. C. P. Myocardial aging: functional alterations and related cellular mechanisms. — *Amer. J. Physiol.*, 1982, vol. 242, p. H927—H941.

Глава 28

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНОВ НА РАБОТУ СЕРДЦА

Е. МОРКИН (E. MORKIN)

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что некоторые нарушения эндокринной системы в эксперименте и клинике вызывают изменение функции сердца. Однако в большинстве случаев механизмы их неясны. Новый подход к этой проблеме позволил выяснить, что гормоны щитовидной железы регулируют изоферментный состав миозина в кардиомиоцитах желудочков [1, 2]. На основании этого можно объяснить увеличение мощности сердца как насоса и повышение активности АТФазы миозина при избытке в организме тиреоидных гормонов частично за счет усиления синтеза изофермента миозина, обладающего высокой АТФазной активностью. В норме этот изофермент составляет лишь малую часть всего миозина в кардиомиоцитах желудочков. Аналогичные изменения изоферментного состава миозина обнаружены при введении крысам с дефицитом этих гормонов трийодтиронина T_3 [3, 4]. Кроме того, на основании наличия разных изоферментов в кардиомиоцитах желудочков и регуляции их экспрессии с помощью гормонов щитовидной железы и при воздействии других факторов можно объяснить результаты ряда исследований по изменению активности АТФазы миозина при эндокринной патологии у экспериментальных животных; без учета перечисленных фактов результаты этих работ непонятны.

ГОРМОНЫ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ИЗОФЕРМЕНТЫ МИОЗИНА

Структура и функции миозина

Толстые нити образованы идущими параллельно молекулами миозина, а тонкие нити состоят из глобулярных молекул актина, соединенных вместе и образующих структуру, похожую на двойную нитку бус, перекрученных вдоль длинной оси. Миокардиальный миозин представляет собой гексамер, состоящий из двух тяжелых полипептидных цепей, относительная молекулярная масса каждой из которых составляет 210 000. Толстые цепи закручены одна вокруг другой с образованием хвоста, закрученного альфа-спиралью и обеспечивающего жесткость и большую длину молекулы, на конце они разветвляются, образуя две глобулярные головки. Каждая из них имеет место связывания и гидролиза АТФ

и отдельное, но расположенное рядом, место связывания актима. Кроме двух тяжелых цепей, молекула миозина содержит две легкие цепи: точное положение их неизвестно, но, по-видимому, они находятся где-то вблизи к месту связывания АТФ и актима на тяжелой цепи. В регуляции сокращения принимают участие также тропонин, состоящий из трех субъединиц, и тропомиозин, лежащие в канавке, проходящей вдоль тонкой нити между двумя точечками глобул актима.

В настоящее время общепризнано, что как в сердечной, так и в скелетной мышце сокращение происходит при скольжении толстой (миозиновой) нити саркомера вдоль тонкой (актиновой) нити за счет энергии, освобождающейся при гидролизе АТФ. Этот процесс регулируется изменением в миоплазме концентрации ионов кальция, которые связываются с тропониновым комплексом, находящимся на тонкой нити. В результате этого связывания изменяется конформационное состояние тропомиозина, что создает условия для взаимодействия головок миозина с актином. Считают, что взаимное скольжение нитей обусловлено циклическим взаимодействием между поперечными мостиками, образованными глобулярными головками молекул миозина и специфическими местами связывания на актиновой нити.

Результаты первых исследований гибридных молекул миозина, легкие цепи которых выделены из быстрой скелетной мышцы, а тяжелые — из медленной или наоборот, позволили определить, что, по-видимому, АТФазная активность миозина, а значит и скорость укорочения мышцы, может определяться типом легких цепей миозина. Однако впоследствии результаты экспериментов с такой гибридизацией не подтвердили влияния легких цепей миозина на скорость Ca^{2+} -АТФазной или Mg^{2+} -АТФазной активности, стимулируемой актином. Более того, было показано, что АТФазная активность миозина скелетных мышц полностью сохраняется при удалении обеих легких цепей из его молекулы.

Для того чтобы объяснить связь между взаимодействием актима и миозина и механическими явлениями, наблюдаемыми при сокращении мышцы, Lumn и Taylor [5] предложили гипотетический механизм реакции, состоящей из 4 стадий: 1) связывания АТФ и быстрой диссоциации актомиозина, 2) гидролиза АТФ свободной головкой миозина, 3) связывания актима с миозином, в котором все еще связаны продукты АТФазной реакции, и 4) отщепления продуктов реакции от миозина. Этот механизм выглядит довольно привлекательным, потому что его легко увязать со стадиями цикла образования головками миозина поперечных мостиков: 1) диссоциацией его головки или поперечного мостика от актиновой нити, 2) поворотом поперечного мостика миозина, 3) соединением поперечного мостика с актином и 4) поворотом последнего в противоположном направлении и созданием тянущего усилия.

Результаты дальнейших исследований [6, 7] показали, что для того, чтобы схема соответствовала действительности, ее необходимо значительно усложнить. Некоторые из новых концепций

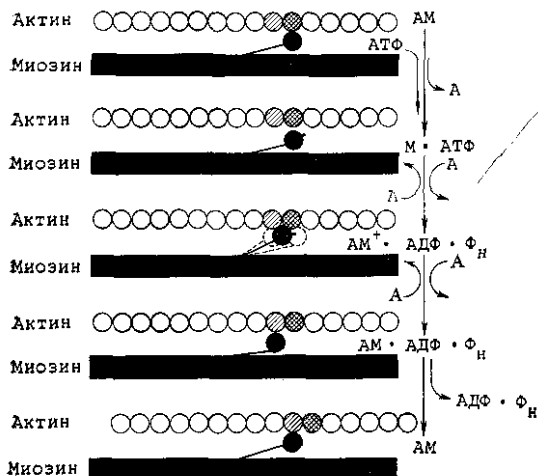


Рис. 28.1. Современная модель связи между сокращением мышцы и гидролизом АТФ, катализируемым актомиозином (АМ).

При связывании АТФ с миозином (М) происходит диссоциация актина (А) и миозина и изменяется конформация головок последнего (М), которые быстро связываются с мономерами актина и диссоциируют. Головки миозина, или поперечные мостики, играют роль в развиваемой мышцей силе сокращения лишь в том случае, если конформационные изменения сопровождаются расщеплением АТФ.

отражены на рис. 28.1. При измерении флуоресценции миозина было выявлено еще несколько стадий гидролиза АТФ его свободными головками в дополнение к одной стадии, предложенной исходно в модели Lymn и Taylor. На основании других данных считают, что продукты реакции гидролиза АТФ аденозинфосфат (АДФ) и неорганический ортофосфат (P_i) высвобождаются из миозина не за одну стадию, а последовательно. Более того, кинетические исследования позволили выявить, что реакция связывания—диссоциации между актином и комплексом миозин—продукты гидролиза протекает с очень большой скоростью; согласно оценкам, она в 1000 раз выше скорости гидролиза АТФ. В терминах модели скользящих нитей это должно означать, что поперечные мостики (головки миозина) многократно связываются с тонкой нитью и отделяются от нее за один цикл гидролиза АТФ. По-видимому, комплекс, образованный актином и миозином, только тогда создает тянущее усилие и вносит свой вклад в развитие силы сокращения, когда происходит поворот головки миозина при изменении его конформационного состояния после завершения гидролиза АТФ. В случае такого механохимического механизма в одной сократительной единице (саркомер) могут сосуществовать и работать одновременно несколько изоферментов миозина без каких-либо различий в АТФазной активности, ограничивающей скорость сокращения.

Изоферменты миозина миокардиальной клетки

К доминирующему типу волокон в кардиомиоцитах желудочков сердца относятся аналогичные миозину красных (медленных) скелетных мышц. Несмотря на внешнее сходство, в кардиомиоцитах желудочков сердца животных большинства видов содержится разное количество трех изоферментов миозина, обозначаемых V_1 , V_2 и V_3 в порядке уменьшения электрофоретической подвиж-

ности и АТФазной активности. Эти три формы миозина различаются по структуре, так как они образованы несколькими комбинациями тяжелых цепей (ТЦ) двух типов: альфа и бета. Легкие цепи миозина всех трех форм, по-видимому, одинаковы. Таким образом, каждая молекула изофермента V_1 состоит из двух альфа-ТЦ, в то время как изофермент V_3 состоит из двух бета-ТЦ. Изофермент V_2 представляет собой гетеродимер цепей альфа- и бета-ТЦ. Поскольку миозин играет основную роль в цикле образования поперечных мостиков, можно ожидать, что любое изменение относительного содержания изоферментов миозина окажет влияние на механическую активность желудочка.

Уровень в организме гормонов щитовидной железы и распределение изоферментов миозина

Влияние тиреоидного состояния животного на изоферментный состав миозина кардиомиоцитов желудочков схематически представлено на рис. 28.2. У интактной взрослой крысы дефицит тиреоидного гормона, вызванный гипопитуитаризмом или удалением щитовидной железы, стимулирует синтез изофермента V_3 и угнетает синтез изофермента V_1 . Введение тиреоидного гормона взрос-

Вид животного	Распределение при электрофорезе			Типы изоферментов
	Гипертиреозидизм	норма	Гипотиреозидизм	
Кролик				V_3 V_2 V_1
Крыса				V_3 V_2 V_1
Бык				V_3 V_1

Рис. 28.2. Влияние тиреоидного состояния на распределение изоферментов миозина в миокарде желудочков.

В эксперименте на сердце быка с гипертиреозидизмом в полосе, движущейся с наибольшей скоростью, может также содержаться изофермент V_1 .

лым нормотиреоидным кроликам, наоборот, стимулирует синтез изофермента V_1 и угнетает синтез изофермента V_2 . Поскольку у животных этих видов молекулы миозина отличаются только структурой тяжелых цепей, эти результаты были интерпретированы как указывающие на то, что тиреоидный гормон стимулирует синтез альфа-цепей и угнетает синтез бета-цепей. Этот вывод был подтвержден тем, что введение тиреоидного гормона стимулирует синтез мРНК, специфический для альфа-цепей, и угнетает синтез мРНК для бета-цепей [8].

Поразительно количественное различие изоферментного состава миозина миокарда желудочков у животных разных видов. В сердце крысы около 80—85% миозина приходится на изофермент V_1 , 5—10% — на V_2 и 10—15% — на V_3 . После тиреоидэктомии и введения ^{131}I для подавления активности оставшейся ткани щитовидной железы практически весь миозин оказывается представленным изоферментом V_3 . У взрослых нормотиреоидных кроликов около 85% миозина представлено изоферментом V_3 и введение тиреоидного гормона вызывает радикальное изменение изоферментного состава, когда 85% миозина представлено изоферментом V_1 .

Степень изменения изоферментного состава миозина под влиянием тиреоидного гормона в миокарде животных других видов может оказаться не столь существенной. Например, в сердце теленка миозин миокарда желудочков мигрирует в фосфатном геле в виде единой полосы, которая, как считается, соответствует V_3 . После 2 нед постоянного введения тироксина появляется быстро мигрирующая полоса (V_1), составляющая 50—60% от общего количества миозина. Дефицит тиреоидного гормона, вызванный введением пропилтиоурацила в течение 2 нед, не оказал заметного влияния на преобладание в норме изофермента V_3 .

На аутопсии в миокарде человека распределение изоферментов близко к наблюдаемому в сердце кролика. Обнаружены все три их формы, однако отмечено значительное преобладание низкоактивного изофермента V_3 . К настоящему времени влияние тиреоидного состояния на изоферментный состав миозина в миокарде желудочков сердца человека окончательно не установлено. Возможно, будут обнаружены и другие формы изоферментов. Если же нет, то выявленное распределение может ограничивать потенциальные изменения или переключение направления генов человека, ответственных за синтез миозина. Поскольку уровень изофермента V_3 находится почти у верхней границы, он не может быть еще более высоким. Однако возможно увеличение количества изофермента V_1 при соответствующей стимуляции.

Корреляция между изменениями изоферментного состава миозина и механической эффективностью

При тиреотоксикозе обычно увеличиваются сердечный выброс, частота сердечных сокращений и повышается давление крови в системных сосудах [9]. Эти эффекты были частично объяснены

изменением условий периферической циркуляции под влиянием тиреоидного гормона на метаболизм. Однако в настоящее время известно также его прямое хронотропное и инотропное действие на миокард.

Положительное хронотропное действие гормона щитовидной железы на сердце было установлено еще 50 лет назад в экспериментах, в которых было выявлено, что изолированное сердце или препарат предсердия животных, которым вводили гормон, сокращаются с большей частотой, чем в контроле. Прямое инотропное действие его было определено при измерении механической активности сосочковых мышц, изолированных из сердца кошки с тиреотоксикозом [10]. В аналогичных условиях эти мышцы укорачиваются при сокращении с большей скоростью, чем выделенные из сердца нормотиреоидных кошек. Скорость развития силы сокращения в изометрическом режиме при этом выше, чем в контроле, но амплитуда силы не изменяется. Эти результаты были получены как при сохранении запасов порадrenalина интактными, так и при их истощении, а также в широком диапазоне температуры и частоты сокращения. Скорость развития силы в изометрическом режиме увеличивалась как в интактных, так и в глицеринизированных сосочковых мышцах сердца кролика с тиреотоксикозом, что согласуется с представлением о прямом действии гормона на сократительные белки.

Несмотря на то что результаты этих экспериментов, по-видимому, согласуются с данными о положительной инотропной реакции миокарда на избыток тиреоидного гормона, их нельзя прямо переносить на интактную систему кровообращения, поскольку в норме может одновременно увеличиваться частота сердечных сокращений и объем желудочков. Для того чтобы получить более ясное представление о влиянии гормонов щитовидной железы на интактное сердце, недавно были проведены исследования, в которых оценивалась механическая работа, совершаемая левым желудочком сердца телят с имплантированными ультразвуковыми датчиками для измерения диаметра полости и датчиками давления [11]. Как и следовало ожидать, введение тиреоидного гормона сопровождалось значительным увеличением частоты сердечных сокращений, повышением давления в левом желудочке и скорости нарастания давления. Внутренний диаметр левого желудочка был больше контрольного во время как систолы, так и диастолы, однако процент укорочения оставался без изменений. Увеличение конечнo-диастолического диаметра левого желудочка и систолического артериального давления приводило к повышению пикового напряжения в стенке на 30%. Несмотря на увеличение постнагрузки, средняя скорость укорочения волокон, ориентированных по окружности стенки ($V_{ок}$), не изменялась. Таким образом, в интактном сердце без нагрузки прямое инотропное действие тиреоидного гормона не сопровождается увеличением скорости укорочения волокон; она не изменяется, несмотря на увеличение постнагрузки.

Состояние сердечно-сосудистой системы при гипотиреозидизме

часто рассматривают как противоположное таковому при тиреотоксикозе, однако, согласно выдвинутой гипотезе, дефицит гормонов щитовидной железы у человека, теленка или кролика не должен влиять на изоферментный состав миозина или работу сердца, так как в сердечной мышце у них преобладает изофермент V_3 . Тем не менее как у человека, так и у животных при гипотиреозидизме наблюдали уменьшение сердечного выброса, ударного объема и частоты сердечных сокращений [9]. Изменения этих параметров скорее отражают изменения потребности периферических тканей в кислороде, чем прямое отрицательное инотропное действие на миокард. Однако у собак с гипотиреозидизмом в остром опыте с открытой грудной клеткой [12] или на изолированных сосочковых мышцах [10] было также обнаружено угнетение сократительной способности миокарда. Следует отметить, что в этих экспериментах различия между животными с гипотиреозидизмом и контрольными были меньше, чем между животными с нормотиреозидным и гипертиреозидным состоянием, причем они не всегда были статистически достоверными. В частности, скорость сокращения сосочковой мышцы в изотоническом режиме может быть снижена вследствие замедления процесса активации при гипотиреозидизме. В этом случае сокращение начинает развиваться после поступления волны возбуждения с некоторой задержкой по сравнению с контролем, что приводит к кажущемуся уменьшению скорости укорочения волокон. С помощью метода быстрого расслабления, вероятно, можно получить более точные оценки скорости сокращения.

Возможно, этим нельзя объяснить все результаты снижения сократительной способности сердца животного, и особенно человека, при гипотиреозидизме. Довольно часто при гипотиреозидизме у человека происходит выпот в перикард, который легко распознать с помощью эхокардиографии. Кроме того, следует учитывать и ряд других особенностей, в том числе нарушение процесса электромеханического сопряжения, снижение сократительной способности миокарда, связанное с микседематозной инфильтрацией, гипертрофию миокарда, вторичную по отношению к гипертензии, а также выраженный атеросклероз коронарных сосудов.

Изоферменты миозина в других условиях

Недавно было обнаружено, что изоферментный состав миозина миокарда желудочков изменяется в определенных условиях, не связанных с изменением тиреозидного состояния. В некоторых случаях все же удалось выявить незначительное изменение концентрации гормона щитовидной железы в плазме. Например, в желудочковой мышце сердца крысы в течение первых 2 нед после рождения изоферментный состав миозина смещается от формы V_3 к форме V_1 [13]. Примерно в тот же период развития у кролика наблюдаются те же изменения изоферментного состава миозина в сторону преобладания формы V_1 [14]. В обоих случаях изменения состава миозина совпадают с постнатальным увеличе-

нием в плазме концентрации T_4 . По-видимому, можно считать установленным, что экспрессия других ферментов вскоре после рождения связана с изменением в плазме уровня тиреоидных гормонов [15].

Другим примером служит вызываемый у крыс стрептозототицином диабет, при котором происходит угнетение сократительной способности миокарда, связанное с уменьшением АТФазной активности миозина и смещением его изоферментного состава в сторону формы V_3 [16, 17]. Уровень тиреоидных гормонов в плазме при этом снижается, а после введения экзогенного гормона нормализуется АТФазная активность миозина.

Кроме того, изоферментный состав миозина от преобладания формы V_1 к форме V_3 изменялся в миокарде крысы в процессе старения [18] и при его гипертрофии, вторичной по отношению к перегрузке желудочков объемом или давлением [19, 20]. Описано снижение сократительной способности и АТФазной активности миозина по мере старения крысы. Одновременно уменьшается уровень T_4 в плазме [21]. Отсутствуют данные о влиянии гемодинамической перегрузки на уровень в ней тиреоидных гормонов. Однако было показано, что введение крысе T_4 предотвращает уменьшение АТФазной активности, происходящее после частичного пережатия аорты [22].

Перечисленные примеры позволяют предположить, что концентрация тиреоидных гормонов в плазме может играть некоторую роль в изменении изоферментного состава миозина миокарда у разных экспериментальных животных. Однако в некоторых случаях гормон щитовидной железы может оказывать лишь «разрешающее» воздействие, а изоферментный состав миозина зависит от прямого действия других факторов. Следует подчеркнуть, что эти эффекты гормона, как и большинство других эффектов, отличаются выраженной видовой специфичностью. Многие изменения изоферментного состава миозина, выявленные на экспериментальных моделях, в частности у крысы, могут не иметь прямых аналогий с таковыми у человека.

Регуляция изоферментного состава миозина с помощью аналогов тиреоидных гормонов и других факторов

Влияние аналогов гормонов щитовидной железы, т. е. не образующихся в ней в естественных условиях, а также углеводного питания на экспрессию изоферментов миозина миокарда желудочков было недавно изучено Sheer и Morkin [23]. Во-первых, они определили относительную способность аналогов стимулировать синтез изофермента V_1 в миокарде крыс с гипотиреозом по отношению к их способности стимулировать окислительный метаболизм. С этой целью были изучены изоферментный состав миозина желудочков, образование $^{14}CO_2$ в миокарде из глюкозы или пальмитата, меченных ^{14}C , а также активность альфа-глицерофосфатдегидрогеназы (ГФДГ) печени у крыс с удаленными гипофизом

и щитовидной железой при действии L-3,5,3'-трийодтиронина (T_3), D-3,5,3'-трийодтиронина (dT_3), α -3,3',5'-трийодтиронина (rT_3), L-3, 5,3'-трийодтироацетатной кислоты ($Triac$) или 3,5-дийодтиронина (T_2). Полученные результаты не позволили выявить четких различий между эффектами этих аналогов на экспрессию изоферментов миозина и их стимулирующим влиянием на образование CO_2 и активность ГФДГ. Однако поскольку максимальный эффект аналогов был значительно меньше эффекта T_3 , т. е. они являются лишь частичными агонистами, с их помощью можно вызвать небольшое увеличение относительного количества V_1 без риска получить выраженную стимуляцию образования CO_2 .

Кроме того, было обнаружено, что изоферментный состав миозина изменяется под действием и других факторов. Высокий уровень углеводов (74% от общей калорийности за счет фруктозы или глюкозы) в корме животных с удаленным гипофизом, что, как известно, вызывает стимуляцию ряда ферментов окислительного метаболизма, повышает относительный уровень изофермента V_1 с 12 до 36%: в той же степени усиливаются образование в миокарде CO_2 и активность ГФДГ. Еще более значительный сдвиг изоферментного состава миозина происходит у животных с удаленной щитовидной железой, находящихся на диете с большим содержанием фруктозы. В этой модели относительный уровень изофермента V_1 повышается с не поддающегося определению до 28% от общего количества миозина в миокарде. У этих животных наблюдали синергизм между частичным восстановлением уровня T_3 и влиянием диеты с большим содержанием глюкозы, приводящими к экспрессии изофермента V_1 , повышению активности ГФДГ и увеличению образования CO_2 в миокарде. Другие гормоны, например изопротеренол (бета-адренергический агонист) и пропранолол (бета-адренергический антагонист), не влияли на кривые доза—эффект для T_3 . Адреналектомия вызывает у интактных крыс 33% снижение уровня V_1 и соответствующее повышение уровня V_3 .

Эти результаты свидетельствуют о том, что относительная скорость синтеза альфа- и бета-цепей миозина в миокарде желудочков может регулироваться двумя механизмами: а) тиреоидными гормонами, действующими через ядерные рецепторы и таким образом стимулирующими синтез альфа-цепей и угнетающими синтез бета-цепей; б) независимым механизмом, в котором принимают участие углеводы пищи, глюкокортикоиды и, возможно, другие факторы, влияющие на экспрессию изоферментов миозина.

В случае α 1с фермента, который также стимулируется тиреоидными гормонами и высоким уровнем углеводов в диете, было предположено, что T_3 просто усиливает первичный вызванный глюкозой сигнал [24]. Независимо от справедливости этого утверждения в любом случае кажется вероятным, что сигнал, создаваемый комплексом T_3 — рецептор, влияет на сигнал, создаваемый высоким уровнем углеводов в диете, глюкокортикоидами и др. на уровне, предшествующем трансляции.

ДРУГИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Катехоламины

В конце 50-х годов несколькими исследователями было получено подтверждение гипотезы о том, что избыток тиреоидных гормонов усиливает или потенцирует действие катехоламинов на сердечно-сосудистую систему [9]. Впоследствии же было накоплено большое количество данных, опровергающих эту концепцию. Например, положительные инотропные и хронотропные реакции миокарда на адреналин, норадреналин и стимуляцию сердечных симпатических нервов были сравнимы с таковыми у интактных собак и собак, которым вводили T_4 [25, 26]. Аналогичные результаты были получены при инфузии катехоламинов больным с тиреотоксикозом [27]. Усиление сократительной активности сосочковой мышцы, выделенной из сердца кошки, получавшей избыток тироксина, не изменялось при истощении запасов катехоламинов с помощью резерпина [10]. У них не было обнаружено увеличения количества адреналина или норадреналина в миокарде, а также выведения катехоламинов и их метаболитов с мочой. Более того, у больных с тиреотоксикозом были обнаружены низкий уровень катехоламинов и небольшая активность допамин-бета-гидроксилазы в плазме.

Эти результаты свидетельствуют о том, что тиреотоксикоз не сопровождается повышением бета-адренергической активности или гиперчувствительности к стимуляции бета-адренорецепторов. Однако было выдвинуто предположение о более тонкой взаимосвязи между тиреоидным гормоном и катехоламинами. Например, обнаружили, что тиреоидный гормон вызывает увеличение количества бета-адренергических рецепторов в миокарде крысы. Как и при других проявлениях действия гормона, увеличение количества бета-адренергических рецепторов, по-видимому, характеризуется видовой специфичностью и поэтому не обнаружено в миокарде кролика или теленка. Кроме того, гормон щитовидной железы усиливает работу внутриклеточной системы, на которой проявляется стимулирующий эффект активации бета-рецепторов, что было выявлено в экспериментах по усилению стимулирующего влияния катехоламинов на активность миокардиальной фосфоорилазы в сердце крыс после введения им T_4 . Несмотря на огромные усилия исследователей, механизм этого влияния тиреоидного гормона так и не удалось окончательно выяснить.

В экспериментах с использованием бета-адренергических антагонистов также не удалось точно установить роль катехоламинов в передаче влияния тиреоидного гормона на сердечно-сосудистую систему. Недавно эффекты бета-адренергической блокады были изучены на бодрствующих животных [28], что позволило избежать некоторых проблем, связанных с анестезией или использованием препаратов изолированного сердца. Внутривенное введение анаприлина в дозе, достаточной для того, чтобы полно-

стью блокировать бета-рецепторы, не влияло на показатели гемодинамики или механическую активность левого желудочка. Однако средняя доза препарата, необходимая для полной блокады бета-адренергических рецепторов в миокарде животного с тиреотоксикозом, оказалась в 2 раза выше, чем в миокарде нормотиреоидных животных.

Мембранное действие

Вторым возможным местом действия гормона щитовидной железы является мембрана миокардиальных клеток. Изменения ее свойств обуславливают эффекты гормона на частоту сердечных сокращений и электрическую возбудимость сердца. Наиболее ярко выраженное нарушение электрофизиологической активности миокарда при экспериментальном гипертиреозидизме состоит в уменьшении длительности потенциала действия, регистрируемого в клетках предсердий. И наоборот, при гипотиреозидизме длительность потенциала действия увеличивается. Уменьшение его длительности приводит к увеличению электрической возбудимости предсердий, о чем свидетельствует снижение порога электрической стимуляции при заданном интервале между стимулами. Этим можно объяснить повышение вероятности фибрилляции предсердий у больных с тиреотоксикозом.

Для объяснения этого действия тиреоидного гормона на свойства мембраны миокардиальных клеток было предложено несколько возможных механизмов. Считается, что и диастолическая деполяризация, и реполяризация потенциала действия частично связаны с изменением калиевой проводимости мембраны, поэтому, как предполагают, гормон может избирательно влиять на эти изменения проводимости. Уменьшение Na^+ -проводимости на фоне увеличения K^+ -проводимости также позволяет объяснить влияние гормона на диастолическую деполяризацию. Кроме того, введение тиреоидного гормона, по-видимому, вызывает повышение активности сарколеммальной (Na^+ , K^+)-АТФазы. Показано, что при этом увеличивается число молекул (Na^+ , K^+)-АТФазы в мембране без изменения удельной активности фермента. С повышением активности Na^+/K^+ -насоса согласуется обнаруженное уменьшение внутриклеточной концентрации Na^+ после введения тиреоидного гормона. Получены также данные о стимуляции им поглощения Ca^{2+} изолированными везикулами саркоплазматического ретикулула, возможно, за счет увеличения степени фосфорилирования регуляторного белка с относительной молекулярной массой 22 000 (фосфолампа), опосредованного цАМФ.

ДРУГИЕ (НЕТИРЕОИДНЫЕ) ГОРМОНЫ И РАБОТА СЕРДЦА

На работу сердца могут оказывать действие гормоны, секретируемые несколькими эндокринными железами, включая переднюю долю гипофиза и кору надпочечников. Однако в некоторых

случаях бывает трудно разделить влияние этих гормонов на работу самого сердца и на периферическое кровообращение. Кроме того, их действие может быть опосредовано взаимодействием с катехоламинами и тиреоидными гормонами. Иногда работа сердца снижается при сахарном диабете, представляющем собой комплекс расстройств и характеризующемся полным отсутствием инсулина или его относительным дефицитом. Остается спорным вопрос, развивается ли при этом истинная миокардиопатия, однако полученные недавно данные в некоторой степени подтверждают эту точку зрения. Ряд гормонов, включая гормон паращитовидной железы (паратормон), альдостерон, ангиотензин II и вазопрессин, оказывают выраженное периферическое действие, но очень мало данных в настоящий момент свидетельствуют о явном их воздействии на миокард. Далее приводится краткий обзор влияния некоторых (нетиреоидных) гормонов на работу сердца.

Гормоны передней доли гипофиза

В передней доле гипофиза секретируется по крайней мере семь полипептидных гормонов. Четыре из них (АКТ, ФСГ, ЛГ и СТГ) оказывают в основном косвенное биологическое воздействие на секрецию гормонов в специфических органах-мишенях (кора надпочечников, половые железы и щитовидная железа). В связи с этим их влияние на сердечно-сосудистую систему такое же, что и гормонов, секретируемых железой-мишенью. В настоящее время неизвестны клинические проявления нарушений функции сердечно-сосудистой системы вследствие изменения секреции пролактина или дефицита только гормона роста. Однако его избыточная секреция вызывает развитие синдрома акромегалии, который может сопровождаться признаками или симптомами нарушения работы сердца. Обычно увеличивается масса сердца, иногда значительно [29]. Кроме того, по-видимому, повышается вероятность развития гипертензии, коронарного атеросклероза и нарушений ритма сердца. Поскольку в 10—20% случаев у больных при этом развивается тяжелая форма застойной сердечной недостаточности (в отсутствие других причин), было выдвинуто предположение о специфической акромегалической миокардиопатии. При патологоанатомических исследованиях в сердце больных, кроме расширения обоих желудочков и общей гипертрофии, выявляются субэндокардиальный фиброз и гипертрофия межжелудочковой перегородки [30].

Число больных с акромегалией и субклиническими проявлениями нарушения работы сердца остается спорным. Jonas с соавт. [31] у 7 из 10 обследованных больных обнаружили уменьшение времени изгнания крови из левого желудочка (ВИКЛЖ), удлинение периода предызгнания (ППИ) и увеличение отношения ППИ/ВИКЛЖ. С другой стороны, Mather с соавт. [32] у 22 из 33 больных не обнаружили каких бы то ни было изменений фракции выброса, оцениваемой с помощью эхокардиографии, а у больных с увеличенной массой левого желудочка неинвазивными

методами исследования не удалось выявить снижение его функции. Эти авторы отметили, что аномально высокое отношение ППИ/ВИКЛЖ, обнаруженное Jonas с соавт. [31], в основном представляет собой результат укорочения ВИКЛЖ при относительно нормальной продолжительности периода предызгнания, что не может считаться типичным для субклинической формы дисфункции сердца. Некоторая вариабельность результатов может быть связана с длительностью развития болезни до начала специфического лечения.

Влияние гормона роста на рост сердца, работу желудочков и артериальное давление было экспериментально изучено на крысах [33]. Обнаружено, что удаление гипофиза предотвращает развитие гипертрофии миокарда при хроническом сдавливании аорты. Без ее пережатия развивается атрофия сердца и снижается артериальное давление. Уменьшение массы сердца по отношению к массе тела у крыс с удаленным гипофизом не удавалось скорректировать введением гормона роста, а увеличение массы сердца после сдавливания аорты в этих условиях в $1\frac{1}{2}$ раза превышало ожидаемую величину. Введение гормона крысам с удаленным гипофизом не влияло на сердечный выброс и механическую работу, совершаемую сердцем, однако после сужения аорты они были больше по сравнению с гипофизэктомированными крысами, не получавшими гормона роста. Введение крысам с удаленным гипофизом тироксина сопровождалось постепенным восстановлением массы сердца, частоты сердечных сокращений, артериального давления, сердечного выброса и работы, совершаемой сердцем, почти до нормы. С другой стороны, при сужении аорты в этом случае не происходит дополнительного увеличения массы сердца. Эти результаты свидетельствуют о том, что у крысы гормон роста играет существенную роль в поддержании массы сердца, однако снижение его работы после удаления гипофиза в основном связано с дефицитом тиреоидного гормона.

После удаления гипофиза или щитовидной железы у крысы также значительно снижалась АТФазная активность миофибрилл миокардиальных клеток [34]. При введении T_4 ее активность нормализовалась, хотя при этом не происходило общего увеличения массы тела и не нормализовалось отношение массы сердца к массе тела. Влияние удаления гипофиза на активность АТФазы миофибрилл было позднее подтверждено на очищенном миозине [35].

Гормоны коры надпочечников

К наиболее общим проявлениям недостаточной секреторной активности коры надпочечников (болезнь Аддисона) со стороны сердечно-сосудистой системы относится артериальная гипотензия. Часто возникают ортостатическая гипотензия и обмороки. Считается, что они вторичны по отношению к значительной гиповолемии и явным нарушениям электролитного состава крови. У тяжелых уменьшаются размеры сердца, что, по-видимому, отражает снижение на него нагрузки. При экспериментальной недо-

статочности коры надпочечников у крыс обнаружены аналогичные изменения артериального давления и массы сердца. Кроме того, как отмечалось выше, при этом уменьшается относительное количество изофермента V_1 миозина, обладающего высокой АТФазной активностью, которое может быть восстановлено после введения глюкокортикоидов [23].

У 80—90% больных при избытке глюкокортикоидов развивается артериальная гипертензия (синдром Кушинга). При изучении гемодинамики, электрофизиологических и рентгенологических обследований у них не было выявлено специфических аномалий сердца, за исключением обычно сопутствующих гипертензии или дисбалансу электролитного состава.

Гиперсекреция альдостерона (синдром Кона) сопровождается артериальной гипертензией и гипокалиемией. Как и в клинике, так и в эксперименте (гипертензия у крыс, вызываемая введением ацетата дезоксикортикостерона и избытком соли) не получено данных в пользу прямого влияния кортикоидов на работу сердца.

Сахарный диабет

При сахарном диабете вероятность застойной сердечной недостаточности повышается, даже если учесть влияние таких факторов, как возраст, артериальное давление, уровень холестерина в плазме, масса тела и состояние коронарных артерий [36]. Эти данные, а также данные патологоанатомических исследований [37, 38], свидетельствующие о кардиомегалии, интерстициальном фиброзе и утолщении стенок мелких субэндокардиальных коронарных артерий при диабете с клиническими признаками застойной сердечной недостаточности, позволили предположить о том, что существует определенная форма миокардиопатии, связанная с диабетом.

Были проведены дополнительные исследования для выяснения патологических механизмов миокардиопатии при диабете. Regan с соавт. [39] выявили разные степени интерстициального и периваскулярного фиброза; в интерстициальном пространстве было обнаружено значительное скопление материала, окрашенного реактивом Шиффа. В некоторых случаях выявлялись утолщения стенок интрамуральных кровеносных сосудов, обычно в умеренной степени. Отсутствуют данные в пользу того, что в патологических изменениях миокарда в этом случае играет роль атеросклеротическая окклюзия крупных или мелких артерий.

В исследование Regan с соавт. [39] была также включена оценка гемодинамических параметров у небольшой группы больных, не страдающих гипертензией, без значительных атеросклеротических изменений коронарных артерий по данным ангиограмм. У них было обнаружено систематическое уменьшение индекса ударного объема и повышение диастолического давления в левом желудочке. Повышение постнагрузки приводило к выраженному повышению давления заполнения желудочка по сравнению с нормой без изменения ударного объема. Наблюдаемые изменения,

свидетельствующие об уменьшении растяжимости миокарда левого желудочка, были интерпретированы как предвестники субклинической миокардиопатии. Результаты неинвазивных методов исследования [40, 41] также позволяют думать о нарушении функции сердца при диабете, однако нарушения такого типа, о которых сообщалось в этой работе, выявляются несистематически.

Дополнительное подтверждение эта концепция получила при экспериментальном лекарственном диабете. Результаты исследования Regan с соавт. [42] показали, что хронический диабет у собак сопровождается увеличением жесткости миокарда левого желудочка, возможно, вследствие увеличения в нем количества коллагена. Гипергликемия, вызванная *rand*, с помощью инсулина не корригировалась [43]. На ранней стадии развития диабета у крыс при введении больших доз аллоксана снижалась механическая работа сердца и уменьшались запасы макроэргических фосфатов вследствие нарушения процессов использования глюкозы [44]. Коррекция дефицита субстрата в перфузируемом сердце с помощью введения в раствор инсулина или повышения в нем уровня глюкозы способствовала нормализации уровня АТФ и механической работы сердца. Исследования на крысах с хроническим диабетом, препаратах изолированных сосочковых мышц левого желудочка и целом перфузируемом сердце позволили выявить замедление процесса расслабления и угнетение сократимости [45, 46]. Были предприняты попытки определить корреляцию между изменениями механической активности, поглощения кальция саркоплазматическим ретикулумом [47] и изоферментного состава миозина в сторону преобладания формы V_3 с низкой АТФазной активностью [17]. Все они могли быть устранены с помощью инсулина [48], но, как было отмечено, в этой модели снижается и уровень тиреоидного гормона в плазме, что может самостоятельно вызвать некоторые аномалии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Flink I. L., Morkin E. Evidence for a new cardiac myosin species in thyrotoxic rabbit. — FEBS Lett, 1977, vol. 81, p. 391—394.
2. Flink I. L., Rader J. H., Morkin E. Thyroid hormone stimulates synthesis of a cardiac myosin isozyme: comparison of the two-dimensional electrophoretic patterns of the cyanogen bromide peptides of cardiac myosin heavy chains from euthyroid and thyrotoxic rabbits. — J. Biol. Chem. 1979, vol. 254, p. 3105—3110.
3. Hoh J. F. Y., McGrath P. A., Hale P. T. Electrophoretic analysis of multiple forms of rat cardiac myosin: effects of hypophysectomy and thyroid replacement. — J. Mol. Cell. Cardiol., 1978, p. 1053—1076.
4. Hoh J. F. Y., Egerton L. J. Action of triiodothyronine on the synthesis of rat ventricular myosin isozymes. — FEBS Lett, 1979, vol. 101, p. 143—148.
5. Lynn R. W., Taylor E. W. Mechanism of adenosine triphosphate hydrolysis by actomyosin. — Biochemistry, 1971, vol. 10, p. 4617—4624.
6. Taylor E. W. Mechanism of actomyosin ATPase and the problem of muscle contraction. CRC crit Rev. Biochem., 1979, vol. 6, p. 103—165.

- Stern L. A., Chock P. B., Eisenberg E.* Mechanism of the actomyosin ATPase: effect of actin on the OTP hydrolysis step. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1981, vol. 78, 1346—1350.
- Sinha A. M., Umeda P. K., Kavinsky C. J.* et al. Molecular cloning of mRNA sequences for alpha- and beta-form myosin heavy chains: expression in ventricles of normal, hypothyroid, and thyrotoxic rabbits. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1982, vol. 79, p. 5847—5851.
9. *Morkin E., Flink I. L., Goldman S.* Physiological and biochemical effects of thyroid hormone on cardiac performance. — Prog. Cardiovasc. Dis., 1983, vol. 25, p. 435—464.
10. *Buccino R. A., Spann J. F., Pool P. E.* et al. Influence of the thyroid state on the intrinsic contractile properties and energy stores of the myocardium. — J. Clin. Invest., 1967, vol. 46, p. 1669—1682.
11. *Goldman S., Olajos M., Friedman H.* et al. Left ventricular performance in conscious thyrotoxic calves. — Amer. J. Physiol., 1981, vol. 242, p. H113—H121.
12. *Stauer B. E., Schulze W.* Experimental hyperthyroidism: depression of myocardial contractile function and hemodynamics and their reversibility by substitution with thyroid hormone. — Basic. Res. Cardiol., 1976, vol. 71, p. 624—644.
13. *Zak R., Chizzonite R. A., Everett A. W., Clark W. A.* Study of ventricular isomyosins during normal and thyroid hormone induced cardiac growth. — J. Mol. Cell. Cardiol. (Suppl. 3), 1982, vol. 14, p. 111—117.
14. *Dussault J. H., Labie F.* Development of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in the neonatal rat. — Endocrinology, 1975, vol. 97, p. 1321—1324.
15. *Greengard O., Jaindar S. C.* The prematurely promoted formations of liver enzymes in suckling rats. — Biophys. Biochem. Acta, 1971, vol. 237, p. 476—483.
16. *Dillman W. H.* Diabetes mellitus induced changes in cardiac myosin of the rat. — Diabetes, 1980, vol. 29, p. 579—582.
17. *Malhotra A., Penpargkul S., Fein F.* The effects of streptozotocin induced diabetes in rats on cardiac contractile proteins. — Circ. Res., 1981, vol. 49, p. 1243—1250.
18. *Lompre A. M., Mercadier J. J., Wisniewsky C.* Species and age-dependent changes in the relative amounts of cardiac myosin isoenzymes in mammals. — Dev. Biol., 1981, vol. 84, p. 286—290.
19. *Rupp H.* The adaptive changes in the isoenzyme pattern of myosin from hypertrophied rat myocardium as a result of pressure overload and physical training. — Basic. Res. Cardiol., 1981, vol. 76, p. 79—88.
20. *Mercadier J. J., Lompre A. M., Wisniewsky C.* et al. Myosin isozyme changes in several models of rat cardiac hypertrophy. — Circ. Res., 1981, vol. 49, p. 525—532.
21. *Frolkis V. V., Valueva G. V.* Metabolism of thyroid hormones during aging. — Gerontology, 1978, vol. 24, p. 81—94.
22. *Litten R. A., III, Martin B. J., Low R. B., Alpert N. R.* Altered myosin isozyme patterns from pressure overload and thyrotoxic hypertrophied rabbit hearts. — Circ. Res., 1982, vol. 50, p. 856—864.
23. *Sheer D., Morkin E.* Effects of thyroid hormone analogs, nonthyroidal hormones, and high carbohydrate diet on cardiac myosin isozyme expression the rat. — Fed. Proc., 1983, vol. 42, p. 2212.
24. *Mariash C. N., McSwigan C. R., Towle H. C.* et al. Glucose and triiodothyronine both induce malic enzyme in the rat hepatocyte culture. — J. Clin. Invest., 1981, vol. 65, p. 1126—1134.
25. *Margolin H. S., Gaffney T.* Effect of injected norepinephrine and sympathetic nerve stimulation in hypothyroid and hyperthyroid dogs. — J. Pharmacol. Exp. Ther., 1965, vol. 149, p. 329—335.
26. *Van der Shoot J. B., Moran N. C.* An experimental evaluation of the reputed influence of thyroxine on the cardiovascular effects of catecholamines. — J. Pharmacol. Exp. Ther., 1965, vol. 149, p. 336—345.
27. *Aoki V. S., Wilson W. R., Theilen E. O.* Studies of the reputed augmentation of the cardiovascular effects of catecholamines in patients with spontaneous hyperthyroidism. — J. Pharmacol. Exp. Ther., 1972, vol. 181, p. 362—368.

28. Goldman S., Olajos M., Pieniaszek H. et al. Beta-adrenergic blockade with propranolol in conscious euthyroid and thyrotoxic calves: dosage requirements and effects on heart rate and left ventricular performance. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1981, vol. 219, p. 394—399.
29. Heljtmancik M. R., Bradfield J. Y., Herman G. R. Acromegaly and the heart: a clinical and pathologic study. — *Ann. Intern. Med.*, 1951, vol. 34, p. 1445—1456.
30. Rossi L., Theine G., Caregario L. et al. Dysrhythmias and sudden death in acromegalic heart disease: a clinicopathological study. — *Chest*, 1977, vol. 72, p. 496—498.
31. Jonas E. A., Aloia J. F., Lane J. F. Evidence of subclinical heart muscle dysfunction in acromegaly. — *Chest*, 1975, vol. 67, p. 190—194.
32. Mather H. M., Boyd M. J., Jenkins J. S. Heart size and function in acromegaly. — *Br. Med. J.*, 1979, vol. 41, p. 697—701.
33. Beznak M. Effect of growth hormone and thyroxin on cardiovascular system of hypophysectomized rats. — *Amer. J. Physiol.*, 1963, vol. 204, p. 279—283.
34. Lifschitz M. D., Kayne H. L. Cardiac myofibrillar ATPase activity in hypophysectomized or thyroidectomized rats. — *Biochem. Pharmacol.*, 1966, vol. 15, p. 405—407.
35. Rovetto M. J., Hjalmarson A. C., Morgan H. E. et al. Hormonal control of cardiac myosin adenosine triphosphatase in the rat. — *Circ. Res.*, 1972, vol. 31, p. 397—409.
36. Kannel W. B., Hjortland M., Castelli W. P. Role of diabetes in congestive heart failure: the Framingham study. — *Amer. J. Cardiol.*, 1974, vol. 34, p. 29—34.
37. Rubler S., Diugash J., Yuceoglu Y. Z. et al. New type of cardiomegaly associated with diabetic glomerulosclerosis. — *Amer. J. Cardiol.*, 1972, vol. 30, p. 595—602.
38. Hamby R. I., Zonerach S., Sherman L. Diabetic cardiomyopathy. — *J. A. M. A.*, 1974, vol. 229, p. 1749—1754.
39. Regan T. J., Lyons M. M., Ahmed S. S. et al. Evidence for cardiomyopathy in familial diabetes mellitus. — *J. Clin. Invest.*, 1977, vol. 60, p. 885—899.
40. Amed S. S., Jafferi G. A., Narang R. M., Regan T. J. Preclinical abnormalities of left ventricular function in diabetes mellitus. — *Amer. Heart J.*, 1975, vol. 89, p. 153—158.
41. Rubler S., Sajadi R. M., Araoye M. A., Holford F. D. Noninvasive estimate of performance in patients with diabetes. — *Diabetes*, 1978, vol. 27, p. 127—134.
42. Regan T. J., Ettinger P. O., Khan M. I. et al. Altered myocardial function in chronic diabetes without ischemia in dogs. — *Circ. Res.*, 1974, vol. 35, p. 222—237.
43. Regan T. J., Wu C. F., Yeh C. K. et al. Myocardial composition and function in diabetes: chronic insulin use. — *Circ. Res.*, 1981, vol. 49, p. 1268—1277.
44. Miller T. B., Jr. Cardiac performance in isolated perfused hearts from alloxan diabetic rats. — *Amer. J. Physiol.*, 1979, vol. 236, p. H808—H812.
45. Fein F. S., Kornstein L. B., Strobeck J. E. Altered myocardial mechanics in diabetic rats. — *Circ. Res.*, 1980, vol. 47, p. 922—933.
46. Penpargkul S., Schaibe T., Yiptinsoi T., Scheuer J. The effect of diabetes on performance and metabolism of rat heart. — *Circ. Res.*, 1980, vol. 47, p. 911—921.
47. Penpargkul S., Fein F., Sonnenblick E. H., Scheuer J. Depressed cardiac sarcoplasmic reticular function from diabetic rats. — *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1981, vol. 13, p. 303—309.
48. Fein F. S., Strobeck J. E., Malhorta A. et al. Reversibility of diabetic cardiomyopathy with insulin in rats. — *Circ. Res.*, 1981, vol. 49, p. 1251—1261.

Глава 29

КАРДИОПЛЕГИЯ

ПРИНЦИПЫ И ПРОБЛЕМЫ

Х. Ю. БРЕТШНЕЙДЕР, М. М. ГЕБХАРД, К. Ю. ПРЮССЕ
(H. J. BRETSCHNEIDER, M. M. GEBHARD, C. J., PREUSSE)

СЕРДЦЕ ПРИ ТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Прекращение коронарного кровообращения, сопровождающееся истощением запасов кислорода в миокарде, и переход от аэробного метаболизма к анаэробному приводят к нарушению его сократительной функции, ацидозу и перераспределению электролитов и жидкости между внутриклеточным и внеклеточным пространствами, а следовательно, и к нарушению основных электрофизиологических процессов, изменению структуры миокарда и в конце концов его некрозу. Необратимое повреждение мышцы левого желудочка развивается значительно быстрее, чем правого желудочка, предсердий и проводящей системы. При изучении частичной или полной обратимости ишемических процессов при реперфузии или реоксигенации были выделены три фазы тотальной ишемии в терминах, первоначально разработанных для описания функциональных изменений ткани мозга при его тотальной ишемии [1].

Первая фаза, или латентный период, в течение которого функции не изменяются, совпадает по времени с периодом аэробного метаболизма миокарда благодаря поступлению кислорода из имеющихся в нем на момент прекращения коронарного притока запасов: оксигемоглобина, оксимиоглобина и физически растворенного кислорода, общее количество которых в мышце левого желудочка составляет 1—2 мл/100 г. В зависимости от совершаемой сердцем работы и потребности миокарда в кислороде при нормальной температуре тела этих запасов хватает не более чем на 1—20 с.

Как только запасы кислорода достигнут критического уровня, соответствующего парциальному давлению его ниже 5 мм рт. ст., миокард переходит на потребление энергии, вырабатываемой в результате анаэробного гликолиза и макроэргическими фосфатами. Первоначальное снижение уровня фосфокреатина (ФК) приблизительно до 3 мкмоль/г ткани левого желудочка сердца собаки, происходящее в течение первых минут, сопровождается функциональными нарушениями, вплоть до полной остановки сердца, а

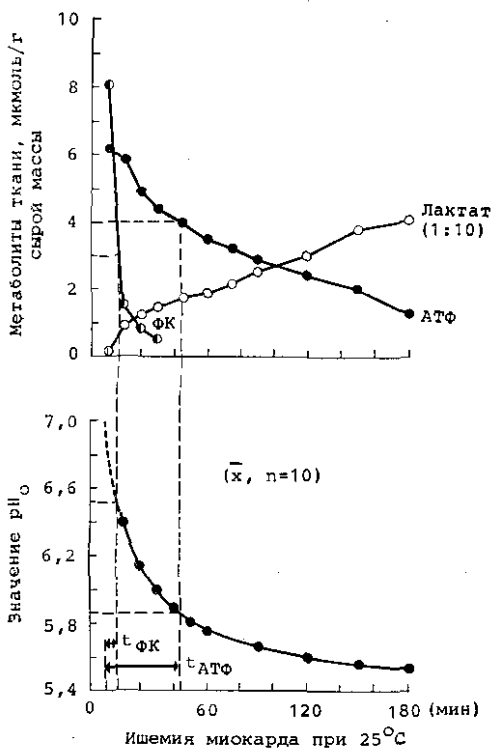


Рис. 29.1. Содержание метаболитов и внеклеточный pH в миокарде левого желудочка у собаки при ишемической блокаде сердца.
ФК — фосфокреатин.

ре увеличения периода тотальной ишемии и становится бесконечным (т. е. полного восстановления функции не наступает) при достижении уровня АТФ в мышце левого желудочка сердца собаки ниже 2 мкмоль/г. Фаза от начала ишемии до предела обратимости повреждения получила название «период возможности оживления». Авторы настоящей главы отличают его от так называемого практического периода оживления, продолжительность которого близка к таковой периода от начала ишемии до момента когда задержка восстановления составляет 20 мин, а уровень АТФ в мышце левого желудочка — около 4 мкмоль/г. В связи с этим этот период назвали временем распада АТФ ($t_{\text{АТФ}}$). В зависимости от потребности миокарда в кислороде до начала ишемии $t_{\text{АТФ}}$ в сердце собаки при температуре 25°C составляет приблизительно 40 мин (см. рис. 29.1).

также некоторыми изменениями ультраструктуры мышцы левого желудочка. Однако если реперфузию и реоксигенацию начать на этой фазе ишемии, то произойдет быстрое восстановление функций до предишемического уровня. В связи с этим авторы главы предложили назвать эту фазу периодом выживания или (на основании биохимических критериев) временем распада ФК ($t_{\text{ФК}}$). В условиях гипотермии (25°C) этот период в сердце собаки продолжается после прекращения коронарного кровотока около 5 мин (рис. 29.1).

Если период выживания пройден, то к анаэробному метаболизму в миокарде присоединяется расходование запасов АТФ. При этом значительно усиливаются изменения его ультраструктуры. Реперфузия и реоксигенация на этой стадии приводит к восстановлению предишемических функций лишь после определенного времени, которое экспоненциально увеличивается по мере

КАРДИОПЛЕГИЯ: ПРИНЦИПЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ

Остановка сердца, вызванная любым методом, способствующим увеличению устойчивости миокарда к ишемии, называется кардиоплегией. Теоретически ее можно достичь в каждую из трех фаз путем увеличения отношения поступления кислорода к потребности в нем миокарда. После прекращения коронарного кровотока это отношение становится меньше 1, т. е. при таком поступлении кислорода дефицит энергии в миокарде со временем усиливается и в конце концов приводит к его необратимым повреждениям [1, 2]. Его можно увеличить путем: а) снижения потребности миокарда в кислороде, которая до наступления ишемии может быть приравнена его потреблению миокардом ($M\dot{V}O_2$), а во время ишемии должна составлять или превышать скорость энергетического выхода анаэробного метаболизма [$\dot{E} = (1,5 \times \Delta \text{ лактата} + \Delta \sim P) : \Delta t$]; б) увеличения энергетических запасов в миокарде в виде кислорода, гликогена или макроэргической фосфатной связи; в) усиления выхода метаболической энергии за счет увеличения количества АТФ, синтезируемого на одну молекулу кислорода (коэффициент АТФ/ O_2) в аэробных условиях, или увеличения коэффициента отношения синтеза энергии к ее расходу [$\eta = (1,5 \times \Delta \text{ лактата}) : (1,5 \times \Delta \text{ лактата} + \Delta \sim P)$] в анаэробных условиях.

Энергетические потребности любого органа состоят из основной потребности в энергии (основной обмен) и потребностей для совершения работы. В сердце последнее слагаемое определяется в основном работой сократительной системы. Эта часть энергетической потребности может изменяться в 15 раз, если судить по $M\dot{V}O_2$ при максимальной нагрузке в сравнении с фибриллирующим сердцем или сердцем, сокращающимся без нагрузки [2, 3], и в 100 раз, если сравнить с сердцем, остановленным в диастоле (рис. 29.2). Роль мембранных систем транспорта ионов в основном обмене очень незначительна [3]. Базальные энергетические потребности миокарда в основном определяются необходимостью поддержания структуры кардиомиоцитов и его готовности к совершению работы. Неодинаковая возможность восстановления функций сердца в процессе разных фаз тотальной ишемии (аэробная задержка, t_{0K} и после t_{0K}) свидетельствует о том, что потребляющие энергию системы, которые определяют величину совершаемой работы, могут быть временно «выключены» без снижения функции органа. Однако если основной обмен достигает уровня ниже некоторого минимума, в нем всегда наступают по крайней мере обратимые повреждения.

Временная остановка сердца может быть достигнута с помощью любого электрофизиологического или фармакологического воздействия, вызывающего инактивацию электрофизиологических механизмов и сократительной системы, в фазу диастолы. Из многочисленных известных в настоящее время методов остановимся лишь на тех, которые продолжают использоваться в клинике (см. обзор Pearce и соавт. [4]).

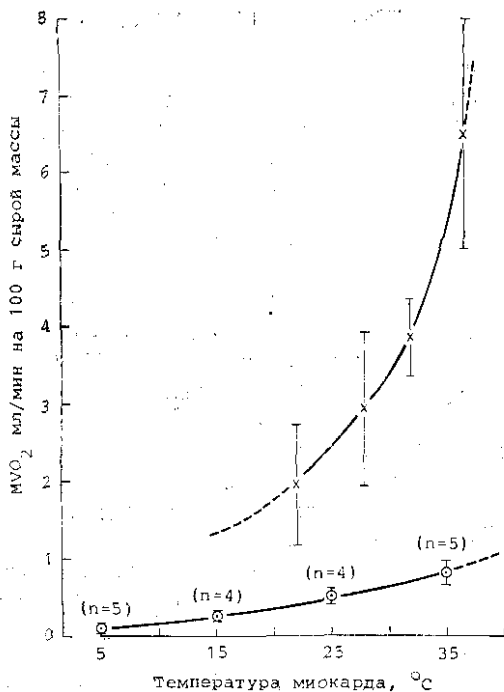


Рис. 29.2. Зависимость скорости поглощения кислорода (MVO_2) от температуры в сердце собаки при фибрилляции желудочков (крестики); [6] и внутрикоронарной перфузии кардиоплегическим раствором, содержащим гистидиновый буфер (кружки); ($\bar{x} \pm S. D.$) небольшое количество Na^+ при отсутствии Ca^{2+} [17].

и подавить механическую активность миокардиальных клеток в соответствии с хорошо известной обратной зависимостью активации сократительной системы от квадрата $[Na^+]_o$ [5].

4. Остановка сердца путем введения бета-блокаторов, местных анестетиков или антагонистов кальция либо по отдельности, либо в сочетании с перечисленными электрофизиологическими методами.

Авторы настоящей главы отказались от последнего метода, так как используемые при нем препараты прочно связываются с миокардом при анаэробной ишемии, в результате чего они продолжают оказывать действие и в постишемической фазе, задерживая восстановление функции сердца. Обычно предпочитают использовать 1-й метод либо его сочетание со 2-м или 2-й метод, либо его сочетание с 3-м. Эффективность этих методов по сравнению с чисто ишемической остановкой сердца, а также их эквивалентность в смысле минимизации его энергетических потребностей доказаны путем сравнения MVO_2 во время фибрилляции желудочков с

1. Повышение внеклеточного уровня калия ($[K^+]_o$), инактивирующее быстрые и медленные Na - и Ca -каналы, а значит, и купирующее электрическую и механическую активность миокарда [5].

2. Повышение внеклеточного уровня магния ($[Mg^{2+}]_o$), в результате чего вытесняются ионы кальция из мест их связывания на клеточной мембране и в сократительном аппарате и таким образом преобразуется механическая активность миокарда с его расслаблением [5].

3. Снижение внеклеточного уровня натрия ($[Na^+]_o$) до его уровня в цитоплазме с одновременным снижением до минимума внеклеточного уровня ионов кальция ($[Ca^{2+}]_o$), с тем чтобы полностью не только инактивировать электрическую активность, но

MVO_2 при перфузии кардиоплегическим раствором (низкий уровень Na^+ , отсутствие Ca^{2+} , гистидиновый буфер) (см. рис. 29.2) или при сравнении данных литературы об MVO_2 , например при гиперкалиемии с введением бета-блокаторов [6].

Базальный метаболизм в миокарде, как и в других органах, можно повысить с помощью катехоламинов, тиреоидным гормоном или веществами, оказывающими аналогичное действие. Однако если исключить эти условия, то кажется, что MVO_2 находится на том минимальном уровне, который необходим для сохранения структурной целостности кардиомиоцитов и поддержания их готовности к сокращению, т. е. MVO_2 в условиях полной электрической и механической инактивации миокарда при перфузии коронарных сосудов кардиоплегическим раствором (см. рис. 29.2). Абсолютная величина MVO_2 в этом случае зависит только от температуры (Q_{10} около 2,0). Большая зависимость MVO_2 фибриллирующего сердца от температуры (Q_{10} более 2,5) означает, что при ее снижении в этих условиях уменьшается совершаемая миокардом работа, например вследствие уменьшения частоты фибрилляций (см. рис. 29.2).

В анаэробную фазу тотальной ишемии энергетический обмен в сердце, остановленном кардиоплегическим раствором, ниже, чем в сердце, остановившемся вследствие ишемии (рис. 29.3). Соответствующее значение Q_{10} также находится около 2,0. Это означает, что зависимость энергетического обмена от температуры близка к таковой для MVO_2 в аэробную фазу перфузии коронарных сосудов кардиоплегическим раствором и настолько же слабее второй зависимости в сердце, остановившемся вследствие ишемии (см. рис. 29.2 и 29.3). Это также обусловлено большей степенью активации сократительной системы при ишемическом анаэробии, что клинически проявляется в четком повышении тонуса миокарда. Более того, большая величина стандартного отклонения полученных результатов свидетельствует о том, что в анаэробных условиях ишемической остановки сердца значительно варьирует предишемический уровень метаболизма, что практически устраняется с помощью кардиopleгии.

Ряд принципиальных ограничений не позволяет бесконечно продлевать время выживания сердца в условиях тотальной ишемии путем прямого или косвенного увеличения энергетических запасов миокарда. При попытках максимально увеличить в нем запасы кислорода с целью увеличения аэробной задержки после прекращения коронарного кровообращения необходимо учитывать следующее.

1. Для дополнительных носителей кислорода, представленных оксигемоглобином или оксифторуглеродами, доступно лишь внутрисосудистое пространство. Однако только 40—50% его образовано просветами капилляров, венул и небольших вен и эффективно в смысле снабжения миокарда кислородом путем диффузии. В сердце собаки общий используемый таким образом объем сосудов и мышцы левого желудочка не превышает 10 мл/100 г.

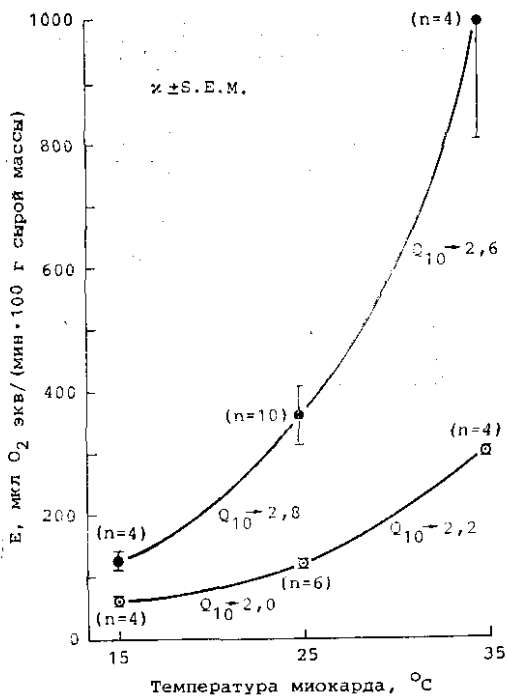


Рис. 29.3. Зависимость анаэробного энергетического обмена от температуры в сердце собаки при ишемической блокаде его (темные кружки) или перфузии кардиоплегическим раствором до начала ишемии (светлые кружки).

Измерения проводили в пределах $t_{\text{АТФ}}$.

характеристики глубины проникновения кислорода путем диффузии с внешней и внутренней поверхности мышцы. Согласно диффузионному уравнению Варбурга, в отсутствие гипертрофии левого желудочка кислород проникает через его поверхность приблизительно на $\frac{2}{3}$ — $\frac{3}{4}$ толщины стенки в наиболее благоприятных условиях (температура сердца 5°C , MVO_2 — $0,1$ мл/(мин · 100 г), P_{O_2} — 5 атм). Таким образом, удалось добиться исключительно большого удлинения $t_{\text{АТФ}}$, о чем свидетельствуют результаты анализа общего уровня АТФ в миокарде, и достаточной сохранности структурной целостности как субэпикарда, так и субэндокарда, но ткань центральной части стенки при этом оказывается необратимо поврежденной.

Макроэргические фосфаты не служат энергетическими запасами миокарда в точном смысле слова, так как они расходуются на поддержание его структуры и функции. По-видимому, уровни ФК и адениновых нуклеотидов в ткани никогда не бывают постоянны, а скорее, наоборот, в зависимости от энергетических потреб-

2. Даже при многократном увеличении запасов кислорода в миокарде значительное увеличение аэробной задержки возможно только при снижении MVO_2 до минимума с помощью оптимально подобранного метода кардиopleгии (табл. 29.1).

3. Повышение парциального давления кислорода, особенно при значительном снижении MVO_2 , оказывает токсическое действие, вызывая образование свободных радикалов и перекисей [7]. Этот или другой, еще не известный, механизм приводит к повышению базальных энергетических потребностей миокарда (неопубликованные данные).

4. При глубокой гипотермии миокарда и повышенном уровне P_{O_2} необходимо учитывать количественные ха-

Таблица 29.1. Расчет максимально достижимой аэробной задержки в разных экспериментальных условиях

Экспериментальные условия	Температура миокарда, °С	P _{O₂} в миокарде, мм рт. ст.	MV O ₂ , мл/(мин·100 г)	Запасы кислорода в миокарде, мл/(мин·100 г)				
				соответствует Hb·O ₂	+	Mb·O ₂	+	растворенный O ₂
Ишемия	35	40	5,0	1,5	+	0,5	+	0,1
Кардиоплегия		150	0,8	—	—	0,5	+	0,4
Кардиоплегия	25	700	0,8	—	—	0,5	+	1,8
Ишемия		40	2,4	1,5	+	0,5	+	0,1
Кардиоплегия	15	150	0,4	—	—	0,5	+	0,5
Кардиоплегия		700	0,4	—	—	0,5	+	2,1
Ишемия	5	40	1,2	1,5	+	0,5	+	0,1
Кардиоплегия		150	0,2	—	—	0,5	+	0,5
Кардиоплегия	15	700	0,2	—	—	0,5	+	2,5
Ишемия		40	0,5	1,5	+	0,5	+	0,2
Кардиоплегия	5	150	0,1	—	—	0,5	+	0,7
Кардиоплегия		700	0,1	—	—	0,5	+	3,2

постей в миокарде непрерывно меняется равновесие между количеством адениновых нуклеотидов. Из этого также следует, что в начале тотальной ишемии в сердце, остановившиеся без воздействия кардиоплегии, исходный уровень ФК и АТФ, очевидно, ничем после перфузии коронарных сосудов кардиоплегическим раствором (см. рис. 29.1 и 29.7).

Запасы гликогена, представляющего собой в отношении образования АТФ в анаэробных условиях наиболее подходящий субстрат для гликолиза, ни в одном из используемых в настоящее время методов остановки сердца и кардиоплегии не ограничивают АТФ (см. рис. 29.7). Наоборот, методы, позволяющие повысить уровень гликогена в миокарде перед началом ишемии, вызывают в итоге усиление энергетического обмена (Е) и/или уменьшение проницаемости мембраны для протонов, образующихся в клетках в процессе анаэробногидролиза, и, таким образом, снижают эффективность кардиоплегии, используемой вместе с методами повышения буферной емкости сердца (неопубликованные данные).

На возможность повышения эффективности выхода метаболической энергии в аэробных условиях указывают разные величины отношения АТФ/O₂ при окислении различных субстратов. Окисление остатков глюкозы, отщепляющихся от гликогена, характеризуется отношением АТФ/O₂, равным 3,2, а для пальмитата - 2,8 [8]. Однако такого теоретически возможного и достижимого *in vitro* увеличения выхода АТФ (15% на молекулу кислорода) нельзя получить *in vivo*, так как в миокарде всегда используются одновременно различные субстраты. В связи с этим нельзя полагаться на такой способ удлинения аэробной задержки при тотальной ишемии. Однако этот подход может иметь опре-

ленное значение в балансе энергии на границах зоны ограниченной ишемии, в которой кровоток снижен не до нуля [8].

В анаэробных условиях важным метаболическим путем для синтеза АТФ служит гликолиз. Эффективность анаэробного энергетического выхода (η) при ишемии без кардиоплегии, как и при использовании вышеупомянутых кардиоплегических методов, в среднем составляет 0,65, или 65% (рис. 29.4) [9, 10]. Изменения гликолитического синтеза АТФ из-за перехода в анаэробные условия вызывает неизбежный дефицит энергии порядка 35%, что принципиально ограничивает $t_{\text{АТФ}}$. До сих пор единственной возможностью увеличить η для удлинения $t_{\text{АТФ}}$ остается повышение буферной емкости миокарда. Средние величины η в течение $t_{\text{АТФ}}$ в этих условиях составляют примерно 80% (см. рис. 29.4). Повышение η приблизительно на 25% по сравнению с таковым при ишемии без кардиоплегии увеличивает $t_{\text{АТФ}}$ приблизительно в 2 раза (см. рис. 29.4).

Для искусственного повышения буферной емкости миокарда β при тотальной ишемии необходимо: а) определить критическое значение рН в ишемизированном миокарде и б) произвести количественную оценку пределов повышения β .

Исходя из физиологических значений рН в цитоплазме (7,0) [11] и особой чувствительности миокарда к щелочным растворам, с одной стороны, и существенного угнетения активности некоторых ключевых ферментов гликолиза при рН около 6,0 [9, 10] — с другой, можно сделать вывод, что критический уровень рН находится между 7,0 и 6,0. Таким образом, для повышения буферной емкости миокарда подходят вещества с рК около 6,5.

Исходя из соображений осмотичности, дополнительное введение буфера возможно только в межклеточное пространство миокарда, так как буферные вещества, способные легко проникать в его клетки, вызывают их отек вследствие одновременного поступления в них воды. Однако ограничивая поступление буфера только во внеклеточное пространство, величину $\beta/\text{кг}$ сердечной мышцы можно увеличить лишь до $1/4$ или максимально до $1/3$ от величины $\beta/\text{л}$ используемого буферного раствора, даже если использовать это межклеточное пространство оптимальным образом, т. е. полностью уравновесить его с буферным раствором [12].

Емкость негидрокарбонатного буфера мышцы левого желудочка при физиологических значениях рН составляет 20—30 ммоль/(кг·рН) [11]. Следовательно, для того чтобы величину β в ней удвоить при рН между 7,0 и 6,0, необходим (раствор буфера 100 ммоль с рК=6,5 или значительный избыток раствора буфера 200 ммоль с рК=5,5. Таким образом, эффективно повысить буферную емкость миокарда можно только при использовании кардиоплегических растворов с низкой $[\text{Na}^+]_o$ и минимальной $[\text{Ca}^{2+}]_o$, так как только такой раствор имеет соответствующую осмотичность. Справедливость этих количественных оценок продемонстрирована в эксперименте на сердце собаки, в котором выявлена четкая корреляция между длительностью интервала времени от начала тотальной ишемии до момента достижения рН.

Рис. 29.4. Средняя эффективность анаэробного энергетического обмена и t_{АТФ} в миокарде левого желудочка собаки при 25°C в зависимости от предышемической подготовки. Обозначения те же, что на рис. 29.6.

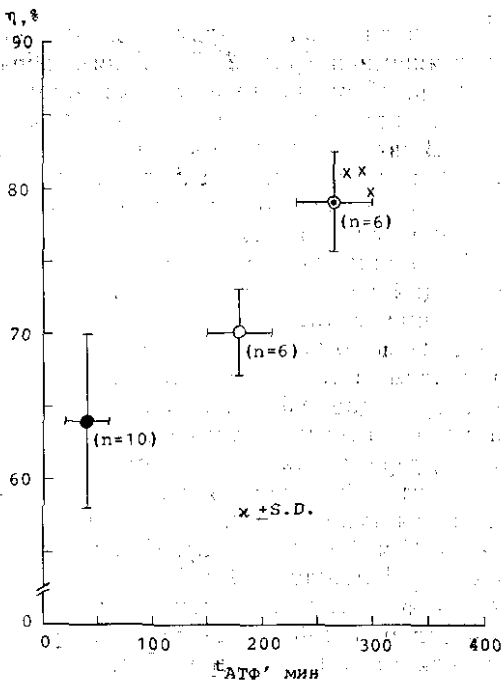
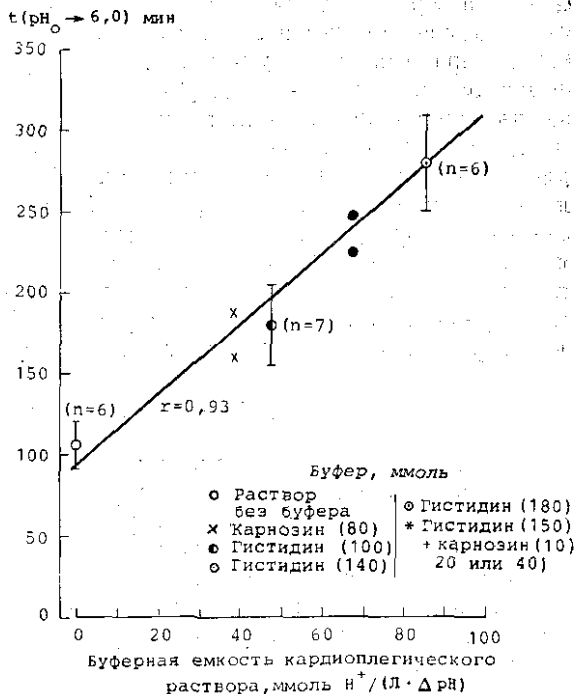


Рис. 29.5. Задержка внежелудочного ацидоза в миокарде левого желудочка собаки при тотальной ишемии при 25°C в зависимости от буферной емкости кардиоплегического раствора (низкий уровень Na⁺ в отношении Ca²⁺) в диапазоне рН от 7,0 до 6,0. Функцию кардиоплегического раствором начинали в начале ишемии (x ± SD).



$= 6,0$ и величиной β кардиоплегического раствора, используемого перед ишемией (рис. 29.5). Таким образом достигается увеличение $t_{ATФ}$, обусловленное увеличением периода гликолиза, интенсивность которого даже слегка повышена (см. рис. 29.4; 29.6 и 29.7). В связи с этим кажется правдоподобным, что фосфофруктокиназа, гликолитический фермент, значительно зависимый от pH, почти полностью инактивирующаяся при pH 6,0, имеет большое значение для эффективной кардиопротекции [10, 13].

Кардиоплегический раствор с низким уровнем натрия, не содержащий кальция, в состав которого входит гистидиновый буфер [2, 17], при температуре от нормальной до 15°C в 6—7 раз увеличивает $t_{ATФ}$ по сравнению с ишемизированным без кардиоплегии миокардом, в то время как другие кардиоплегические растворы, не содержащие буфера, увеличивают его в 3—4 раза (рис. 29.8) [2]. Наиболее заметно удлиняется $t_{ATФ}$ при использовании гистидинового буфера и снижении температуры от нормы до 25°C ($Q_{10} = 2,7$), что обусловлено выраженной зависимостью от температуры pK_2 гистидина (приблизительно 5,9 при температуре 35°C , 6,1 при 25°C и 6,3 при 15°C). В связи с этим буферная емкость раствора с pH между 7, 0 и 6,0, а значит, и дополнительное увеличение $t_{ATФ}$ за счет повышения роли гликолиза в анаэробном энергетическом метаболизме при температуре миокарда 35°C меньше, чем при 25°C и даже при 15°C .

При таком выраженном увеличении $t_{ATФ}$ ишемия в эксперименте на сердце собаки продолжительностью 300 мин при средней температуре миокарда 23°C с задержкой восстановления 20 мин была обратима без существенного повреждения структуры и функции (рис. 29.9—29.11) [14]. При оценке времени перевыживания сердца человека при операции на нем на основании данных, полученных на сердце собаки в условиях оптимальной кардиопротекции и тотальной ишемии, следует учитывать возможность предшествующих повреждений миокарда разного вида и степени. Если учесть все эти ограничивающие факторы, введя поправочный коэффициент 2, то и в этом случае хирург будет иметь в своем распоряжении 150 мин для допустимой ишемии при средней температуре миокарда 23°C [2]. Этот вывод был подтвержден клиническими данными [15].

Проблемы кардиopleгии

Как при чистой ишемии, так и при ишемии в условиях кардиopleгии существует тесная корреляция между энергетическим состоянием сердца, степенью структурных изменений и обратимостью его функций. Однако эта корреляция ни в коей мере не является абсолютной. Предварительные результаты анализа пассивных электрических свойств миокарда в зависимости от энергетического состояния сердца во время ишемии свидетельствуют о том, что изменения степени протекции энергетического состояния и структуры миокарда могут зависеть от предцишемической подготовки (рис. 29.12) [16]. Более того, в особых эксперименталь-

Рис. 29.6. Накопление лактата в течение $t_{\text{АТФ}}$ в миокарде левого желудочка собаки в зависимости от типа буфера и буферной емкости (рН между 7,0 и 6,0; см. рис. 29,5) кардиоплегического раствора (с низким уровнем Na^+ без Ca^{2+}), перфузию которым начинали до начала ишемии ($\bar{x} \pm \text{S. D.}$).

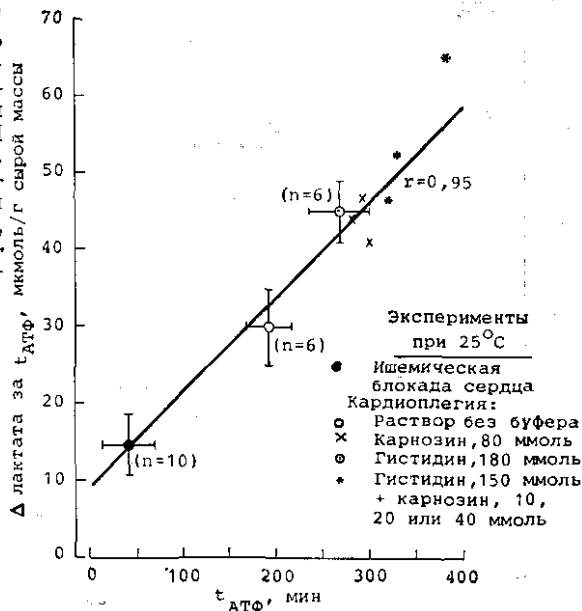
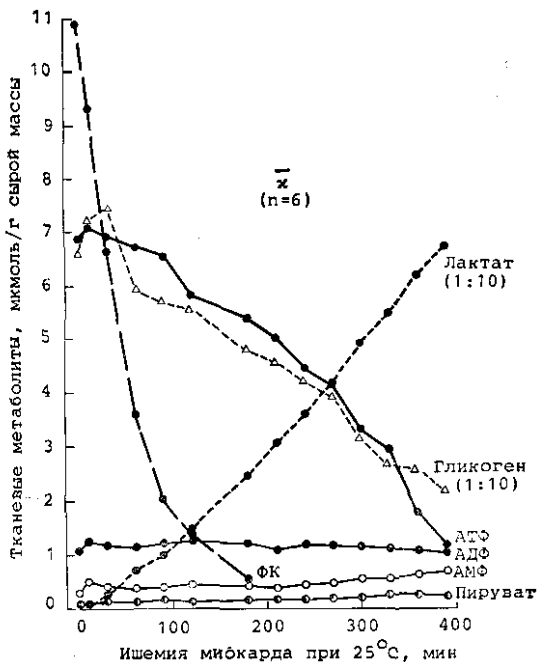


Рис. 29.7. Содержание метаболитов в миокарде левого желудочка собаки при тотальной ишемии после использования кардиоплегического раствора (низкий уровень Na^+ и без Ca^{2+} , буфер-гистидин) [17].



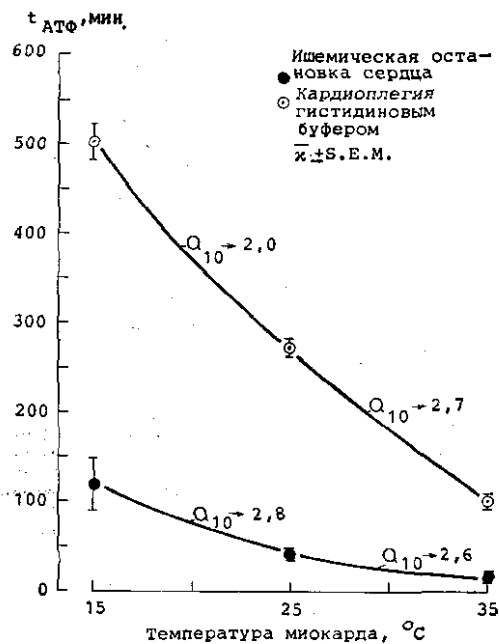


Рис. 29.8. Зависимость $t_{\text{АТФ}}$ от температуры сердца, остановившегося вследствие ишемии или воздействия кардиоплегического раствора.

Рис. 29.9. Электронномикрофотограмма участка субэндокарда левого желудочка собаки через 300 мин тотальной ишемии при 23°C и 24 мин реперфузии модифицированным раствором Тиорде при использовании кардиоплегического раствора с низким уровнем Na^+ , не содержащим Ca^{2+} и гистидиновым буфером с целью кардиопротекции.

Обратите внимание на то, что митохондрии практически не отличаются от питающих, между саркомерами выявляется достаточное количество гранул гликогена, клеточный отек минимален. $\times 20\ 000$.

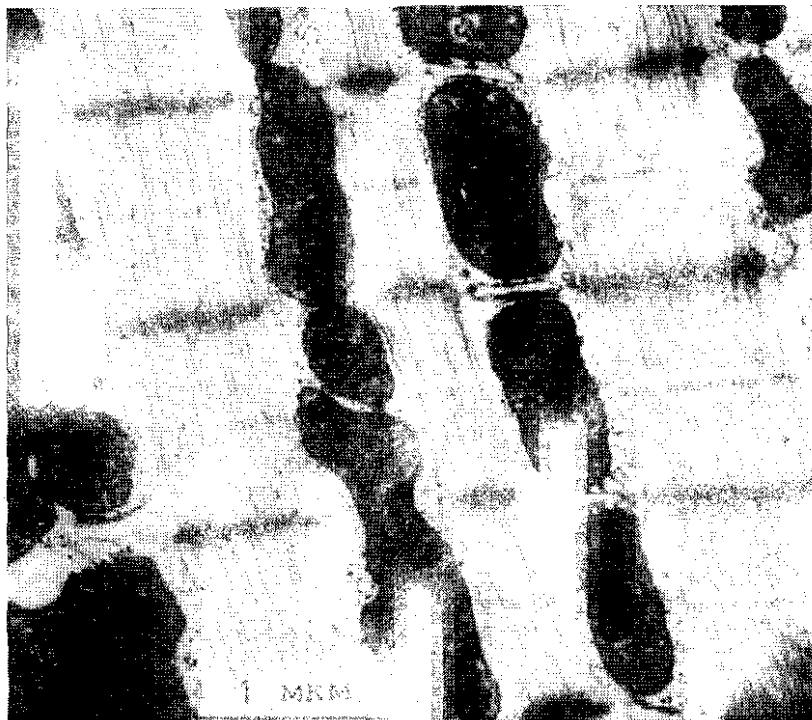


Рис. 29.10. Поглощение O_2 миокардом собаки, сокращающимся без поступления крови в желудочки, при перфузии модифицированным раствором Тироде (контроль) или кардиопротективных растворов с гистидиновым [17] или карнозиновым буфером [18] (с низким уровнем Na^+ без Ca^{2+}).

После перфузии создавали тотальную ишемию на 300 мин при 23°C и возобновляли перфузию раствором Тироде. Уровень АТФ в миокарде левого желудочка измеряли через 21 мин после начала реперфузии раствором Тироде. Цифры в скобках — Частота сердечных сокращений.

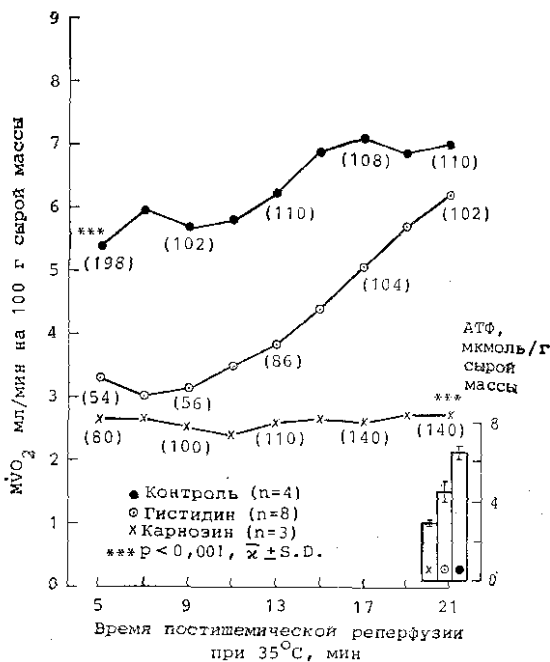
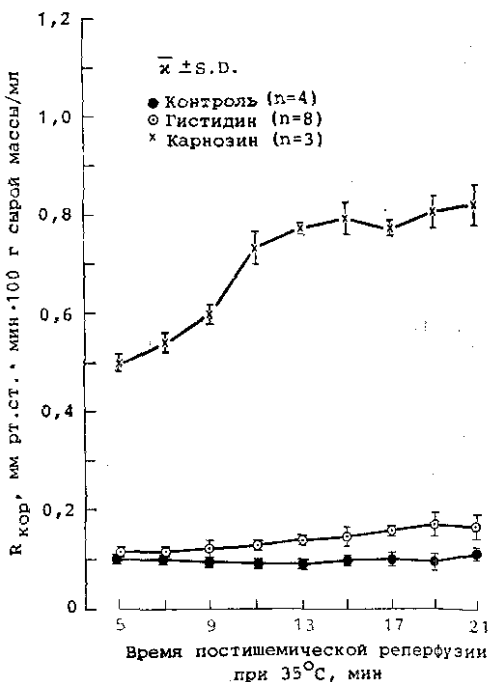


Рис. 29.11. Сопротивление коронарных сосудов при реперфузии сердца модифицированным раствором Тироде в тех же экспериментальных условиях, что и на рис. 29.10.



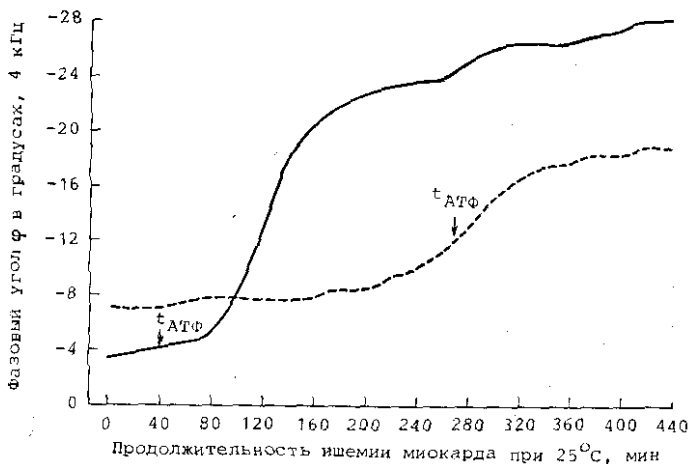


Рис. 29.12. Фазовый угол импеданса миокарда левого желудочка собаки, измеряемого при воздействии на него переменного тока с частотой 4 кГц.

Измерения проводили во время тотальной ишемии без кардиопротекции и во время ишемии, до начала которой перфузию сердца осуществляли кардиоплегическим раствором на основе гистидинового буфера. Обратите внимание на сдвиг $t_{\text{АТФ}}$ по отношению к изменению фазового угла при кардиопротекции по сравнению с контролем. Подробности см. в работе [16].

Сплошная линия — ишемическая блокада сердца, пунктирная — кардиоплегия.

ных условиях изменения, обусловленные ишемией, могут стать необратимыми вследствие довольно специфических изменений функциональной целостности клеточной и субклеточной мембран, несмотря на осуществление оптимальной протекции энергетического состояния сердца. Примером могут служить следующие состояния.

1. Если количество кальция, связанного с поверхностью мембраны кардиомиоцитов, уменьшить до уровня ниже некоторого минимального значения, то последующее быстрое повышение его в растворе даже на фоне физиологических значений ФК и АТФ в ткани вызовет необратимое повреждение миокарда: так называемый кальциевый парадокс [17].

2. Если заменить гистидин, используемый в качестве буфера в бескальциевом кардиоплегическом растворе с низким уровнем натрия, на карнозин, имеющий при 25°C более подходящую величину pK , равную приблизительно 6,7 [18], то $t_{\text{АТФ}}$ не изменяется (см. рис. 29.6). Однако то же ишемизирующее воздействие продолжительностью 300 мин при средней температуре миокарда 25°C становится необратимым (см. рис. 29.10). В этом случае постишемическая реперфузия сопровождается сильным отеком ткани (см. рис. 29.11, 29.13), а уровень АТФ снижается с 4,7 $\mu\text{моль/г}$ ткани левого желудочка на момент окончания ишемии до 3,0 $\mu\text{моль/г}$ за 20 мин постишемической реперфузии (см. рис. 29.10).

Предварительно полученные экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о том, что можно добиться специ-



Рис. 29.13. Электронномикрофотограмма участка субэндокарда левого желудочка собаки через 300 мин ишемии при 23°C и 21 мин реперфузии модифицированным раствором Тироде при использовании кардиopleгического раствора с низким уровнем Na^+ , не содержащего кальция, и карнозиновым буфером для кардиопротекции [18].

Обратите внимание на выраженный отек клеток и множественные разрывы митохондриал, отек и фрагментацию крист и исчезновение структурного матрикса в большей части митохондрий, а в остальных — на тенденцию к восстановлению структуры. $\times 20\ 000$.

фической «протекции структур», например за счет добавления хи-нидина в разработанный авторами настоящей главы кардиopleгический раствор с гистидиновым буфером [19]. Его действие обусловлено ускорением восстановления метаболизма миокарда вследствие уменьшения вероятности развития аритмий и поддержания минимального сопротивления коронарных сосудов при постишемической реперфузии на оптимальном уровне. Эти специфические изменения состава раствора позволяют добиться несомненно более совершенной протекции сердца в период тотальной ишемии, так как снижается влияние нежелательных постишемических явлений, которые в противном случае, подобно порочному кругу, усилили бы тяжесть метаболических, структурных и функциональных повреждений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Bretschneider H. J.* Überlebenszeit und Wiederbelebungszeit des Herzens bei Normo- und Hyperthermie. — Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforsch., 1964, vol. 30, p. 14—34.

2. *Bretschneider H. J., Gebhard M. M., Preusse C. J.* Reviewing the pros and cons of myocardial preservation within cardiac surgery. — Lancaster, MTP, 1981, p. 21—53.
3. *Bretschneider H. J., Hellige G.* Pathophysiologie der Ventrikelkontraktionskontraktilität, Inotropie, Suffizienzgrad und Arbeitsökonomie des Herzens. — Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforsch., 1976, vol. 42, p. 14—30.
4. *Hearse D. J., Braimbridge M. V., Junge P.* Protection of the ischemic myocardium: cardioplegia. New York: Raven, 1981.
5. *Noble D.* The initiation of the heart beat. Oxford: Clarendon, 1979.
6. *Buckberg G. D., Brazie J. R., Nelson R. L.* et al. Studies on the effects of hypothermia on regional myocardial blood flow and metabolism during cardiopulmonary bypass. 1. The adequately perfused beating, fibrillating, and arrested heart. — J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 1977, vol. 73, p. 87—94.
7. *Chance B., Sies H., Boveries A.* Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. — Physiol. Rev., 1979, vol. 59, p. 527—605.
8. *Hutter J. F., Schweickhardt C., Piper H. M., Spieckerman P. G.* Inhibition of fatty acid oxidation and decrease of oxygen consumption of working rat heart by 4-bromocrotonic acid. — J. Mol. Cell. Cardiol., 1984, vol. 16, p. 105—108.
9. *Neely J. R., Morgan H. E.* Relationship between carbohydrate and lipid metabolism and the energy balance of the heart muscle. — Annu. Rev. Physiol., 1974, vol. 36, p. 413—459.
10. *Kubler W., Spieckerman P. G.* Regulation of glycolysis in the ischemic and the anoxic myocardium. — J. Mol. Cell. Cardiol., 1970, vol. 1, p. 354—377.
11. *Roos A., Boron W. F.* Intracellular pH. — Physiol. Rev., 1981, vol. 61, p. 296—434.
12. *Preusse C. J., Gebhard M. M., Bretschneider H. J.* Myocardial "equilibration processes" and myocardial energy turnover during initiation of artificial cardiac arrest with cardioplegic solution. — Thorac. Cardiovasc. Surg., 1981, vol. 29, p. 71—76.
13. *Kallerhoff M., Holscher M., Klass G.* et al. Influence of different kidney-protective solutions on metabolism and energetics of ischemic kidneys. — Pflügers. Arch., 1982, vol. 382, p. R15.
14. *Schnabel Ph. A., Gebhard M. M., Preusse C. J.* Protektion der Ultrastruktur im ischämischen Myokard durch die kardioplegische Lösung HTK nach Bretschneider bei 25 °C. — Verh. Anat. Ges., 1983, vol. 77, p. 605—608.
15. *Schulte H. D., Preusse C. J., Groschopp C.* et al. Crystalloid cardioplegia: experience with the Bretschneider solution. — In: A textbook of clinical cardioplegia./Ed. R. M. Engelman, S. Levitsky. Mt Kisco N. Y.: Futura, 1982.
16. *Bretschneider H. J., Gebhard M. M., Gersing W., Preusse C. J.* Problems of myocardial protection under view of the heterogeneity of the affected tissues and the different vulnerability of subcellular structures. In: Advances in studies on heart metabolism/Ed. C. M. Caldarera, P. Harris. Bologna: CLUEB, 1982.
17. *Gebhard M. M., Bretschneider H. J., Gersing E.* et al. Calcium-free cardioplegia-pro. — Europ. Heart. J. 4. 1983, (Suppl. H), p. 151—160.
18. *Gercken G., Bischoff H., Trotz M.* Myokardprotektion durch eine Carnosin-gepufferte kardioplegische Lösung. — Drug Res., 1980, vol. 30, p. 2140—2143.
19. *Bretschneider H. J., Gebhard M. M., Gersing E.* et al. Recent advances for myocardial protection. — In: Kaplitt M. J. Concepts and controversies in cardiovascular surgery./Ed. J. B. Borman. Norwalk, Connecticut: Appleton—Century—Crofts, 1983.

Глава 30

ВЛИЯНИЕ ИНГАЛЯЦИОННЫХ НАРКОТИЗИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ НА СЕРДЦЕ

М. Г. ПРАТИЛА, В. ПРАТИЛАС
(M. G. PRATILA, V. PRATILAS)

ВВЕДЕНИЕ

Уже через год после того как William Morton показал возможность использования общего наркоза в хирургии, было продемонстрировано выраженное влияние ингаляционных наркотических веществ на сердце. Первым больным, умершим (по-видимому, от фибрилляции желудочков) во время общей анестезии, осуществившейся с помощью хлороформа, был Ханнах Гринер в возрасте 15 лет. Это случилось 28 января 1848 года.

Впоследствии было подтверждено влияние этих препаратов на миокард, их эффекты тщательно проанализировали в многочисленных работах, основывающихся не только на данных клинических наблюдений, но и на результатах исследований, проведенных как на клеточном уровне, так и на интактных животных. О влиянии общих анестетиков на сердце написана не одна сотня работ. Значительные финансовые средства были вложены в непрерывное мониторирование его работы в послеоперационный период, что лишний раз подтверждает значение реакций миокарда на общие анестетики.

Существенный прогресс в понимании механизмов действия на сердце общих анестетиков был достигнут при разработке микроэлектродной техники в электрофизиологии, что позволило исследовать их эффекты на кардиомиоциты в отсутствие неконтролируемого влияния вегетативной нервной системы. В связи с этим в настоящем обзоре основное внимание уделено именно таким исследованиям. Влияние общих анестетиков на коронарное кровообращение также приобретает все большее значение в связи с широким применением метода коронарного шунтирования в хирургии.

СИНОАТРИАЛЬНЫЙ УЗЕЛ

Hauswirth и Schaer [1] в 1967 г. сообщили о влиянии галотана (фторотан) на потенциал действия кардиомиоцитов синоатриального (СА) узла кролика. Они показали, что действие препарата заключается в уменьшении максимального диастолического потенциала (МДП) и снижении скорости диастолической деполяризации. Эти результаты были подтверждены Reynolds с соавт. [2]. В концентрации 1% фторотан оказывает умеренное отрицатель-

ное хронотропное действие на клетки СА узла. Это представляет собой результат снижения скорости диастолической деполяризации и увеличения порогового потенциала. В концентрации 2% он продолжает снижать скорость диастолической деполяризации и, кроме того, уменьшает МДП, овершут и амплитуду потенциала действия. Они угнетаются еще сильнее, если препарат используют в 4% концентрации. Через некоторое время исчезает спонтанная активность, что связано не с постепенным снижением скорости медленной диастолической деполяризации, а с значительным уменьшением абсолютной величины МДП и увеличением порогового потенциала, что в конце концов приводит к потере возбудимости. Клетки перестают реагировать на электрическую стимуляцию. Возбудимость и спонтанная активность при отмывании фторотана восстанавливаются (рис. 30.1).

Maуlis с соавт. [3] недавно показали, что генерация пейсмекерного потенциала в клетках СА узла связана с активацией входящего тока, характеризующегося высоким равновесным потенциалом, а не уменьшением калиевой проводимости. Камрине с соавт. [4] изучал механизмы угнетения активности СА узла под действием фторотана, учитывая результаты работы Maуlis с соавт. Он также показал, что препарат ингибирует входящий ток кальция через медленные каналы мембраны кардиомиоцитов, на что указывает угнетение максимальной скорости нарастания ($+V_{\max}$) медленного потенциала действия [5]. Отрицательное хронотропное действие фторотана и зависимое от дозы угнетение $+V_{\max}$ фаз 0 и 4 потенциала действия, выявленные Камрине с соавт., подтверждают угнетающее влияние его на медленные кальциевые каналы СА узла. Удвоение концентрации Ca^{2+} в перфузате вызывает смещение кривых доза — эффект в сторону более высоких концентраций препарата и ослабляет его угнетающее действие на фазы 0 и 4. Добавление в перфузат блокатора кальциевых каналов (верапамил) сопровождается сдвигом кривых доза — эффект в сторону меньших концентраций и потенцирует уменьшение частоты спонтанных возбуждений и $+V_{\max}$ фазы 0 под действием фторотана. По-видимому, в отношении действия на миокард он конкурирует с Ca^{2+} .

Фторотан в 0,5% концентрации, а также в начале его действия при использовании в 1% концентрации вызывает гиперполяризацию поверхностной мембраны кардиомиоцитов СА узла морской свинки и кошки [6]. Этот эффект не наблюдается в начале действия энфлурана, используемого в концентрациях 1,12 и 2,25%. Последний в концентрациях 2,25 и 4,5% оказывает выраженное отрицательное хронотропное действие, увеличивает длительность фазы 4 и уменьшает скорость медленной диастолической деполяризации. В концентрации 4,5% он снижает также скорость нарастания фазы 0 потенциала действия и увеличивает его продолжительность (рис. 30.2). Эффекты энфлурана выражены значительно слабее, чем эффекты фторотана.

Метоксифлуран все меньше используется в клинической практике вследствие его неблагоприятного воздействия на почки, и

Рис. 30.1. Влияние галотана (фторотан) на потенциал действия синоатриального узла [1, 2].

Показано изменение эффекта в зависимости от концентрации вещества и продолжительности воздействия. Выражение концентрации в величинах МАК (минимальная альвеолярная концентрация, см. в тексте) позволяет сравнивать между собой действие разных соединений.

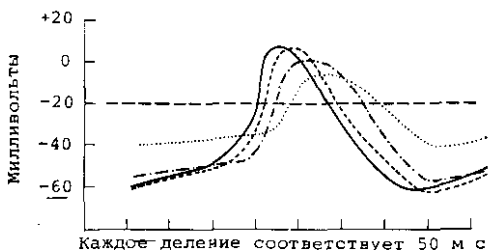
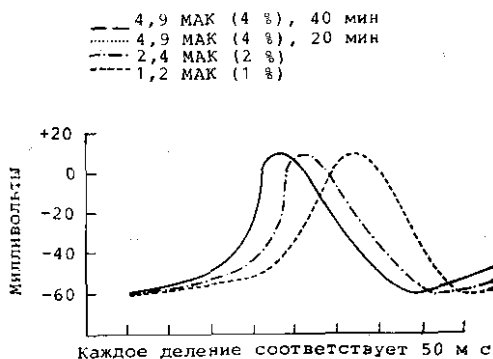


Рис. 30.2. Влияние энфлурана на потенциал действия синоатриального узла [6].

Пунктирная линия соответствует 3,75 минимальной альвеолярной концентрации (МАК) (4,5%), пунктирная линия с точками — 1,9 МАК (2,25%).



также в связи с его медленным поглощением и выведением. Однако он представляет собой прототип галогенизированных эфиров, поэтому его эффекты также заслуживают внимания. Reynolds с соавт. [2] выявили двухфазный эффект этого соединения на СА узел. Основное его действие состоит в уменьшении частоты спонтанной активности, чему предшествует короткий период ускорения. Последнее можно объяснить небольшим уменьшением МДП. Оно не устраняется анаприлином. Уменьшение частоты спонтанной активности сопровождается дальнейшим снижением МДП и увеличением порогового потенциала. Уменьшается и овершут. В концентрации 1% метоксифлуран всегда в конце концов полностью купирует спонтанную активность, иногда этот эффект достигается и при концентрации 0,5%. Спонтанная активность прекращается в результате выраженного снижения абсолютной величины МДП, увеличения порогового потенциала и исчезновения возбудимости. Подобно другим ингаляционным наркотизирующим веществам, эти эффекты метоксифлурана полностью обратимы. Метоксифлуран слабо влияет на увеличение частоты спонтанных возбуждений, вызванных адреналином.

Предсердия

Согласно данным Hauswirth [7], фторотан даже в 2% концентрации слабо влияет на электрическую активность изолированных кардиомиоцитов предсердия кролика. Несмотря на значительное уменьшение овершута и небольшое замедление фазы реполяризации потенциала действия, изменения потенциала покоя

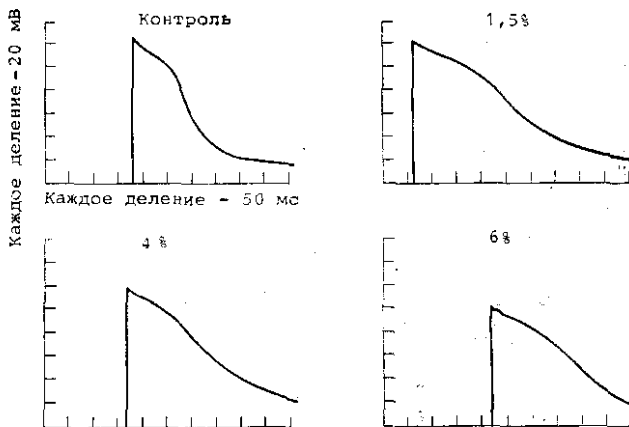


Рис. 30.3. Влияние на потенциал действия предсердия кролика энфлурана при минимальной альвеолярной концентрации его 1,5, 4 и 6%.

и амплитуды потенциала действия выражены значительно слабее, чем в СА узле. Аналогичные эффекты наблюдались при действии метоксифлурана, когда его использовали в 1% концентрации [8]. Энфлуран также вызывает уменьшение овершута и удлинение фазы реполяризации [9], однако амплитуда потенциала действия снижается лишь при 6% концентрации, что значительно превышает дозу, используемую в клинике. Потенциал покоя практически не изменяется (рис. 30.3).

Атриовентрикулярный узел

С клинической точки зрения, нет сомнения в том, что используемые в настоящее время ингаляционные наркотизирующие вещества существенно влияют на атриовентрикулярный (АВ) узел. Довольно часто наблюдают исчезновение связи между зубцом *P* и комплексом *QRS* на ЭКГ, регистрируемой во время анестезии. При прекращении подачи наркотизирующего средства это нарушение ритма исчезает.

Scherlag с соавт. [10] и Damato с соавт. [11] изучали проведение в АВ узле на интактной собаке путем стимуляции и регистрации потенциалов в предсердно-желудочковом проводящем пучке (пучок Гиса). Регистрация электрограммы с пучка Гиса (гисограмма) позволяет разделить интервал *P—R* на два компонента [12, 13]. Время проведения между моментом деполяризации предсердий и появлением зубца на гисограмме (интервал *A—H*) в основном отражает время прохождения волны возбуждения в области АВ узла. Проведение по дистальному участку пучка и сети волокон Пуркинье (интервал *H—V*) измеряется по интервалу между сигналом на гисограмме и началом комплекса *QRS*.

Влияние наркотизирующих веществ на проведение по АВ узлу в основном изучали с помощью метода стимуляции пучка Гиса

в регистрации гисограммы. В своей первой работе Atlee и Rusy [14], используя метод катетерной электрокардиографии, выявили зависимость угнетения АВ проведения от концентрации фторотана. Оно сильнее было выражено в проксимальном участке пути (проведение по предсердию и АВ узлу, т. е. интервал А—Н). Поскольку атропин заметно не изменял действие фторотана, можно исключить стимуляцию блуждающего нерва в качестве причинного фактора. Блокирование бета-рецепторов анаприлином еще более замедляло проведение, что свидетельствует о симпатической стимуляции АВ проведения даже в присутствии раствора фторотана. Высокочастотная искусственная электрическая стимуляция предсердий также приводила к замедлению проведения. Вероятной причиной этого может быть поступление волны возбуждения в АВ узел во время абсолютного рефрактерного периода, когда проведение невозможно, или во время относительного рефрактерного периода, когда оно снижено. Наиболее вероятным механизмом угнетения АВ проведения под действием фторотана считается удлинение рефрактерного периода.

Позднее Atlee и Alexander [15] показали, что фторотан в большой концентрации увеличивает время проведения по АВ узлу и системе Гиса — Пуркинье в спонтанно сокращающемся сердце, в котором частота сокращений поддерживалась на постоянном уровне и не влияла на время проведения. При низкой ЧСС (120 в 1 мин) функциональный рефрактерный период увеличивался, а при высокой (200 в 1 мин) не изменялся.

Atlee и соавт. [16] изучили также эффекты противоаритмических препаратов (лидокаин и дифенилгидантоин) в присутствии фторотана. Они наблюдали при этом дополнительное увеличение времени проведения по АВ узлу. Проведение по нему было более чувствительно к действию противоаритмических препаратов, чем по системе Гиса — Пуркинье или общего времени проведения по мышце желудочков. Авторы считают, что это может быть обусловлено потенцированием нормального замедления проведения по АВ узлу в ответ на увеличение частоты сердечных сокращений («усталость»). Их вывод состоит в том, что противоаритмические препараты не способны предотвратить угнетающее действие фторотана на проведение по АВ узлу. Это позволяет объяснить их неэффективность при лечении больных с определенными видами нарушений ритма, возникающими на фоне фторотанового наркоза.

Однако при интерпретации данных этих работ возникает проблема, связанная с тем, что в них в качестве контроля использовались животные в состоянии легкого фторотанового наркоза. В последующем опыте проводили на собаках с хронически вживленными электродами. Контролем при этом служили те же собаки, полностью пробудившиеся от наркоза [17]. Полученные результаты позволяют думать, что удлинение времени АВ проведения, по видимому, более выражено при слабом наркозе (1—1,5% фторотан) и отличается большей зависимостью от изменения тонуса вегетативной нервной системы, чем от повышения концентрации наркотика. Hautiler с соавт. [8] также изучал эффекты фторотана,

используя в качестве ненаркотизированного контроля животных с тотальной анестезией спинного мозга. Таким способом полностью устранялась активность симпатической нервной системы. Интервал А—Н под действием фторотана удлинялся при высокой ЧСС, но не изменялся при низкой.

У интактной собаки без премедикации метоксифлуран в зависимости от дозы увеличивал длительность эффективного рефрактерного периода в системе АВ проведения [19]. Ваготомия не влияла на этот эффект, что свидетельствует о независимости его от парасимпатического контроля.

Метоксифлуран относится к одним из немногих наркотизирующих веществ, действие которых на миокард изучали с помощью микроэлектродов. Reynolds с соавт. [8] показал, что электрическая активность АВ узла остается в пределах нормы даже после полной остановки клеток СА узла. Это согласуется с довольно частым развитием АВ ритма при метоксифлурановом наркозе [20].

Энфлуран в дозе 1—2 МАК (минимальная альвеолярная концентрация) удлиняет время проведения по АВ узлу, но не по системе Гиса — Пуркинье или по рабочему миокарду [21]. (Минимальной альвеолярной концентрацией называют такую объемную концентрацию ингаляционного наркотического средства, которая устраняет реакцию на болевой стимул у 50% больных.) Время проведения по АВ узлу увеличивается при повышении частоты сердечных сокращений. Такая зависимость от частоты ритма усиливается под воздействием энфлурана. Ни частота сердечного ритма, ни энфлуран не влияли на проведение по системе Гиса — Пуркинье и миокарду желудочков. Однако энфлуран укорачивал эффективный и функциональный рефрактерные периоды в АВ узле и угнетал проводимость в этой ткани. Фторотан не удлинял эффективный рефрактерный период предсердий [22]. Возможно, именно этим объясняется меньшая частота развития наджелудочковых нарушений ритма при энфлурановом наркозе по сравнению с фторотановым. Энфлуран по действию на систему Гиса — Пуркинье и проведение по миокарду желудочков отличается от фторотана, поскольку для развития желудочковых нарушений ритма, обусловленных рециркуляцией волны возбуждения, необходимо изменение проводимости. Авторы, изучавшие действие энфлурана, считают, что полученные ими данные позволяют частично объяснить более низкую частоту развития желудочковых нарушений ритма при использовании этого наркотического средства.

Согласно данным Zaidan и соавт. [23], в дозе $\frac{3}{4}$ МАК энфлуран не влияет на искусственную стимуляцию желудочков, проводимую с целью борьбы с блокадой АВ проведения III степени, вызванной кардиоплегическим раствором при операциях коронарного шунтирования. Это является клиническим подтверждением результатов Atlee с соавт.

Blitt с соавт. [24], используя метод регистрации электрической активности пучка Гиса при искусственной стимуляции предсердий собаки, анализировал воздействие на АВ проведение изофлу

рана в дозе 1,25, 2 и 2,5 МАК. Никаких изменений длительности интервала $A-H$ не выявлено. Эффект не развивался даже при частоте стимуляции вплоть до 200 в 1 мин в отличие от действия фторотана. Стабильность сердечного ритма, подтвержденная клинически при использовании изофлурана, может быть связана с отсутствием его влияния на АВ узел.

ПРОВОДЯЩИЕ СЕРДЕЧНЫЕ МИОЦИТЫ

Согласно данным Reynolds с соавт. [2], потенциал покоя мембраны (ППМ) и скорость повышения деполяризации фазы 4 спонтанно неактивных волокон Пуркинье (проводящие волокна желудочков) сердца собаки при действии 1% фторотана *in vitro* практически не изменяются. Однако Hauswirth [7] отметил увеличение ППМ и уменьшение овершута и длительности потенциала действия волокон Пуркинье овцы при воздействии фторотана в этой концентрации. Такое расхождение результатов можно объяснить видовыми различиями животных. При 2% концентрации фторотана и более частота возбуждений в волокнах, обладающих спонтанной активностью, уменьшается в результате повышения порогового потенциала и снижения скорости деполяризации фазы 4 потенциала действия. Резкое увеличение угла наклона фазы 2 приводит к почти полному исчезновению фазы плато. Длительность потенциала действия (ПД) уменьшается. Тот же эффект наблюдается в спонтанно неактивных волокнах при искусственной стимуляции. Однако часто длительность на уровне 90% реполяризации ПД не уменьшается вследствие снижения скорости реполяризации фазы 3. Сходные результаты получил Pruett с соавт. [25] при эквивалентных концентрациях фторотана: уменьшение длительности ПД, снижение овершута, угнетение деполяризации фазы 4 ПД и уменьшение абсолютной величины максимального диастолического потенциала. Однако при этом повышалась $+V_{\max}$ и возбудимость мембраны. Амплитуда и $+V_{\max}$ медленных ПД волокон, частично деполяризованных в растворе с 30 ммоль KCl при действии фторотана, уменьшались.

Спонтанно неактивные волокна Пуркинье, подвергнутые действию метоксифлурана в 1% концентрации, отличаются несколько менее отрицательным потенциалом покоя, но автоматизм в них так и не развивается. В спонтанно активных волокнах метоксифлуран в 0,5 и 1% концентрациях вызывает заметное увеличение частоты возбуждений вследствие повышения угла наклона деполяризации фазы 4. Несмотря на резкое ускорение реполяризации фазы 2 потенциала действия в таких условиях, длительность его остается без изменений вследствие замедления реполяризации фазы 3. Слегка уменьшается также $+V_{\max}$ фазы 0.

По действию энфлуран аналогичен фторотану. Однако в спонтанно активных волокнах он повышает скорость деполяризации фазы 4 и достоверно увеличивает абсолютную величину максимального диастолического потенциала (рис. 30.4). Несколько менее отрицательным становится и потенциал порога. Эти данные

2,35 ммоль K^+

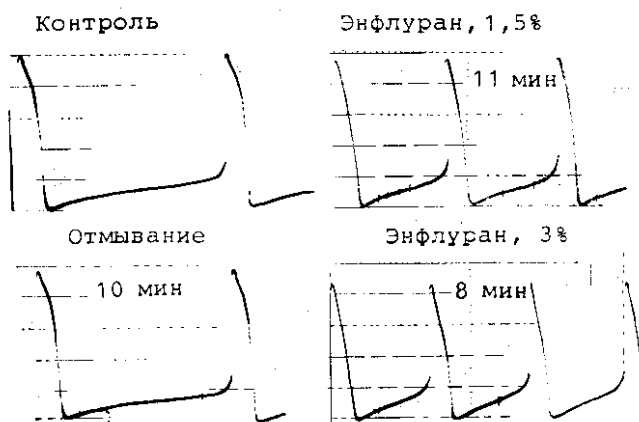


Рис. 30.4. Влияние энфлурана при МАК 0,73 (1,5%) и 1,5 (3%) на спонтанную активность волокон Пуркинье сердца собаки.

были получены Gruett с соавт. [25]. Они обнаружили также увеличение возбудимости мембраны проводящих сердечных миоцитов при воздействии как фторотана, так и энфлурана. Поскольку возбудимость мембраны связана с быстрым входящим током, переносимым ионами натрия, авторы считают, что ее нормализация после окончания воздействия наркотика обусловлена теми же изменениями натриевой проводимости, что и при действии лидокаина, изученного Chen с соавт. [26].

МИОКАРД ЖЕЛУДОЧКОВ

Фторотан угнетает проведение по мышце желудочков, но в меньшей степени, чем проведение по АВ узлу [16]. Он несколько угнетает автоматизм миокарда в изолированных препаратах [2, 27] и у интактных животных [27, 28]. Согласно данным Hauswirth [7], фторотан в 2% концентрации не изменяет потенциал покоя кардиомиоцитов овцы, снижает овершут потенциала действия, уменьшает его длительность и укорачивает эффективный рефрактерный период. Уменьшается также $+V_{\text{макс}}$ деполяризации фазы 0. В одной из последних работ [5] результаты Hauswirth полностью подтверждены. Вплоть до концентрации 2% он мало влияет на неизменный ПД. В концентрации 2% и более препарат несколько снижает амплитуду и уменьшает продолжительность ПД на фоне укорочения фазы плато. Величина $+V_{\text{макс}}$ неизменного быстрого ПД не уменьшается при действии фторотана в любой концентрации.

Энфлуран также лишь незначительно влиял на трансмембранный потенциал покоя интактных кардиомиоцитов морской свишки [29]. Амплитуда и $+V_{\text{макс}}$ практически не изменялись при дей-

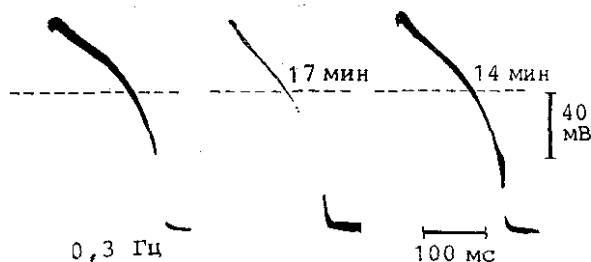


Рис. 30.5. Влияние энфлурана при МАК 2,35 (4%) на потенциал действия сосочковой мышцы сердца морской свинки.

Можно видеть некоторое снижение уровня фазы плато и укорочение потенциала действия.

ствии его даже в 6% концентрации. Однако более высокие концентрации препарата вызвали укорочение фазы плато и уменьшение длительности ПД (рис. 30.5).

Поскольку за поддержание фазы плато потенциала действия частично ответствен медленный входящий ток [39], уменьшение его длительности может быть связано с угнетением ингаляционными наркотиками медленного входящего тока, что будет обсуждаться далее. Однако нельзя исключить возможности увеличения калиевой проводимости при действии этих соединений. Это также вызвало бы уменьшение длительности потенциала действия.

СОКРАТИМОСТЬ МИОКАРДА ЖЕЛУДОЧКОВ

Известно, что все ингаляционные наркотизирующие вещества угнетают сократимость миокарда. Даже закись азота, в течение многих лет считавшаяся безвредной, угнетающе действует на его сократимость [31]. Угнетающее действие наркотизирующих средств было выявлено как в клинике [32—36], так и при лабораторных исследованиях [37—42].

Механизм кардиодепрессивного действия ингаляционных наркотиков длительное время является предметом научных исследований. Мало вероятности, что его можно удовлетворительно объяснить каким-то единственным фактором.

Ингаляционные наркотизирующие средства могут изменять электромеханическое сопряжение в миокарде, влияя на: 1 — сократительные белки миокардиальных клеток; 2 — высвобождение Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума; 3 — медленные каналы поверхностной мембраны кардиомиоцитов.

Выдвинуто предположение, что они непосредственно взаимодействуют с сократительными белками кардиомиоцитов, изменяя их форму или предотвращая их информационные превращения. Свидетельства в пользу такого прямого воздействия были получены Seeman [43], Halsey [44, 45], Woodbury [46], Metcalfe [47], Chong [48] и их сотрудниками. Trudell [49] предположил, что нар-

котирующие вещества изменяют текучесть фосфолипидного бислоя, влияя таким образом на липопротеиды мембраны, принимающие участие в работе воротного механизма медленных каналов. Предполагается, что изменение текучести мембраны должно в равной степени влиять на воротные механизмы как быстрых, так и медленных натриевых каналов, но воротный механизм быстрых натриевых каналов не изменяется под действием фторотана [5] и энфлурана [29]. Результаты исследований Rosenberg с соавт. [50] и Rang с соавт. [51] свидетельствуют о том, что изменения структуры молекул фосфолипидов и соотношения фосфолипидов и холестерина, а также воздействие наркотизирующих веществ способны вызвать увеличение или уменьшение естественной текучести бислоя. Эти результаты позволяют частично объяснить различия действия наркотизирующих веществ на воротные механизмы быстрых и медленных ионных каналов.

Саркоплазматический ретикулум (СР) представляет собой внутриклеточную мембранную систему кардиомиоцитов, регулирующую количество ионов кальция в цитоплазме и продолжительность их взаимодействия с сократительными белками. Липофильные ингаляционные наркотизирующие вещества накапливаются в СР [52]. Предполагается, что он может быть важным местом воздействия наркотизирующих веществ, в результате чего угнетается сократимость [53]. Lain с соавт. [54] обнаружил уменьшение поглощения кальция в препарате гомогенизированного миокарда, очищенного дифференциальным центрифугированием. Несмотря на то что им удалось продемонстрировать угнетение поглощения Ca^{2+} под воздействием фторотана, использованные ими концентрации его значительно превышали используемые в клинической практике. Недостатком работы Lee с соавт. [55], которому также удалось продемонстрировать угнетение поглощения Ca^{2+} , была также неопределенность использованной концентрации фторотана. Su и Kerrick обнаружили ингибирование поглощения Ca^{2+} саркоплазматическим ретикулумом в присутствии клинически адекватных концентраций фторотана и энфлурана [56, 58]. Они использовали препараты механически сканированных кардиомиоцитов для облегчения проникновения перфузионной среды в клетку. Price и Ohnishi пришли к противоположным выводам [59]. Результаты проведенного ими измерения количества ионов кальция в трабекуле желудочка сердца собаки, вытесняемых La^{3+} , позволили предположить, что фторотан уменьшает количество Ca^{2+} , связанного на поверхности [60]. Blanck с соавт. [61—63] также изучал эффекты фторотана, энфлурана и изофлурана. Все они стимулировали поглощение Ca^{2+} саркоплазматическим ретикулумом *in vitro*. Это наблюдается при низких концентрациях АТФ и клинических концентрациях наркотизирующих веществ. Полученные ими данные позволяют предположить, что все три вещества увеличивают сродство (Ca^{2+} , Mg^{2+})-АТФазы к АТФ. Поскольку при такой стимуляции не превышает максимальная скорость «работы» фермента, авторы предположили, что скорее всего при этом увеличивается доступность, а не изменяется

его работа. При высоких концентрациях АТФ (более 5 ммоль) и самых высоких клинических концентрациях наркотизирующих веществ происходит ингибирование поглощения Ca^{2+} . Однако при обычном уровне АТФ и клинических концентрациях веществ все они, по-видимому, слабо влияют на поглощение Ca^{2+} . Значение этого феномена заключается в том, что при снижении уровня АТФ, например при ИБС или ишемической остановке сердца во время операции коронарного шунтирования, поглощение Ca^{2+} может угнетаться.

Недавно Komai и Rusy на основании проведенных ими экспериментов по изучению действия фторотана на сокращение сосочковой мышцы кролика в условиях низкой и высокой частоты стимуляции сделали вывод, что препарат влияет в равной степени как на трансмембранный поток Ca^{2+} , так и на его внутриклеточные запасы, вследствие чего развивается отрицательный инотропный эффект. Фторотан уменьшает количество депонированного кальция путем уменьшения его поглощения и ускорения выхода из клетки [64].

Во время фазы 2 или плато потенциала действия ионы кальция входят по катионным медленным ионным каналам [65]. Если их блокировать верапамилом, то происходит угнетение сократимости на фоне практически неизменного потенциала действия [66]. Ионы кальция, поступающие в клетку по этим каналам, принимают определенное участие в процессе сокращения [67]. Некоторыми исследованиями [7, 67] было показано, что фторотан вызывает отрицательный инотропный эффект, мало влияя на потенциал действия кардиомиоцитов. В клинических условиях довольно нередко наблюдается диссоциация электромеханического сопряжения, проявляющаяся в значительном снижении артериального давления на фоне практически не измененной электрокардиограммы.

Действия фторотана [5], энфлурана [29] (рис. 30.6) и метоксифлурана [69] (рис. 30.7) на медленные каналы исследовали, одновременно регистрируя потенциал действия и силу сокращения сосочковой мышцы морской свинки. Все три вещества вызывали угнетение внутрь направленного кальциевого тока, обусловленного поступлением ионов в кардиомиоциты по зависимым от потенциала медленным каналам. Потенциалы действия, определяющие медленный кальциевый ток, можно вызвать путем стимуляции миокардиального препарата, деполяризованного до

40 мВ, раствором, содержащим 26 ммоль кальция, для инактивации быстрых натриевых каналов [70]. При таком уровне деполяризации клетки становятся невозбудимыми из-за отсутствия входящего тока [71]. Ток по медленным каналам можно увеличить, повысив внутриклеточный уровень цАМФ [72, 74]. Величина

$V_{\text{макс}}$ медленного потенциала действия отражает величину деполяризирующего тока [75]. Угнетающее действие фторотана на $V_{\text{макс}}$ значительно сильнее, чем действие энфлурана. Кроме того, фторотан несколько сильнее угнетает силу сокращения, сопровождающего медленный потенциал действия. Эти результаты, по-

25 ммоль K^+
 $0,3 \cdot 10^{-6}$ моль
 изопроterenола

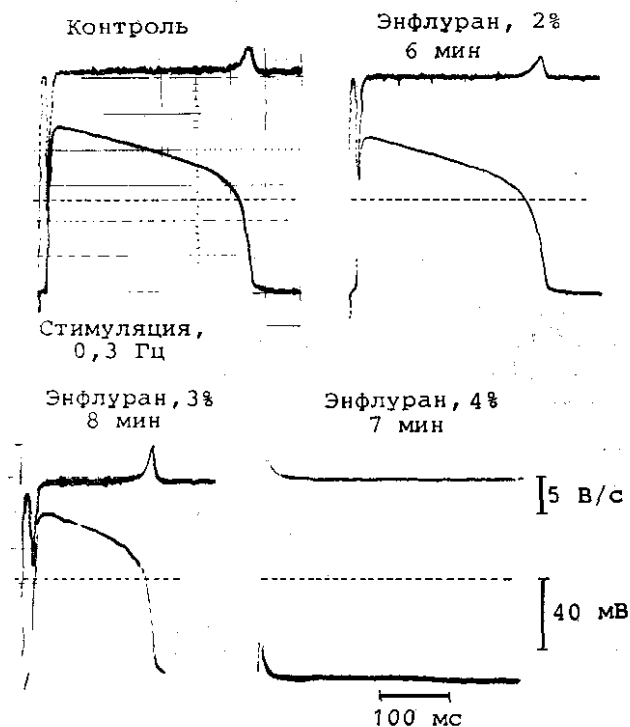


Рис. 30.6. Влияние на медленные потенциалы действия сосочковой мышцы сердца морской свинки энфлурана при МАК 1,2 (2%), 1,8 (3%) МАК 2,8 (4%).

Обратите внимание на полное подавление медленных потенциалов действия при 4% концентрации энфлурана (сравните с рис. 30.5 — влияние на нормальный потенциал действия).

видимому, свидетельствуют в пользу того, что фторотан более сильный кардиодепрессант [34, 35, 39], нежели энфлуран [34, 40—42].

Как фторотан в концентрации 0,5% (0,65 МАК) [5], так и энфлуран в концентрации 1% (0,6 МАК) [29] вызывают отрицательное инотропное действие, не влияя на медленные ПД. Ясно, что подобное кардиодепрессивное действие при клинических концентрациях обусловлено механизмом, отличным от угнетения медленного тока.

КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Подобно многим противоаритмическим препаратам, фторотан угнетает скорость деполяризации фазы 4 потенциала действия. Ослабляет кардиотоксические эффекты препаратов наперстянки

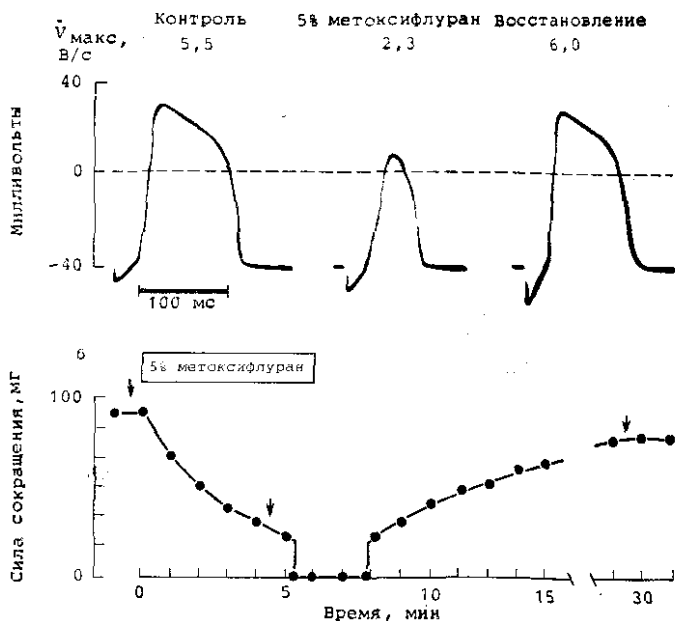


Рис. 30.7. Влияние метоксифлурана в концентрации 5% на медленный потенциал действия (а) и силу сокращения сосочковой папиллярной мышцы сердца морской свинки б).

[76, 77] и имеет терапевтическую ценность для борьбы с вызванной оубаином желудочковой тахикардией [78]. При желудочковой тахикардии, обусловленной интоксикацией препаратом наперстянки, эктопические пейсмекерные клетки располагаются либо в левой ножке пучка Гиса, либо в более дистальных волокнах Пуркинье, при этом происходит ретроградная активация пучка Гиса [79]. Согласно данным Logic и Moggow [80], фторотан способен устранить вызываемую гликозидами стимуляцию этих эктопических пейсмекеров. Препараты наперстянки ингибируют АТФ-зависимый Na^+/K^+ -насос [81]. Происходящее в результате этого увеличение внутриклеточной концентрации ионов натрия стимулирует систему $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обменного транспорта [82]. При этом повышается внутриклеточная концентрация Ca^{2+} и усиливается сократительная активность миокарда. Кардиотоксическое действие препаратов наперстянки обусловлено чрезмерным ингибированием насоса. Фторотан устраняет повышение скорости деполяризации фазы 4 под действием гликозидов и, следовательно, предотвращает усиление автоматизма эктопических пейсмекерных клеток. Повышение возбудимости клеточной мембраны под его влиянием, как показали Gruett и Granling [83], также может иметь определенное значение для предотвращения рециркуляторных аритмий, обусловленных не только токсическим действием препаратов наперстянки, но и развившихся при ишемии. Наконец, некоторую

роль может играть конкурентное угнетение фторотаном прохождения ионов кальция по медленным каналам [4].

Диэтиловый эфир, метоксифлуран, энфлуран и изофлуран также повышают толерантность миокарда к токсическому действию препаратов наперстянки, если их давать до введения оубаина, и восстанавливают синусовый ритм, если их применять на фоне уже развившейся желудочковой тахикардии [84]. Метоксифлуран и энфлуран увеличивают скорость деполяризации фазы 4 водителей ритма низкого уровня, но снижают ее в СА узле. Это часто вызывает развитие АВ ритма, наблюдаемое в клинике при использовании этих веществ. Показано также, что энфлуран повышает возбудимость мембраны [25], что позволяет частично объяснить ослабление нарушений ритма, вызванных интоксикацией препаратами наперстянки. Несмотря на то что их действие на АВ узел остается не совсем ясным, несомненно лишь то, что они не устраняют угнетающего воздействия препаратов наперстянки на АВ узел. Подобно последним, наркотизирующие вещества укорачивают эффективный рефрактерный период миокарда желудочков. Считается, что в развитии желудочковых аритмий вследствие интоксикации препаратами наперстянки принимает участие симпатическая первная система [85]. Согласно имеющимся данным, фторотан [86], энфлуран [87] и изофлуран [88] угнетают активность симпатической нервной системы, что и приводит к повышению толерантности к сердечным гликозидам.

Противоаритмическое действие ингаляционных наркотизирующих веществ обсуждается потому, что в клинике нарушения ритма возникают довольно часто, особенно в присутствии катехоламинов. Вначале вопрос о механизме, лежащем в основе этих нарушений ритма, оставался спорным: повышение аномального автоматизма или рециркуляции возбуждения [89—91]? В настоящее время все данные свидетельствуют в пользу рециркуляции. В исследованиях Zink с сотр. [91] артериальное давление и частота сердечных сокращений находились вблизи к критическому уровню. Чрезмерное повышение систолического внутрижелудочкового давления сопровождалось перерастяжением волокон Пуркинье. Это в свою очередь замедляло проведение и увеличивало скорость диастолической деполяризации, причем оба эффекта способствовали развитию рециркуляции возбуждения [92]. Считается, что бигеминия представляет собой результат паложения рециркулирующей волны возбуждения, приходящей от верхней части межжелудочковой перегородки, на следующее нормальное возбуждение, распространяющееся через АВ узел [93]. Результаты исследований Reynolds и Chi [93] подтверждают эту концепцию. Адреналин в концентрации, при которой он не влияет на скорость распространения волны возбуждения по волокнам Пуркинье, существенно усиливал умеренное замедление проведения, вызываемое фторотаном. Этот эффект угнетается при блокировании альфа-рецепторов и не изменяется при блокаде бета-рецепторов.

В клинических условиях в таком случае говорят о повышении чувствительности миокарда к фторотану, т. е. доза введенного

внутривенно адреналина, вызывающая преждевременное возбуждение желудочков, при наркозе ниже, чем в состоянии бодрствования. Сравнимые используемые в настоящее время ингаляционные наркотизирующие вещества, Joas и Stevens [94] показали в экспериментах на собаках, что при изофлурановом наркозе доза адреналина, вызывающая преждевременное возбуждение желудочков, в 4 раза выше, чем при фторотановом наркозе. Клинические данные подтверждают этот результат [96]. Стабильность сердечного ритма при внутривенном введении адреналина более высокая на фоне изофлурана, чем энфлурана, а самая низкая — на фоне фторотана. И при фторотановом наркозе, согласно данным Johnston с соавт. [95], и при энфлурановом, согласно данным Pridgen с соавт. [96], доза адреналина, вызывающая нарушения ритма, возрастает, если его вводить в растворе лидокаина. Это противоречит утверждению о том, что при нарушениях ритма, вызванных фторотаном, нельзя вводить лидокаин, так как он угнетает уже и без того угнетенное АВ проведение.

Верапамил, блокатор медленных кальциевых каналов, лишь недавно был внедрен в практику в клиниках США. Мы лишь кратко упомянем о его действии, что необходимо для обсуждения некоторых электрофизиологических данных. Известно, что он угнетает сократимость миокарда, ингибирует активность СА и АВ узлов и снижает тонус гладких мышц сосудов [97]. Нарушения ритма во время наркоза довольно успешно устраняются верапамилом [98]. Кроме того, он частично блокирует и быстрые натриевые каналы [99], что может играть определенную роль в угнетении сердечного выброса.

Действие верапамила было изучено на фоне фторотанового [101], энфлуранового [102] и изофлуранового [103, 104] наркоза. Он повышал порог развития нарушений ритма, вызываемых у интактной собаки адреналином на фоне фторотана в дозе 1 МАК [101]. При этом продолжало снижаться среднее артериальное давление и угнеталась работа сердца по сравнению с действием одного фторотана. Однако изменения сердечного выброса значительно варьировали. После первоначального увеличения он у некоторых собак оставался повышенным, а у других снижался. Это может быть обусловлено изменением под влиянием фторотана баланса двух эффектов верапамила в отношении сердечно-сосудистой системы: благоприятного для сердца снижения постнагрузки и желательного прямого угнетающего действия на миокард [105].

На фоне энфлуранового наркоза верапамил снижает среднее артериальное давление, сердечный выброс, частоту сердечных сокращений и dP/dt в левом желудочке. Достоверное снижение гемодинамических функций при этом наблюдается после введения верапамила в дозе, составляющей 25% от терапевтической [102]. У животных, получивших 1 МАК изофлурана, тонус симпатической системы выше, и они легче переносят большие концентрации верапамила в плазме, чем наркотизированные 1 МАК энфлурана. Кроме того, изофлуран вызывает меньшее рефлекторное высвобождение адреналина [103]. Эти данные свидетельствуют

о том, что в качестве ингаляционного наркотизирующего вещества у больных, принимающих верапамил, предпочтительнее использовать изофлуран. Kates с соавт. [104] подтвердил взаимосоиливающее угнетающее действие изофлурана и верапамила на миокард. Он обнаружил также, что повышение уровня Ca^{2+} лишь частично устраняет эти эффекты; это может быть свидетельством того, что блокирование медленных каналов в этом случае не единственный механизм кардиодепрессивного действия.

КОРОНАРНОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) приобретает для анестезиологов все большее значение по ряду причин. К ним относятся постепенное старение населения, более широкое использование операции аортокоронарного шунтирования и операций, не связанных с сердцем, у больных, для которых ранее их связывали с очень большим риском. Далее упрощенно будут обсуждены механизмы снабжения миокарда кислородом, для того чтобы разъяснить влияние на них ингаляционных наркотизирующих веществ.

Поступление кислорода к миокарду в основном зависит от потока крови в коронарных артериях и кислородной емкости крови. Самый большой коронарный кровоток отмечается в фазу диастолы. На градиент давления по ходу коронарного сосуда оказывает влияние диастолическое давление крови в аорте и конечное диастолическое давление в левом желудочке (КДДЛЖ). Частота сердечных сокращений также влияет на коронарный кровоток, поскольку от нее зависит продолжительность диастолы. При изменении диастолического артериального давления или КДДЛЖ изменяется и коронарный кровоток, несмотря на отсутствие изменений сопротивления коронарных сосудов. При ИБС атероматозные стенки артерий ограничивают диапазон регуляторного снижения сопротивления коронарных сосудов, и коронарный кровоток целиком определяется величиной давления и частотой сердечных сокращений.

На кислородную емкость крови более влияют анемия, изменение кислотно-основного равновесия и адекватность вентиляции легких во время операции, нежели сами наркотизирующие вещества.

Опубликованы обзоры, в которых проанализированы все факторы, влияющие на потребление миокардом кислорода [105, 106]. К наиболее важным из них относятся частота сердечных сокращений, состояние сократительной системы миокарда и механическое напряжение в стенках желудочков. Повышение частоты сердечных сокращений означает увеличение работы, совершаемой сердцем. Smith [107] перечислил 58 показателей, используемых для оценки состояния сократительной системы или сократимости миокарда. Такое большое число показателей само по себе свидетельствует об отсутствии единого подхода как к методу оценки сократимости, так и к определению понятия «сократимость». Наи

более разумным показателем считают dP/dt в левом желудочке [108—111]. Его увеличение означает повышение потребления миокардом кислорода, а уменьшение свидетельствует о противоположном эффекте. Произведение частоты сердечных сокращений на систолическое артериальное давление также тесно коррелирует с потреблением миокардом кислорода в клинических условиях [112, 113]. У больных, у которых во время операции была зарегистрирована ишемия миокарда, это произведение может составлять 11 000 [114]. Механическое напряжение в стенке желудочков зависит от внутрижелудочкового давления, объемов их полостей и массы сердца. Повышение внутрижелудочкового давления или объема вызывает увеличение напряжения в стенках желудочков, а значит, и работы, совершаемой сердцем.

Влияние ингаляционных наркотизирующих веществ на сократимость миокарда обсуждалось в предыдущем разделе настоящей главы, а также в обзорах Smith [107] и Sonntag [115]. Достаточно напомнить, что и фторотан, и энфлуран, и изофлуран оказывают кардиодепрессивное действие, а значит, уменьшают совершаемую сердцем работу.

Уменьшение коронарного кровотока в период систолы более выражено в эндокарде, чем в эпикарде [116]. К другим важным чертам коронарной системы кровообращения относится то, что крупные коронарные сосуды локализуются в эпикарде, а мелкие прекапиллярные сосуды, в норме определяющие сопротивление всей системы коронарных сосудов, — в миокарде [118]. Крупные коронарные сосуды не играют роли в общем сопротивлении коронарной сети до тех пор, пока их нейрогенная стимуляция не выходит за пределы нормы [119]. Этот эффект может проявиться в связи с влиянием ингаляционных наркотизирующих веществ на вегетативную регуляцию кровообращения [120].

В первых экспериментах на наркотизированных животных со вскрытой грудной клеткой были выявлены лишь слабые реакции сосудов на стимуляцию адренергических нервов [121, 122]. В дальнейшем при исследованиях, проведенных на животных с хронически вживленными датчиками, было выявлено заметное влияние их стимуляции и блокирования адренорецепторов на коронарный кровоток [123, 124]. В коронарных сосудах обнаружены как альфа-, так и бета-адренергические рецепторы [125]. Краткий обзор существующих в настоящее время данных о влиянии симпатической нервной системы на коронарное кровообращение, представляющем собой довольно сложное и не до конца выясненное явление, был опубликован Клоске с соавт. [126].

Влияние ингаляционных наркотизирующих веществ на коронарное кровообращение изучали как на животных, так и на человека.

ЭКСПЕРИМЕНТЫ НА ЖИВОТНЫХ

Iberlein [127], Saito с соавт. [128] и Weaver [129] с помощью флюорометрических методов показали, что фторотан и метоксифлуран снижают кровоток в коронарных артериях, а диэтиловый

эфир увеличивает коронарный кровоток в сердце собаки. В других исследованиях, в которых для его оценки использовали метод отмывания ^{85}Kt из коронарной вены, в тех же условиях было выявлено снижение потребления миокардом кислорода, что сопровождалось уменьшением коронарного кровотока [130]. Merin с соавт. [132] исследовал эффекты фторотана на свиньях, так как их сердце и системы коронарных сосудов очень близки к таковым у человека [131]. И в этом случае повышение концентрации препарата сопровождалось угнетением сократимости левого желудочка на фоне эквивалентного уменьшения коронарного кровотока и потребления миокардом кислорода.

Уменьшение коронарного кровотока при действии фторотана и его увеличение при действии диэтилового эфира скорее всего обусловлены изменениями потребности миокарда в кислороде [133]. Однако другой вывод был сделан Domenech с соавт. [134], исследовавшим диастолическое сопротивление системы коронарных сосудов, отходящих от огибающей артерии, в сокращающемся сердце и среднее полное сопротивление коронарной системы в изолированном покоем сердце собаки при обогащении крови 100% кислородом или смесью 2—3% фторотана с кислородом. Вывод состоял в том, что наблюдаемое при воздействии фторотана уменьшение сосудистого сопротивления обусловлено прямым его действием на коронарные сосуды. Этот эффект не изменялся при блокировании бета-адренергических рецепторов [134]. Sawyer с соавт. [136] удалось разделить местные и системные эффекты фторотана на сосуды, отходящие от правой коронарной артерии, с помощью метода искусственного кровообращения с оксигенацией крови в легких животного-донора. Местное введение препарата вызывает значительное расширение сосудов, не сопровождающееся изменениями dP/dt в правом желудочке или артериального давления. Введение его через легкие приводит к значительному уменьшению dP/dt и артериального давления без изменений сопротивления сосудов. Авторы пришли к выводу, что при системном введении фторотана стимулируется барорецепторный рефлекс и угнетается метаболизм миокарда, что препятствует проявлению местного действия препарата, состоящего в расширении коронарных сосудов. Этот вывод подтверждается данными о том, что системное введение его на фоне блокады альфа-рецепторов вызывает значительное уменьшение сопротивления коронарных сосудов. В том же исследовании сравнивали влияние фторотана и энфлурана на кровоток в правой коронарной артерии свиньи. Прямое действие этих веществ проявлялось в расширении сосудов. Системное введение их вызывало снижение артериального давления без изменения сопротивления коронарных сосудов, т. е. местные эффекты были замаскированы косвенными [136].

Vergier с соавт. [137] измерял коронарный кровоток для определения поступления кислорода к миокарду при разных уровнях саморегуляции коронарного кровообращения и оценивал максимальное расширение сосудов при разном перфузионном давлении в коронарных артериях и неизменной потребности миокарда

кислороде. Взаимосвязь давления и кровотока позволяет оценить резерв расширения коронарных сосудов. Соотношение между давлением и кровотоком в левой огибающей коронарной артерии сравнивали в условиях фторотанового (1 МАК) наркоза и наркоза закисью азота. При фторотановом наркозе снижались потребность миокарда в кислороде и коронарный кровоток. Интересно, что соотношение между давлением и кровотоком при максимальном расширении сосудов сдвигается влево, т. е. кровоток становится равным нулю при более низком перфузионном давлении. Авторы довольно удачно объяснили это с помощью гидродинамической теории течения крови по разветвленной сети сосудов. Такой сдвиг зависимости означает также, что ишемия субэндокарда вследствие саморегуляции коронарного кровотока наступает при более низком перфузионном давлении в коронарных артериях. При фторотановом наркозе резерв расширения коронарных сосудов больше, чем при использовании закиси азота.

Исследования, в которых в качестве контроля служат слабо наркотизированные животные, могут обусловить получение ошибочных результатов [120, 138]. Vatner и Smith на собаках с хронически вживленными датчиками показали, что фторотан в зависимости от концентрации (1 и 2%) угнетал сократимость желудочков [139], однако коронарный кровоток при повышении концентрации не изменялся. Merin с соавт. [37] удалось выявить его снижение при повышении концентрации фторотана. Эти исследователи считают, что причина расхождения результатов заключается в тахикардии, изменяющей потребности миокарда в кислороде. Эти же авторы изучили действие эфлурана [41]. При этом в зависимости от глубины наркоза угнетались сократимость желудочков, сопровождающаяся снижением коронарного кровотока, и поступление кислорода к миокарду. У той же собаки фторотан вызывал отрицательное инотропное действие в зависимости от концентрации вещества и эквивалентное снижение потребности миокарда в кислороде.

ИЗУЧЕНИЕ НА ЧЕЛОВЕКЕ

Sonntag с соавт. [140] изучал эффекты фторотана в концентрациях 0,7 и 1,54% на здорового человека. Сократимость миокарда снижалась в зависимости от дозы без изменения частоты сердечных сокращений. Оксигенация его оставалась адекватной, судя по уменьшению экстракции кислорода из крови и отсутствию изменений в ней уровня лактата. Произведение частоты сердечных сокращений на артериальное давление почти не коррелировало с потреблением миокардом кислорода, хотя и уменьшалось при повышении концентрации фторотана. Более тесная корреляция наблюдалась между потреблением миокардом кислорода и артериальным давлением, а также сократимостью миокарда, но и она не идеальна. Авторы считают, что оптимального клинического показателя потребности миокарда в кислороде в период наркоза до сих пор не найдено.

ИШЕМИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ СЕРДЦА

Основной причиной ишемической болезни сердца служит нарушение равновесия между поступлением кислорода к миокарду и его потреблением. Симптомы ишемии миокарда в эксперименте на сердце собаки, вызванной перевязкой коронарной артерии, при фторотановом наркозе [141, 142] и эпидуральной анестезии [143] проявлялись слабее с одновременным повышением кровоснабжения и оксигенации миокарда. Однако, как отметил Merin [144], в этом исследовании контролем служили животные с очень большой частотой сердечных сокращений и высоким артериальным давлением. Угнетение сократимости миокарда в этих условиях может быть причиной того, что его потребность в кислороде снижается в большей степени, чем уменьшается поступление кислорода вследствие снижения перфузионного давления в коронарных артериях. Prys-Roberts с соавт. [145] на собаках с хронически вживленными датчиками также не удалось обнаружить благотворного влияния фторотана на ишемизированный миокард. В концентрации 0,5 и 1 МАК фторотан не оказывал защитного действия на сократимость желудочков и при тотальной ишемии миокарда [146]. В исследованиях Gerson с сотр. [147] показателем степени ишемии миокарда была выбрана величина подъема сегмента *ST* на эпикардиальной электрограмме в ответ на кратковременную окклюзию левой передней нисходящей коронарной артерии. Они сравнили эффекты фторотана (1%) и нитропрусида в сочетании с анаприлином и обнаружили, что фторотан вызывает снижение сегмента *ST* в большей степени.

В позднее проведенных исследованиях был использован метод неполного сужения просвета сосудов, чтобы создать условия, более близкие к клиническим. Lowenstein с сотр. [148] изучал действие фторотана в концентрациях от 0,5 до 2% на участки миокарда левого желудочка, снабжаемые кровью из левой передней нисходящей коронарной артерии с критическим уровнем сужения и из неизменной левой огибающей артерии. Поступающий в кровь фторотан практически не влиял на участок миокарда, снабжаемый кровью из неизменной коронарной артерии, но нарушал сократимость и вызывал парадоксальную ишемию в участке, получающем кровь из суженной коронарной артерии, несмотря на то что функция левого желудочка в целом была в пределах нормы. Авторы предположили, что такое состояние во время наркоза участка миокарда, получающего кровь из атеросклерозированной артерии, о чем не подозревают хирурги, может быть одной из основных причин операционного инфаркта миокарда, развивающегося несмотря на отсутствие ишемических приступов или гемодинамической неустойчивости. Они считают, что в основе этого явления может лежать снижение перфузионного давления. Этот вывод подтверждается результатами, полученными Behrbeck с сотр. [149], который не выявил различий в функционировании разных участков миокарда, как ишемизированных, так и неизменных, при действии фторотана в разных концентрациях.

что справедливо в течение всего периода, пока сохраняется перфузия миокарда кровью. Lowenstein с сотр. изучали также влияние критического сужения левой огибающей коронарной артерии [150]. Сужение до критического уровня снабжающей кровью значительный участок миокарда левой огибающей артерии может привести к выраженному снижению кровоснабжения этого участка, что сопровождается также снижением тотальной перфузии сердца приблизительно в той же степени. При критическом сужении левой передней нисходящей коронарной артерии энфлуран вызывает заметное снижение сократимости соответствующего участка стенки, которое и в этом случае сопровождается аналогичным ослаблением работы всего сердца [151]. Критическое сужение левой передней нисходящей артерии вызывает несколько более сильное снижение сократимости соответствующего участка миокарда по сравнению с таким же сужением левой огибающей артерии, в то время как сократимость всего сердца угнетается значительно сильнее. Nickey с сотр. [152] не обнаружили практически никаких изменений гемодинамики, метаболизма и ЭКГ признаков при фторотановом наркозе (1, 2 МАК) на фоне 40% снижения кровотока вследствие стеноза в левой передней нисходящей коронарной артерии. При концентрации 2,1 МАК и низком артериальном давлении выявляются признаки ишемии. Megin с сотр. [153] вызывали 60% снижение кровотока в левой передней нисходящей коронарной артерии свиньи, что приводило к ишемии участка миокарда, снабжаемого кровью через эту артерию. Их целью было сравнение эффектов фторотана и фентанила с добавлением закиси азота. Ни один из видов наркоза не оказывал защитного действия; не выявлено также различий в степени ишемии или угнетения сократимости миокарда желудочков. Вывод этих исследователей состоял в том, что уменьшение поступления кислорода к миокарду вследствие стеноза коронарной артерии при большом отношении его поступления к потребности в нем при использовании фентанила сопровождалось метаболическими изменениями приблизительно той же степени, что и при небольшом отношении при использовании фторотана. Однако Lowenstein с сотр. [154], используя результаты, полученные Megin с сотр. [153], Waters с сотр. [155] и Verier с сотр. [137], рассчитали, что при той же степени сужения артерии и том же гемодинамическом состоянии, которые были описаны Megin и соавт., миокард более устойчив к действию фторотана, т. е. к условиям повышенных потребностей и пониженного давления, чем фентанила, т. е. к условиям высоких потребностей и повышенного давления.

Однако подобные исследования обладают рядом недостатков. Во-первых, стеноз коронарной артерии создают на фоне постоянного уровня наркоза, что отличается от клинической ситуации, в которой наркоз наступает при существующем выраженном сужении одной или нескольких коронарных артерий [154]. Во-вторых, такие ограниченные сужения в клинике встречаются редко. Если же в атеросклеротический процесс вовлечены обширные

участки сосудистой сети, признаки тотальной ишемии могут быть более выражены на фоне соответствующих изменений гемодинамики. В одной из последних работ Hoffman с соавт. [156] сообщает о выявленных им различиях системной и региональной гемодинамики у молодых крыс по сравнению со старыми. Возможно ли экстраполировать эти данные на человека остается спорным вопросом, но они по крайней мере свидетельствуют о том, что для его выяснения необходимы дальнейшие исследования.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Lieberman с сотр. [157] изучали эффекты фторотана у больных при операции аортокоронарного шунтирования путем регистрации ЭКГ в отведении V_5 . У 73% больных до операции были выявлены признаки дисфункции левого желудочка. Ни у одного из больных на операции не было выявлено никаких дополнительных ишемических изменений. Slogoff с соавт. [158] сообщил о том, что при анестезии на основе морфия у 26% больных развивается ишемия, и вероятность ее значительно увеличивается при одновременном использовании бета-блокаторов. Kistner с сотр. [159] также сравнивали действие фторотана и морфия на больных при операции аортокоронарного шунтирования и обнаружили, что в контролируемой ситуации наиболее предпочтительно использовать фторотан, так как он не вызывает ишемических и нежелательных гемодинамических изменений. Delaney с сотр. [32] сравнили эффекты фторотана и энфлурана (0,75 МАК) у больных ИБС. Их данные указывают на то, что фторотан уменьшает сократимость миокарда, частоту сердечных сокращений и постнагрузку, а значит, и потребление миокардом кислорода и несколько увеличивает преднагрузку. Энфлуран снижает только постнагрузку. Аналогичные данные получены при изучении изофлурана [160], уменьшающего сопротивление системных сосудов в большей степени, чем энфлуран, в то время как ударный объем и сердечный выброс уменьшаются в меньшей степени [161]. Изофлуран значительно меньше снижает сократимость миокарда по сравнению с фторотаном и энфлураном, несмотря на сходство их действия на сократительные белки и активность ферментов [162]. Prys-Roberts с соавт. также отметили слабое влияние фторотана на сопротивление системных сосудов [163].

Итак, в настоящей главе суммированы результаты изучения воздействия ингаляционных наркотизирующих веществ, используемых в настоящее время в клинике, на электрофизиологию сердца и сократимость сердечной мышцы, на коронарное кровообращение в норме и при ишемической болезни сердца — наиболее частом патологическом процессе, с которым в настоящее время приходится сталкиваться анестезиологам. Для полноты картины следует упомянуть о том энтузиазме, с которым анестезиологи встретили новый метод обезболивания при операциях на коронарных артериях, состоящий в использовании больших доз фен

ташпа (опиатный наркоз). Об этом кратко упомянуто выше. Читатели, интересующиеся этим вопросом, могут познакомиться с ним подробнее в работах Lowenstein и Philbin [164], Waller с соавт. [165], Stanley с соавт. [166], Lunn с соавт. [167], Zurick с соавт. [168], Merin с соавт. [153] и Sonntag с соавт. [169]. Однако ясно пока лишь то, что не существует такого наркотизирующего вещества, которое одно обеспечивало бы идеальные условия для хирургического лечения больных ИБС. Наиболее предпочтительным методом анестезии продолжают оставаться использование разумных комбинаций различных фармакологических веществ и тщательное мониторирование их действия в период операции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hauswirth O., Schaer H. Effects of halothane on the sinoatrial node. — J. Pharmacol. Exp. Therap., 1967, vol. 158, p. 36—39.
2. Reynolds A. K., Chiz J. F., Pasquet A. F. Halothane and methoxyflurane: a comparison of their effects on cardiac pacemaker fibers. — Anesthesiology, 1970, vol. 33, p. 602—610.
3. Maytie J., Morad M., Weiss J. A study of pacemaker potential in rabbit sino-atrial node: measurement of potassium activity under voltage-clamp conditions. — J. Physiol., 1981, vol. 311, p. 161—178.
4. Kampine J. P., Bosnjak Z. J., Turner L. A. Effects of halothane on SA node: role of calcium. — Anesthesiology, 1981, vol. 55, p. A58.
5. Lynch C., Vogel S., Sperelakis N. Halothane depression of myocardial slow action potentials. — Anesthesiology, 1981, vol. 55, p. 360—368.
6. Merlos J. R., Bosnjak Z. J., Purlock R. V. et al. Halothane and enflurane effects on SA node cells. — Anesthesiology, 1980, vol. 53, p. S143.
7. Hauswirth O. Effects of halothane on single atrial, ventricular, and Purkinje fibers. — Circ. Res., 1969, vol. 24, p. 745—750.
8. Reynolds A. K., Chiz J. F., Pasquet A. F. Pacemaker migration and sinus node arrest with methoxyflurane and halothane. — Can. Anesth. Soc. J., 1974, vol. 18, p. 137—144.
9. Pratl M. G., Vogel S., Sperelakis N. Effects of enflurane on rabbit atrium. Unpublished data.
10. Scherlag B. J., Helfant R. H., Damato A. N. A catheterization technique for His-bundle stimulation and recording in intact dog. — J. Appl. Physiol., 1968, vol. 25, p. 425—428.
11. Damato A. N., Lau S. H., Bobb G. A., Wit A. L. Recording of AV nodal activity in the intact dog heart. — Amer. Heart J., 1970, vol. 80, p. 353—366.
12. Narula O. S., Scherlag B. J., Samet P., Javier R. P. Atrioventricular block: localization and classification by His-bundle recordings. — Amer. J. Med., 1971, vol. 50, p. 146—165.
13. Kastor J. A. Atrioventricular block. — N. Engl. J. Med., 1975, vol. 292, p. 462—465, 572—574.
14. Atlee J. L., Rusy B. F. Halothane depression of A—V conduction studied by electrograms of the bundle of His in dogs. — Anesthesiology, 1972, vol. 36, p. 112—118.
15. Atlee J. L., Alexander S. C. Halothane effects on conductivity of the AV node and His Purkinje system in the dog. — Anesth. Analg. (Cleve), 1977, vol. 56, p. 378—386.
16. Atlee J. L., Homer L. D., Tober R. E. Diphenylhydantoin and lidocaine modification of AV conduction in halothane anesthetized dogs. — Anesthesiology, 1975, vol. 43, p. 49—60.
17. Atlee J. L., III, Houge J. C., Malkinson C. E. Halothane and AV conduction: awake vs anesthesia. — Anesthesiology, 1981, vol. 55, p. A53.
18. Hantler C. B., Kroll D. A., Tait A. R., Knight P. R. Cardiac effects of halothane with spinal anesthesia. — Anesthesiology, 1981, vol. 55, p. A4.

150. *Francis C. M., Glazebrook C., Lowenstein E.* et al. Effect of halothane on the performance of the heart in the case of critical constriction of the L circumflex coronary artery. — *Brit. J. Anesth.*, 1980, vol. 52, p. 631P.
151. *Cutfield G. R., Francis C. M., Foex P.* et al. Myocardial function and critical constriction of the L anterior descending coronary artery: effects of enflurane. — *Brit. J. Anesth.*, 1980, vol. 52, p. 953P.
152. *Hickey R. F., Verrier E. D., Baer R. W.* et al. Does deliberate hypotension produce myocardial ischemia when the coronary artery is stenotic? — *Anesthesiology*, 1980, vol. 53, p. S89.
153. *Merin R. G., Verdouw P. D., De Jong J. W.* Myocardial functional metabolic responses to ischemia in swine during halothane and fentanyl anesthesia. — *Anesthesiology*, 1982, vol. 56, p. 84—92.
154. *Lowenstein E., Hill R. D., Rajogopalan B., Schneider R. C.* Winnie the Pooh revisited, or, the more recent adventures of Piglet. — *Anesthesiology*, 1982, vol. 56, p. 81—83.
155. *Waters D. D., Daluz P., Wyatt H. L.* et al. Early changes in regional and global left ventricular function induced by graded reductions in regional coronary perfusion. — *Amer. J. Cardiol.*, 1977, vol. 39, p. 537—543.
156. *Hoffman W. E., Miletic D. J., Albrecht R. F.* Cardiovascular and regional blood flow changes during halothane anesthesia in the aged rat. — *Anesthesiology*, 1982, vol. 56, p. 444—448.
157. *Lieberman R. W., Jobs D. R., Schwartz A. J., Andrews R. W.* Incidence of ischemia during CABG using halothane. — *Anesthesiology*, 1979, vol. 51, p. S90.
158. *Slogoff S., Keats A. S., OH E.* Preoperative propranolol therapy and aorta-coronary bypass operation. — *J. A. M. A.*, 1978, vol. 240, p. 1487—1490.
159. *Kistner J. R., Miller E. D., Lake C. L., Ross W. T. Jr.* Indices of myocardial oxygenation during coronary-artery revascularization in man with morphine versus halothane anesthesia. — *Anesthesiology*, 1979, vol. 50, p. 324—330.
160. *Calverly R. K., Smith N. T., Jones C. W.* et al. Ventilatory and cardiovascular effects of enflurane anesthesia during spontaneous ventilation in man. — *Anesth. Analg. (Cleve)*, 1978, vol. 57, p. 610—618.
161. *Tarnow J., Eberlein H. J., Oser B.* et al. Influence of modern inhalational anesthetics on haemodynamics, myocardial contractility, LV volumes and myocardial oxygen supply. — *Anesthetist*, 1977, vol. 26, p. 220—230.
162. *Pask H. T., England P. J., Prys-Roberts C.* Effects of volatile inhalational anesthetic agents on isolated bovine cardiac myofibrillar ATPase. — *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1981, vol. 13, p. 293—301.
163. *Prys-Roberts C., Lloyd J. W., Fisher A.* et al. Deliberate profound hypotension induced with halothane: studies of haemodynamics and pulmonary gas exchange. — *Brit. J. Anesth.*, 1974, vol. 46, p. 105—116.
164. *Lowenstein E., Philbin D. M.* Narcotic "anesthesia" in the eighties. — *Anesthesiology*, 1981, vol. 55, p. 195—197.
165. *Waller J. L., Hug C. C., Nagle D. M., Craver J. M.* Hemodynamic changes during fentanyl-oxygen anesthesia for aortocoronary bypass operation. — *Anesthesiology*, 1981, vol. 55, p. 212—217.
166. *Stanley T. H., Philbin D. M., Coggins C. H.* Fentanyl-oxygen anesthesia for coronary artery surgery: cardiovascular and antidiuretic hormone responses. — *Can. Anesth. Soc. J.*, 1979, vol. 26, p. 168—172.
167. *Lunn J. K., Stanley T. H., Eisele J.* et al. High-dose fentanyl anesthesia for coronary artery surgery: plasma fentanyl concentrations and influence of nitrous oxide on cardiovascular responses. — *Anesth. Analg. (Cleve)*, 1979, vol. 58, p. 390—395.
168. *Zurick Am., Urzua J., Yared J.-P., Estafanous F. G.* Comparison of hemodynamic and hormonal effects of large single dose fentanyl anesthesia and halothane/N₂O anesthesia for coronary artery surgery. — *Anesth. Analg. (Cleve)*, 1982, vol. 61, p. 521—526.
169. *Sonntag H., Larsen R., Hilfikier O.* et al. Myocardial blood flow and oxygen consumption during highdose fentanyl anesthesia in patients with coronary disease. — *Anesthesiology*, 1982, vol. 56, p. 417—422.

Глава 31

ВЛИЯНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА МИОКАРД

В. ДЖ. ФЕРРАНС (V. J. FERRANS)

ВВЕДЕНИЕ

Реакции сердца на токсическое повреждение можно классифицировать в зависимости от того, являются ли они: (а) следствием прямого воздействия токсического вещества, (б) результатом чрезмерных фармакологических эффектов вещества либо на сам миокард, либо на коронарное или системное кровообращение вследствие превышения терапевтической дозы или (в) следствием гиперчувствительности или аллергической реакции. Такие различия этиологии не всегда можно выявить при морфологическом исследовании поврежденных миокарда после токсического воздействия, так как влияние токсических препаратов и веществ на сердце человека и экспериментальных животных проявляется в виде спектра разнообразных комплексных изменений структуры миокарда.

Эффекты большинства кардиотоксичных препаратов характеризуются признаками, специфическими либо для острой токсической, либо для острой аллергической реакции, и развиваются вскоре после однократного введения конкретного препарата или во время (а иногда даже после) курса лечения, в ходе которого больной получает препарат несколько раз. При этом можно выявить несомненную причинную связь между воздействием и реакцией независимо от того, является ли реакция результатом передозировки, побочного действия или гиперчувствительности. Клинические признаки таких реакций обычно совпадают с признаками острого токсического процесса с ишемическими проявлениями на ЭКГ, с развитием аритмий, острой сердечной недостаточности и внезапной смертью. С точки зрения морфологии повреждения миокарда, вызванные лекарственными препаратами, обычно представляют собой мультифокальные участки дегенерации миокарда, некроза, воспаления или фиброза; однако при некоторых токсических реакциях развиваются обширные непрерывные зоны некроза или фиброза, подобно выявляемым при инфаркте миокарда. При действии ряда веществ, например хинидина или препаратов наперстянки, морфологические изменения миокарда могут полностью отсутствовать, а смерть является результатом быстрых нарушений электрофизиологических функций (в частности, нарушений ритма) сердца, которые не сопровождаются изменением структуры миокарда. Выявляемую в этих случаях

кардиомегалию обычно приписывают независимому заболеванию сердца, возникшему до токсического воздействия. Значительно реже определенные лекарственные препараты и химические вещества вызывают долговременные изменения в сердце с клиническими и морфологическими проявлениями, свойственными хронической кардиомиопатии.

В данном обзоре все описываемые морфологические реакции миокарда на токсическое повреждение разделены на следующие категории: (1) гипертрофия миокарда; (2) кардиомиопатия; (3) некроз миокарда, включая инфарктоподобный некроз, аллергический миокардит и токсический миокардит; (4) перикардиты; (5) изменения сосудов, в том числе воспаление сосудов вследствие токсического воздействия или гиперчувствительности, фибрино-мышечная гиперплазия и тромбозомболическая болезнь. При воздействии лекарственных препаратов и химических веществ могут также возникать аномалии развития сердечно-сосудистой системы, но их рассмотрение выходит за рамки данной главы.

ГИПЕРТРОФИЯ МИОКАРДА

Под гипертрофией миокарда понимают увеличение массы сердца свыше нормальных пределов для данного возраста, пола и массы тела. Такое увеличение массы обычно развивается как компенсаторная реакция на возрастающую нагрузку на сердце. Оно может быть следствием врожденных аномалий, приобретенных клапанных пороков, заболеваний легких (легочное сердце), системной гипертензии, различных эффектов лекарственных препаратов и гормонов (тиреоидных гормонов, соматотропного гормона, катехоламинов) или невыясненных причин, как в случае кардиомиопатий. До определенных пределов, известных как критическая масса сердца (500 г), считается, что гипертрофия миокарда человека обусловлена увеличением размера самих сердечных миоцитов (кардиомиоцитов). Предполагается, что увеличение массы сердца сверх этой критической величины связано с появлением новых кардиомиоцитов, но механизм этого явления неизвестен, поэтому данная концепция остается спорной [1].

Вскоре после рождения частота митозов клеток миокарда уменьшается до пренебрежимо низкого уровня, и клеточного деления с образованием новых кардиомиоцитов не наблюдается даже при высокой степени гипертрофии. Однако было показано, что в определенных условиях удается вызвать синтез ДНК и митоз кардиомиоцитов предсердий [2]. Известно также, что патологическое увеличение массы сердца у новорожденных может сопровождаться гиперплазией кардиомиоцитов [1].

Гипертрофия миокарда может быть концентрической (перегрузка давлением, для камер сердца характерны толстые стенки и нормальный или уменьшенный объем) и эксцентрической (перегрузка объемом, камеры сердца имеют большой объем, стенки переменной толщины). Гипертрофию можно также разделить на симметричную и асимметричную. Для большинства случаев

заболеваний сердца степень гипертрофии в различных участках данной камеры сердца одинакова (симметричная гипертрофия). Исключением является гипертрофическая кардиомиопатия, при которой межжелудочковая перегородка утолщается в значительно большей степени, чем свободные стенки обоих желудочков.

Выделяют три стадии гипертрофии миокарда: (а) стадия развития гипертрофии, характеризующаяся активным синтезом новых клеточных компонентов; (б) стадия стабильной гиперфункции или компенсаторной гипертрофии; (в) стадия истощения клеток, при которой происходит ухудшение работы сердца, и в кардиомиоцитах становятся заметны различные дегенеративные изменения. Большая часть прироста массы сердца при гипертрофии связана с увеличением числа митохондрий и миофибрилл. Однако количественные соотношения между этими двумя компонентами могут сильно варьировать в зависимости от причин и стадии гипертрофии.

Значительная степень гипертрофии миокарда может быть создана у экспериментальных животных путем введения соматотропного гормона [3], тиреоидных гормонов [4], трийодтироацетатной кислоты (ТИТАК) [5, 6], норадреналина [7] и изопроterenола [8]. Дозы двух последних веществ, необходимые для развития гипертрофии, ниже доз, вызывающих некроз миокарда. Медленное продолжительное введение в кровь норадреналина вызывает развитие гипертрофии уже при таких дозах, которые не приводят к повышению системного артериального давления [7]. Особый интерес представляет гипертрофия миокарда новорожденных животных, являющаяся следствием введения ТИТАК их матерям во время беременности, так как такая гипертрофия по ряду признаков близка к гипертрофической кардиомиопатии [5, 6]. Формы гипертрофии миокарда у экспериментальных животных, вызываемые введением соматотропного гормона или тиреоидных гормонов, повторяют большинство характерных признаков гипертрофии миокарда больных с синдромами акромегалии и гипертиреоза.

КАРДИОМИОПАТИИ

Кардиомиопатии (болезни миокарда) можно классифицировать следующим образом: (а) гипертрофическая, (б) застойная (с дилатацией желудочков) и (в) рестриктивная.

Гипертрофическая кардиомиопатия

При гипертрофической кардиомиопатии полости желудочков имеют аномально малые размеры, стенки желудочков аномально утолщены, а межжелудочковая перегородка утолщается в большей степени, чем свободные стенки левого желудочка на уровне внутреннего края задней створки митрального клапана. Кроме того, при гипертрофической кардиомиопатии наблюдается значительное нарушение взаимного расположения кардиомиоцитов и миофибрилл в миокарде межжелудочковой перегородки (как и в

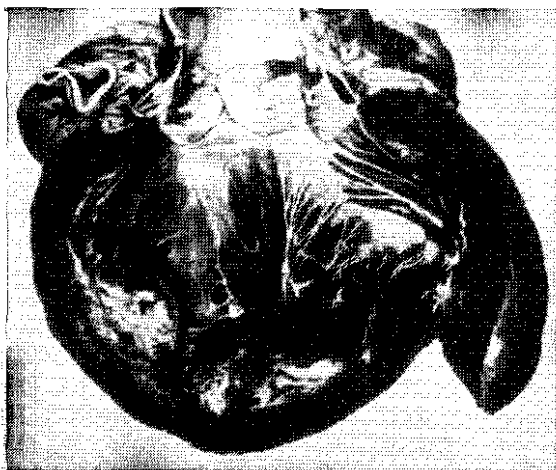


Рис. 31.1. Фотография расширенного сердца больного с кардиомиопатией и хроническим алкоголизмом. Верхушка левого желудочка заполнена тромботическими массами.

миокарде свободных стенок желудочков). Обычно это заболевание имеет наследственный характер, однако в редких случаях оно сопровождается другими заболеваниями, например атаксию Фридрейха, гипертиреоз и лентигиноз [10]. Оно наблюдается также у кошек, свиней и собак, но все еще не выведена чистая линия таких животных, которая могла бы стать подходящей экспериментальной моделью [11, 12]. Природа нарушений, лежащих в основе этого заболевания, неизвестна, однако оно представляет огромный интерес для фармакологии вследствие большого числа путей, позволяющих влиять на его клинические проявления, например, с помощью блокаторов β -адренергических рецепторов, различных веществ, обладающих положительным инотропным действием, а также препаратов, влияющих на транспорт кальция (верапамил). Тем не менее в настоящее время не существует модели лекарственно-индуцированной гипертрофической кардиомиопатии.

Дилатационные кардиомиопатии

Термин «застойная, или дилатационная, кардиомиопатия» охватывает неоднородную группу заболеваний миокарда (исключаются такие этиологические факторы, как врожденные болезни сердца, повреждения клапанов, заболевания сердца, связанные с гипертензией или нарушением функции легких), при которых обычными являются застойная сердечная недостаточность (недостаточность насосной функции сердца) и дилатация камер обоих желудочков (рис. 31.1). Характерны также полостные тромбы и локальные утолщения эндокарда вместе с небольшими фокусами миоцитолита и фиброза миокарда [9].

Эксцентрическая гипертрофия и расширение камер сердца, наблюдающиеся при дилатационной кардиомиопатии, обусловлены преимущественно постепенной перестройкой взаимного расположения слоев сердечных миоцитов, составляющих стенки же-

лудочков. По мере развития дилатации эти слои ориентируются все более тангенциально по отношению к стенке. Перерастяжением саркомеров нельзя объяснить хроническую дилатацию, хотя при острой дилатации оно, несомненно, имеет место. Еще не выяснено значение для развития эксцентрической гипертрофии роста клеток в продольном направлении, приводящем к увеличению их длины. Этиология описанных выше изменений у большинства больных с дилатационной кардиомиопатией (идиопатическая дилатационная кардиомиопатия) остается неизвестной; у других больных кардиомиопатия может быть связана с хроническим алкоголизмом (алкогольная миокардиопатия), с последствиями вирусной инфекции или с приемом токсических веществ. Этиловый спирт, противоопухолевые препараты семейства антрациклиновых антибиотиков, кобальт и фуразолидон являются теми агентами, которые способны вызывать синдромы хронической кардиомиопатии.

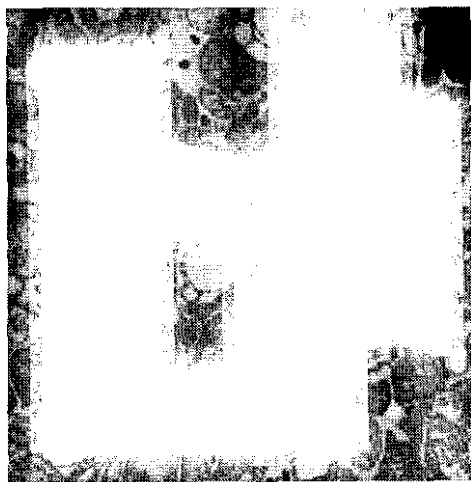
Алкогольная кардиомиопатия. Этиловый спирт оказывает ряд вредных воздействий на метаболизм миокарда, включая угнетение функции митохондрий, снижение поглощения кальция саркоплазматической сетью, накопление липидов в миокарде, а также косвенные воздействия, опосредованные ацетальдегидом (ингибирующим синтез белков и способствующим высвобождению катехоламинов), ацетатом и тиамином. Тем не менее патогенетические механизмы алкогольной кардиомиопатии остаются неясными [13—15]. Кардиомиопатия развивается лишь у небольшого процента больных хроническим алкоголизмом, хотя у значительно большей доли таких больных выявляются менее заметные изменения структуры и функции сердца. Более того, у экспериментальных животных, получающих этанол с пищей, не удается воспроизвести полную клиническую картину алкогольной кардиомиопатии, наблюдаемую у человека, несмотря на то, что у таких животных выявляются аналогичные морфологические и функциональные изменения. Вероятно, токсическое действие этанола на миокард модифицируется некоторыми другими факторами, и «алкогольная» кардиомиопатия, наблюдаемая у больных людей, представляет собой многофакторное заболевание [13].

Исследования гистологии и ультраструктуры миокарда полезны для распознавания некоторых заболеваний, приводящих к неспецифической картине прогрессирующей дилатации сердца и сердечной недостаточности, наблюдаемых при дилатационной миокардиопатии [16]. Однако анатомические находки у больных с застойной кардиомиопатией существенно не отличаются от таковых у больных с хроническим алкоголизмом и без него. При биопсиях миокардиальной ткани таких больных были обнаружены разнообразные неспецифические дегенеративные изменения, которые, по-видимому, отражают длительность и тяжесть течения болезни сердца. У больных хроническим алкоголизмом часто выявляется накопление в кардиомиоцитах большого количества липидных капель, однако это изменение является неспецифическим. Алкогольная кардиомиопатия у некоторых больных осложняется

дефицитом тиамина и других метаболитов. Осложнения может вызвать попадание вместе с этанолом других токсических веществ. Наиболее поразительным примером такого явления служит эпидемия тяжелой острой миокардиопатии, часто сопровождавшейся выпотом в перикард и лактат-ацидозом, которая развилась у плохо питающихся больных хроническим алкоголизмом, выпивавших большое количество пива, в которое в процессе изготовления добавлены соли кобальта для получения более пышной пены. Морфологические исследования выявили у таких больных лизис миофибрилл, накопление гликогена, значительную вакуолизацию и отек кардиомиоцитов. Эксперименты на животных показали, что важным фактором, влияющим на поглощение кобальта из желудочно-кишечного тракта, является недостаток белка в пище [13].

Антрациклиновая кардиомиопатия. Антрациклиновые антибиотики, способные вызывать симптомы остро (желудочковые нарушения ритма и угнетение сократимости) и подострого (перикардит и миокардит) токсического повреждения сердца, как хорошо известно, приводят также к развитию хронической застойной кардиомиопатии особого типа, наблюдаемой как у человека, так и у экспериментальных животных. Патогенез такого осложнения, степень которого зависит от дозы препарата (обычно кумулятивная доза составляет более 400 мг/м²), остается неясным, хотя и предложен ряд возможных механизмов, в том числе связывание препарата с ДНК кардиомиоцитов в процессе роста клетки, ингибирование ряда ферментных систем и стимуляция опосредованного свободными радикалами разрушения пероксидаз клеточной мембраны, мембраны митохондрий, ДНК и мембран саркоплазматического ретикулума (саркоплазматическая сеть) [17—19]. Независимо от причины токсическое действие препарата вызывает два основных вида повреждений миокарда: дилатацию желудочков и дегенерацию кардиомиоцитов. При микроскопическом исследовании дегенерация проявляется в исчезновении миофибрилл и вакуолизации цитоплазмы (рис. 31.2). Последний признак значительно сильнее, но чаще выявляется в отдельных фокусах, захватывающих несколько клеток, а не в сплошных участках миокарда. Причиной вакуолизации является расширение тубул саркоплазматического ретикулума. Такие изменения могут захватывать также и проводящую систему сердца. Степень морфологических изменений, вызванных антрациклинами в миокарде больных, оценивали на основании биопсии миокарда, выполнение которой считается целесообразным, когда необходимо определить, можно ли данному больному, у которого имеется риск развития антрациклиновой кардиомиопатии, ввести дополнительное количество лекарства [20]. Известно, что существенным фактором риска развития антрациклиновой кардиомиопатии является облучение сердца. Такая форма кардиомиопатии представляет собой новую модель для изучения идиопатической хронической застойной кардиомиопатии. Однако практическое использование этой модели может быть затруднено из-за других побочных эффектов антрациклиновых антибиотиков, включая ток-

Рис. 31.2. Выраженная вакуолизация цитоплазмы кардиомиоцитов — типичный признак кардиотоксического действия антрациклиновых антибиотиков. Заливка в пластик. Окраска щелочным толуидиновым синим. $\times 400$.



сическое действие на костный мозг, желудочно-кишечный тракт и повреждения кожи.

Антрациклиновые антибиотики, особенно доксорубин и даунорубин, относятся к одним из наиболее эффективных противоопухолевых препаратов, имеющих в настоящее время. Поэтому предпринимались значительные усилия для уменьшения их кардиотоксичности без снижения терапевтической эффективности. Наиболее успешный результат был получен при использовании препарата ICRF-187, который, по-видимому, действует путем связывания железа, необходимого для перекисных реакций, стимулируемых антрациклинами. Если препарат ICRF-187 принимать одновременно с доксорубицином, то тяжесть кардиомиопатии, развивающейся у кроликов, крыс, собак и свиней, значительно уменьшается [21—24]. Вещества, связывающие свободные радикалы (витамин Е, N-ацетилцистеин), оказались значительно менее эффективными в блокировании кардиотоксического действия доксорубина [24—28]. Предпринимаются усилия для синтеза менее кардиотоксичных антибиотиков семейства антрациклиновых.

Важно отметить, что и другие противоопухолевые препараты, не относящиеся к антрациклиновым антибиотикам, также способны вызывать повреждение миокарда, но значительно реже. К ним относятся: циклофосфамид, бусульфан, митомицин С, цисплатин, 5-фторурацил, винкристин, VP-16 и m-AMSA [29, 31]. Циклофосфамид кардиотоксичен только в больших дозах [29, 30]. Именно такие дозы вводят больным при подготовке к трансплантации костного мозга; описаны случаи, когда циклофосфамид вызывал острую кардиомиопатию, характеризующуюся геморрагическим некрозом миокарда и вышотом в перикард (рис. 31.3 и 31.4). Бусульфан вызывает фиброз эндокарда, митомицин С — фиброз миокарда. При введении винкристина, 5-фторурацила и VP-16 развивается инфаркт миокарда. Сообщалось, что после лечения

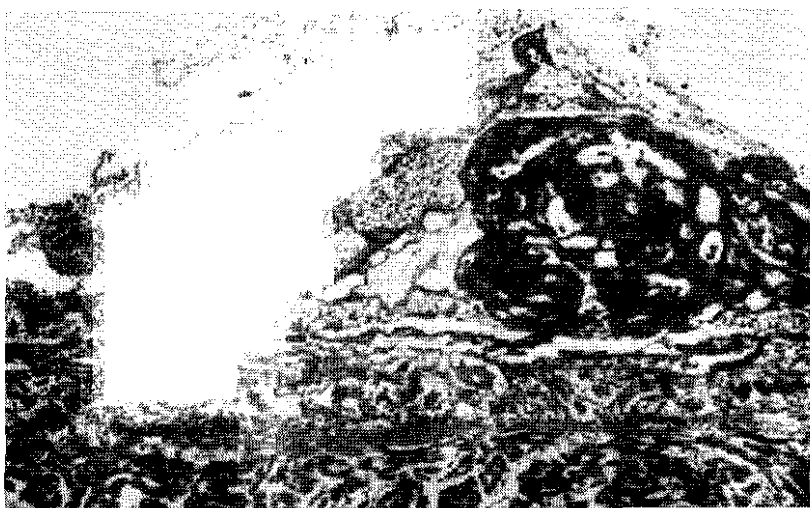


Рис. 31.3. Фибринозный перикардит и кровосилияние в эпикарде сердца больного с острой кардиомиопатией, вызванной приемом большого количества циклофосфамида в ходе подготовки к трансплантации костного мозга. Гематоксилин и эозин. $\times 40$.

дисплатипом наблюдаются изменения ЭКГ, а в результате приема m-AMSA развиваются тяжелые нарушения ритма (подозревают, что растворитель, используемый для приготовления m-AMSA, является токсичным соединением) [31].

Фуразолидоновая кардиомиопатия. Фуразолидон, антибиотик нитрофурановой группы, вызывает застойную кардиомиопатию у уток, цыплят и индюков [32—37]. Если этот препарат вводить молодым птицам этих видов, то в зависимости от дозы развиваются застойная кардиомиопатия и значительная дилатация желудочков без каких-либо морфологических признаков гипертрофии, некроза или фиброза. Исследования ультраструктуры показали, что основным изменением в кардиомиоцитах является диффузный лизис миофибрилл [36]. В саркоплазме поврежденных клеток содержатся рассеянные скопления свободных толстых и тонких миофиламентов, сгустки вещества Z-дисков и пучки цитоскелетных волокон. От кардиомиопатии, вызываемой фуразолидоном, не защищает одновременный прием селена, витамина E или таурина [37]. Однако есть данные, что защитное действие оказывает пропранолол [38]. Биохимические механизмы развития кардиомиопатии этого типа остаются неизвестными. По-видимому, хорошей моделью для изучения биохимических и морфологических процессов, происходящих при лизисе миофибрилл и сердечной недостаточности вследствие приема фуразолидола, могут служить утята с соответствующей формой кардиомиопатии.

Токсические кардиомиопатии, вызванные другими веществами. Кроме упомянутых выше веществ, вызывающих хорошо изучен-



Рис. 31.4. То же сердце, что и на рис. 31.3, видны микротромбы (показаны стрелкой) в капиллярах миокарда левого желудочка. Окраска периодическим кислым Шиффа. $\times 400$.

ный синдром застойной кардиомиопатии, существуют и другие соединения, приводящие к угнетению сократимости миокарда, которое может сопровождаться (а может, и не сопровождаться) бради- или тахикардией и морфологическими изменениями, характерными для токсического миокардита (см. ниже). Среди них особенно важны: трициклические антидепрессанты, фенотиазины, карбонат лития, эметин, хлорохин, хинидин, антагонисты кальция и контрастные вещества для рентгенологических исследований [15, 39—41].

Из трициклических антидепрессантов наиболее выраженное действие на сердечно-сосудистую систему оказывает амитриптилин. Кардиотоксическое действие этих соединений обычно проявляется лишь на фоне ишемической болезни сердца или при передозировке препарата и состоит в развитии нарушений ритма и прямом угнетении сократимости миокарда. Фенотиазины склонны вызывать гипотензию вследствие их способности к блокированию α -адренорецепторов и ингибированию центральных прессорных рефлексов; кроме того, у больных, принимающих фенотиазины, наблюдается тенденция к удлинению интервала QT , что способствует развитию аритмий. Полагают, что изменения в миокарде, вызванные трициклическими антидепрессантами и фенотиазинами, сохраняются и после отмены этих лекарств; однако никаких строго контролируемых исследований в этом направлении не проводилось. Эметин, являющийся алкалоидом, используемым при лечении амебиаза и шистосомоза, часто вызывает изменения на ЭКГ, которые могут сохраняться в течение несколь-

ких месяцев после завершения курса лечения. Очень редко эмтин нарушает работу сердца и вызывает смерть в результате сердечной недостаточности или нарушений ритма [39—41].

Изменения на ЭКГ часто наблюдаются у больных, получающих карбонат лития. Обычно происходят изменения формы *T*-волны, а при токсичных концентрациях лития в плазме крови возможны развитие тахикардий, нарушение предсердно-желудочковой проводимости и блок левой ножки предсердно-желудочкового пучка (Гиса). У большинства больных эти явления обратимы, но у некоторых больных, получающих карбонат лития, развивается застойная кардиомиопатия, причем улучшение не наступает и после отмены лекарства [39—41].

При приеме хлорохина иногда возникают изменения на ЭКГ, обычно отражающие блокаду ножки предсердно-желудочкового пучка; может также наблюдаться ухудшение работы сердца.

Контрастные вещества для рентгенологических исследований довольно часто вызывают изменения на ЭКГ и нарушение работы сердца, особенно если их используют для вентрикулографии или коронарографии. Это действие, по-видимому, обусловлено скорее связыванием ионов Ca^{2+} , чем изменением осмолярности. Значительное угнетение функций миокарда может также возникать в результате использования других препаратов, которые влияют на трансмембранное движение ионов Ca^{2+} , например верапамила и хинидина [34—41].

Облитерирующие и рестриктивные кардиомиопатии

Облитерирующие кардиомиопатии характеризуются фиброзным утолщением эндокарда и образованием пристеночных тромбов, что приводит к частичной облитерации полостей желудочков. Наиболее важными формами этой группы заболеваний являются синдром Леффлера и эндомиокардиальный фиброз. К рестриктивным кардиомиопатиям относятся те заболевания, при которых инфильтративные процессы (например, амилоидоз) диффузного накопления фиброзной ткани в стенках желудочков приводят к уменьшению растяжимости миокарда и ухудшению наполнения желудочков.

Синдром Леффлера (фибробластный париетальный эндокардит) является заболеванием неизвестной этиологии, при котором высокое содержание эозинофилов в крови и в миокарде (а часто и в других тканях) сопровождается значительным фиброзным утолщением эндокарда и образованием пристеночных тромбов в полостях желудочков [42]. Эти процессы могут захватывать также клапаны сердца. Эозинофилия может быть кратковременной, поэтому считается, что синдром Леффлера и эндомиокардиальный фиброз (который проявляется клинически намного позднее, чем нормализуется содержание эозинофилов) представляют собой лишь два случая из широкого спектра заболеваний эндо- и миокарда, связанных с эозинофилией. Были получены данные, позволившие предположить, что эозинофилы могут выделять некоторые

продукты, способные вызывать повреждение эндокарда по неизвестному в настоящее время механизму.

Утолщение эндокарда умеренной степени может возникать при токсическом или ишемическом повреждении, которое приводит к некрозу миокарда [16]; однако значительное фиброзное утолщение эндокарда стенок или клапанов может быть также вызвано метизергидом или эрготамином [43—46]. Из клапанов сердца наиболее часто поражаются митральный и аортальный, они утолщаются и изменяют свою форму из-за развития слоя плотной фиброзной ткани. В этой ткани отсутствуют эластические волокна и она напоминает ткань в местах карциноидных поражений сердца [47]. В атриовентрикулярных клапанах фиброз может приводить к утолщению и слиянию сухожильных волокон. Вследствие таких повреждений может развиваться стеноз клапанов или их недостаточность. Утолщение эндокарда стенок желудочков может возникать также на поздних стадиях токсического повреждения миокарда аллиламином и при фиброзе миокарда, вызванном облучением.

НЕКРОЗ МИОКАРДА И МИОКАРДИТ

Некроз миокарда

Несмотря на то что большая часть исследований механизмов некроза сердечных миоцитов была направлена на изучение ишемического повреждения и влияния на него фармакологических средств, многие основные принципы, выясненные в этих исследованиях, применимы и к случаям токсического повреждения миокарда. Различают две основные формы некроза миокардиальных клеток: коагуляционный некроз и некроз с полосами пересокращения (разрушение миофибрилл, приводящее к миоцитолизу) [16].

Коагуляционный некроз. Ишемия продолжительностью менее 20 мин вызывает обратимое повреждение миокарда, характеризующееся истощением запасов гликогена, набуханием митохондрий, умеренным внутриклеточным отеком и расслаблением саркомеров (отражающим утрату сократимости). Необратимое повреждение с характерными признаками коагуляционного некроза развивается при длительности ишемии свыше 20 мин. Процент необратимо поврежденных клеток продолжает увеличиваться вплоть до 60 мин ишемии, т. е. до того момента, когда большинство клеток в зоне ишемии оказываются необратимо поврежденными. Кроме описанных выше изменений, коагуляционный некроз характеризуется: (а) хлопьевидным преципитатом в митохондриях, который, как полагают, образуется из липидов; (б) уплотнением ядерного хроматина с образованием каймы, что рассматривается как признак необратимого повреждения ядра; (в) небольшими отверстиями или дефектами в клеточной мембране, которая в значительной степени теряет свои функции барьера проницаемости; (г) диссоциацией межклеточных контактов различной степени,

приводящей к электрическому разобщению клеток. Эти изменения постепенно усиливаются по мере полного развития коагуляционного некроза, при котором в кардиомиоцитах выявляются ослабленные миофибриллы с нечеткими контурами актиновых и миозиновых миофиламентов. Коагуляционный некроз развивается только в центральной зоне инфаркта, в которой после развития ишемического повреждения не происходит восстановления кровотока.

Некроз с полосами пересокращения. В отличие от коагуляционного некроза на периферии зоны инфаркта выявляется некроз другого типа, известный как некроз с полосами пересокращения, который характеризуется: (а) гиперсокращением миофибрилл; (б) электронно-плотными отложениями солей кальция в митохондриях; (в) развитием миоцитолита. Отличительные признаки некроза этого типа связаны с поступлением больших количеств ионов Ca^{2+} из периферических участков зоны ишемии, частично сохранившейся перфузией в клетки, поврежденные вследствие ишемии. Гиперсокращение обусловлено поступлением Ca^{2+} через поврежденную клеточную мембрану с аномально высокой проницаемостью; такой массивный вход Ca^{2+} в поврежденные клетки возникает при реперфузии временно ишемизированной ткани артериальной кровью или когда некроз развивается не из-за снижения коронарного кровотока, а вследствие других факторов. Поэтому некроз с полосами пересокращения наблюдается при многих формах токсического повреждения миокарда, включая повреждения, вызванные катехоламинами и сосудорасширяющими антигипертензивными препаратами [16]. Переход некроза миокарда с полосами пересокращения в миоцитолит обусловлен лизисом миофибрилл, при котором клетки выглядят на микрофотографиях пустыми. Развитие этого перехода к миоцитолиту во времени крайне вариабельно. Интересно, что лизис сократительных миофибрилл в поврежденных кардиомиоцитах можно задержать с помощью введения кортикостероидов, на фоне которых клетки выглядят «мумифицированными» [48].

Морфология необратимо поврежденных ишемизированных кардиомиоцитов может варьировать в зависимости от того, происходит ли гибель клеток на фоне реперфузии ишемической ткани или без нее. Однако следует отметить, что кровоток через зону ишемии не удается восстановить, если ткань находилась в ишемических условиях в течение длительного времени (более 90 мин). В этих условиях сеть микроциркуляции зоны ишемии может быть также необратимо повреждена, что и приводит к появлению феномена невозможности реперфузии [16].

Воспаление

По своей сути воспаление является защитной реакцией, с помощью которой происходит восстановление нормального состояния поврежденной ткани или осуществляется заживление разрушенного участка. Однако воспаление может быть также причи-

ной дополнительного повреждения, поэтому контроль за воспалительной реакцией миокарда является важным аспектом медикаментозного лечения.

Острое воспаление. Острое воспаление проявляется дилатацией сосудов, отеком ткани и инфильтрацией лейкоцитов. Это результат действия факторов, повышающих проницаемость сосудов (кинины, вазоактивные амины, лейकोкины, анафилактические токсины и простагландины), а также факторов, способствующих лейкотаксису (причем их способность привлекать к участкам некроза или повреждения клетки различных типов может сильно варьировать). Диагноз острого миокардита (обусловленного инфекцией, реакцией на лекарства или другими причинами) зависит от выявления клеток, типичных для острого воспаления, способных нейтрализовать патогенные химические и инфекционные агенты, а также разрушать остатки поврежденных клеток и внеклеточных компонентов соединительной ткани [16].

Наиболее характерный признак острого воспаления миокарда — появление нейтрофильных лейкоцитов с полиморфными ядрами, выполняющих функцию фагоцитоза. Первоначально они скапливаются в капиллярах, прикрепляясь к их внутренней поверхности, а затем проходят в межклеточное пространство через щели в контактах, соединяющих эндотелиальные клетки. Моноядерные клетки, т. е. моноциты и лимфоциты, проникают в ткань на более поздних стадиях острого воспаления. После выхода из крови моноциты постепенно превращаются в макрофаги, таким образом тоже принимая участие в процессе фагоцитоза. Лимфоциты определяют развитие иммунных реакций, включая специфические гуморальные (В-лимфоциты) и опосредованные клетками (Т-лимфоциты) реакции.

Тучные клетки, присутствующие в миокарде в больших количествах, также принимают участие в острых воспалительных реакциях и реакциях гиперчувствительности, выполняя роль клеток-посредников, способных высвобождать гистамин одновременно с другими компонентами гранул тучных клеток либо при прямом контакте клетки с химическим соединением, вызвавшим воспаление, либо путем взаимодействия антигенов с IgE, связанными с поверхностью тучных клеток. Многими свойствами тучных клеток тканей обладают также базофильные лейкоциты крови.

Эозинофильные лейкоциты, также обладающие способностью к фагоцитозу, могут принимать участие как в остром, так и в хроническом воспалении; хорошо известно, что увеличение их числа связано с аллергическими и паразитарными заболеваниями, однако их особая роль в таких процессах еще не до конца выяснена. Их активность — важный компонент воспалительной реакции при аллергическом миокардите, но они могут играть важную роль и при других, невоспалительных, поражениях сердца, таких, как синдром Леффлера с эозинофилией и эндокардиальный фиброз.

Подострое воспаление. Подострое воспаление представляет со-

бой задержанную фазу острого воспаления и характеризуется накоплением в ткани моноцитов и лимфоцитов, а также образованием грануляционной ткани. Последняя состоит из быстро пролиферирующих фибробластов, перититов и эндотелиальных клеток капилляров, находящихся в матриксе быстро развивающейся соединительной ткани. Синтез белков соединительной ткани этими клетками приводит к возникновению фиброзной ткани, что и способствует заживлению.

Хроническое воспаление. Хроническое воспаление характеризуется постоянным присутствием в ткани лимфоцитов и моноцитов (или происходящих из моноцитов макрофагов и эпителиоидных клеток). Это обычно результат постоянного присутствия в ткани веществ, вызывающих иммунную реакцию, что приводит к непрерывному разрушению ткани либо вследствие иммунологического повреждения, либо вследствие отложения избытка коллагена. Хроническое воспаление может быть гранулематозного типа, когда воспалительные клетки связываются с многоядерными гигантскими клетками (имеющими гистиоцитарное или миогенное происхождение) и образуют узелковые массы.

Повреждение сердечных миоцитов токсическими веществами

Очевидно, что в повреждении кардиомиоцитов токсичными препаратами и химическими веществами принимают участие многие высокоспецифичные биохимические и фармакологические механизмы. Очень трудно установить структурно-функциональные связи при таких повреждениях; даже высокоспецифические локальные нарушения тонкого равновесия функционирования клеток могут быстро привести к развитию картины генерализованного поражения клеток или их некроза. Токсичные вещества, вызывающие специфическое повреждение различных субклеточных органелл кардиомиоцитов, могут действовать следующим образом: (а) влияние на ферменты митохондрий (цианиды [49], тиреоидные гормоны [4]), нарушение процесса окислительного фосфорилирования (динитрофенол [50]) или связывание с ДНК митохондрий (акрифлавин [51]) и изменения строения митохондрий; (б) отложение солей кальция внутри клетки, обычно в митохондриях (дегидроахистерол [52], фосфат натрия [53]); преимущественное повреждение миофибрилл (симпатомиметические амины) [54—57], плазмоцид [58], диуретики, условия, приводящие к дефициту калия [59]); (г) накопление в клетках электроноплотных структур (хлорохин [60]); (д) значительное расширение цистерн и канальцев саркоплазматического ретикулума (антрациклин [17—20]) (рис. 31.5—31.7).

Несмотря на то что эти изменения редко являются специфическими, они позволяют определить важные аспекты способа действия данного вещества. Множество форм изменений сократительного аппарата, ядра или мембранных систем (клеточной мембраны, Т-тубул и саркоплазматического ретикулума) сопровож-



Рис. 31.5. Некроз с участками сокращения в папиллярной мышце левого желудочка сердца собаки, получившей избыточную дозу миноксидила. Заливка в пластик. Окраска щелочным толуидиновым синим. $\times 250$.

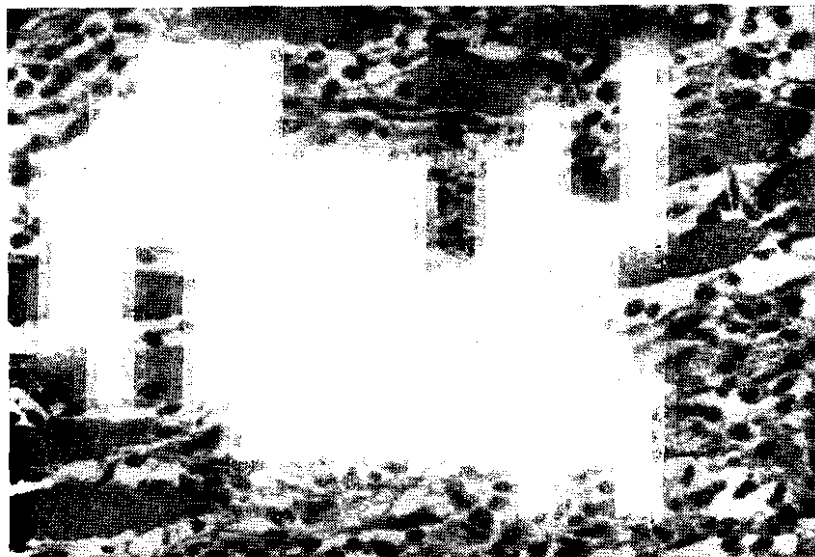


Рис. 31.6. Участок миокарда левого желудочка сердца крысы с некрозом, вызванным приемом гидралазина. Некротизированные мышцы атакуются большим количеством макрофагов. Гематоксилин и эозин, $\times 400$.

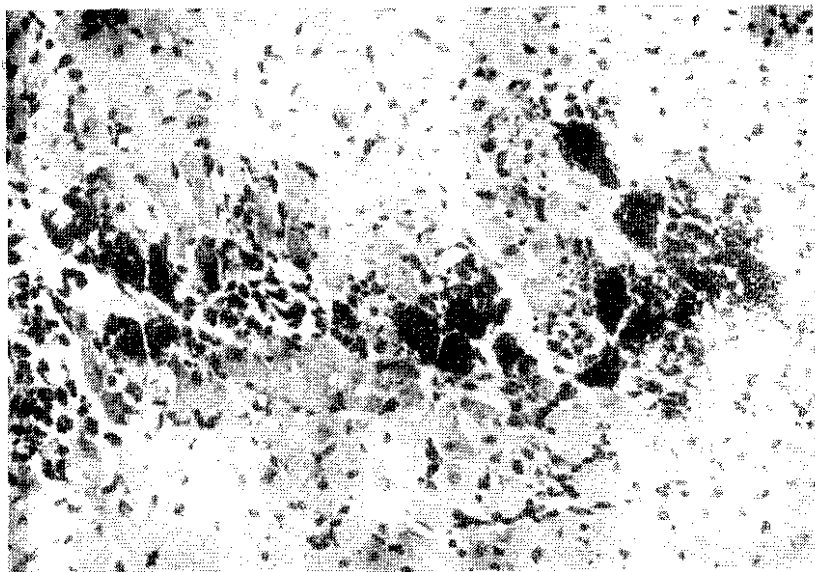


Рис. 31.7. В сердце крысы, получившей большую дозу дегидротахистерола, некротизированные миоциты с выраженным отложением солей кальция окружены умеренным количеством воспалительного инфильтрата. Окраска по Ван-Коссу. $\times 250$.

даются изменениями общего содержания Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ и K^+ , а также нарушениями внутриклеточной компартментализации этих ионов [61]. Более того, эти изменения ионного состава, а также внутриклеточного pH могут сопровождаться активацией и высвобождением лизосомных гидролитических ферментов, включая катепсин D и другие протеазы и фосфолипазы [62, 63]. Такие взаимосвязанные изменения одновременно с нарушением специфической проницаемости клеточной мембраны служат детерминирующими факторами необратимого клеточного повреждения, т. е. некроза клеток [16].

На основе изучения патогенеза и морфологии возникающих в результате повреждений могут быть введены следующие их категории: (а) инфаркт миокарда и инфарктоподобные повреждения; (б) миокардит как следствие гиперчувствительности миокарда; (в) токсический миокардит.

Инфаркт миокарда, связанный с реакцией на токсические вещества

Явный инфаркт миокарда может развиваться при поражении коронарных артерий с возникновением артериита под действием препаратов (таких, как амфетамин), в результате фибропластической пролиферации во внутренней оболочке (противозачаточные пероральные средства), эмболизации при инфекционном эндокардите (злоупотребление внутривенным введением лекарств)

или же у больных с непораженными коронарными артериями после достижения токсичных уровней в крови окиси углерода, нитратов, тиреоидных препаратов, метизергида или производных эрготамина, а также противопухолевых препаратов [40]. Обширные инфарктоподобные зоны некроза, не связанного с закупоркой крупных поверхностных коронарных артерий, могут быть вызваны у экспериментальных животных путем введения изопротеренола в больших, токсичных дозах [54, 57]. Ранее считалось, что такая форма некроза является следствием вызванного изопротеренолом увеличения частоты сердечного ритма, сократимости и скорости окислительного метаболизма свыше той степени, которая допустима при имеющихся ограничениях в системе доставки кислорода. Однако позднее стало ясно, что изопротеренол вызывает также ряд других очень сложных эффектов, включая увеличение поглощения кальция, стимуляцию аденилатциклазы, агрегацию тромбоцитов и образование свободных радикалов, способных разрушать пероксидазы [15, 64]. Другие симпатомиметические амины (норадреналин, адреналин) также могут приводить к некрозу миокарда в виде множества небольших зон, чаще всего выявляемых в субэпикарде левого желудочка [54—57].

Практическую значимость имеют и другие эффекты катехоламинов. Повреждение миокарда экспериментальных животных, вызванное катехоламинами, имеет несколько аналогов у человека — при феохромоцитоме, столбняке, субарахноидальном кровоизлиянии и других повреждениях ЦНС [15]. В этих условиях высвобождение больших количеств катехоламинов может вызывать локальные повреждения миокарда. Ишемия миокарда может усиливаться при высоком уровне катехоламинов в крови у больных инфарктом миокарда [15]. Использование некоторых видов пищевых продуктов, содержащих тирамин, может вызвать гипертонический криз у больных, получающих курс лечения ингибиторами моноаминоксидазы [63]. Лечение β -блокаторами или воздействием хлороформа и других содержащих галоген углеводородов (включая ряд соединений, содержащих фтор и галогенсодержащих анестезирующих веществ и хладоагентов) может повысить чувствительность миокарда к симпатомиметическим аминам [39].

Гиперчувствительность миокарда

Миокардит, связанный с гиперчувствительностью миокарда к лекарственной терапии, характеризуется проникновением в миокард большого количества эозинофилов вместе с моноядерными клетками, преимущественно лимфоцитами и плазматическими клетками [40, 41]. Клеточная инфильтрация может быть локальной или диффузной и сопровождается возникновением фокусов миоцитоллиза. При этом не наблюдается фиброзных изменений, и все зоны повреждения имеют одинаковое время развития и внешний вид. Не возникает истинного гранулематозного перерождения, хотя и удается обнаружить гигантские клетки миогенного происхождения. Часто в процесс вовлекаются сосуды, что прояв-

ляется в слабовыраженном васкулите, поражающем мелкие артерии, артериолы и венулы. Воспалительная реакция может захватывать также перикард, но щадит клапана сердца. Отсутствие обширного некроза или фиброза миокарда отличает миокардиты, вызванные гиперчувствительностью миокарда к лекарствам, от других форм миокардита с выраженной эозинофильной инфильтрацией. Фиброз эндокарда не является характерным признаком миокардита, вызванного гиперчувствительностью. Эта форма миокардита представляет собой наиболее частый вид заболевания сердца, вызванного лекарствами. Клиническими критериями для диагностики этого заболевания являются: (а) предшествующее использование лекарства без нежелательных последствий; (б) отсутствие связи с величиной дозы препарата; (в) развитие классических аллергических симптомов, симптомов сывороточной болезни или синдрома, свидетельствующего об инфекционном заболевании; (г) подтверждение иммунологическими методами; (д) сохранение симптомов до отмены лекарства. Следующие лекарства вызывают миокардит, обусловленный гиперчувствительностью: метилдофа, гидрохлортиазид (дихлотиазид), сульфадиазин, сульфизоксазол, сульфонилуреза, хлорамфеникол (левомицетин), парааминосалициловая кислота (РАСК), амитриптилин, карбамазепин, индометацин, пенициллин, фениндион (фенилин), фенилбутазон (бутадиион), оксифенбутазон, тетрациклин, дифенилгидантоин, ацетазоламид (диакарб), ампициллин, хлорталидон (оксодолин), спиронолактон и стрептомицин. Многие из этих препаратов способны также вызывать васкулиты, связанные с гиперчувствительностью сосудов. Патогенез миокардита, вызванного гиперчувствительностью, остается неясным, но, по-видимому, он связан с иммунными реакциями по типу задержанной реакции гиперчувствительности, при которой лекарство или один из его метаболитов связывается с некоторой эндогенной макромолекулой, и именно такая комбинация приобретает антигенную активность. Миокардит, вызванный гиперчувствительностью миокарда, может также развиваться после внутривенного введения лошадиной сыворотки, столбнячного анатоксина и осповакцины.

Токсический миокардит

Лекарственные препараты способны вызывать повреждение миокарда, не только приводя к развитию аллергического миокардита (вследствие гиперчувствительности), но и оказывая прямое токсическое действие, которое заканчивается разрушением и гибелью клеток. Этот тип токсического действия лекарств зависит от их дозы; в зависимости от скорости развития различают острый токсический миокардит или картину хронической лекарственно-индуцированной кардиомиопатии. В случае острого токсического миокардита наблюдаются интерстициальный отек, множественные участки некроза кардиомиоцитов с полосоми пересокращения, а также клеточная инфильтрация из лимфоцитов, плазматических клеток и полиморфно-ядерных лейкоцитов. Зоны некроза могут

выходиться на разных стадиях развития. В инфильтрате иногда встречаются эозинофилы, но их редко удается обнаружить в большом количестве. Наблюдается повреждение эндотелиальных клеток без развития истинного васкулита. В случае токсического действия АДФ циклофосфамида (см. рис. 31.4), катехоламинов и тромбксана А в сосудах образуются микротромбы. Малое число эозинофилов и выявление участков с различными стадиями клеточного некроза и фиброзного заживления позволяют отличить токсический миокардит от миокардита, развивающегося вследствие гиперчувствительности миокарда к препаратам. К лекарственным препаратам и химическим соединениям, способным вызывать токсический миокардит, относятся: даунорубицин (рубомицина гидрохлорид), доксорубицин (адриамицин), 5-фторурацил, эметин, соединения сурьмы, амфетамины, циклофосфамид, катехоламины, «карбонат лития, фенотиазины, плазмоцид, парават и митомидин С [40, 41]. Следует помнить, что клеточная воспалительная реакция может быть слабо выражена или вообще отсутствует при токсическом миокардите, вызванном противоопухолевыми или иммунодепрессивными агентами.

К другим веществам, способным вызывать локальный некроз и фиброз миокарда, относятся: монензин — полиэфирный антибиотик, действующий как Na-селективный карбоксильный ионофор [66]; масло семян капусты, наиболее важный ингредиентом которого является эруковая кислота [67]; препараты мышьяка, вызывающие также поражение периферических сосудов («черная нога») [40, 41] и аллиламин, высокотоксичный алифатический амин, используемый в промышленности [68]. Кортикостероиды провоцируют дегенеративное повреждение миокарда у животных и в меньшей степени у человека [40, 69]. Кобальт, медь, теллур, вадмий и цинк в токсических дозах могут приводить к системным поражениям, часто захватывающим миокард и скелетные мышцы и напоминающим расстройство, связанные с нехваткой селена и витамина Е, которые можно по крайней мере частично предотвратить добавлением в пищу селена и витамина Е [70, 71]. Наконец, вобщее не полностью изученное действие на сердечно-сосудистую систему могут оказывать пероральные гипогликемические препараты [15].

Особый тип хронического миокардита, характеризующегося ярко выраженным и легко обнаруживаемым покраснением ткани, кровоизлияниями и фиброзом (рис. 31.8), был выявлен в предсердиях собак и свиней, получавших миноксидил, сосудорасширяющий антигипертензивный препарат, вызывающий также множественные очаги некроза в папиллярных мышцах левого желудочка [72, 73]. По неясным пока причинам у собак поражается преимущественно правое предсердие, а у свиней — левое. Полагают, что некроз папиллярных мышц (см. рис. 31.5) является следствием тахикардии, гипотензии и гипоперфузии при использовании больших доз миноксидила. Патогенез поражения предсердий неясен. Интересно, что похожие повреждения правого предсердия возникают у собак при введении больших доз теобромина [74]

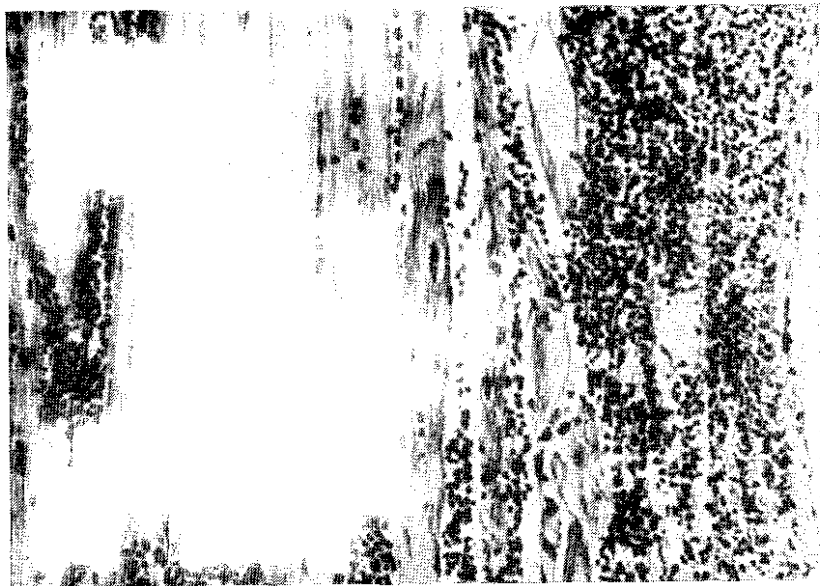


Рис. 31.8. Обширное субэпикардальное кровоизлияние в миокарде левого желудочка сердца собаки, получившей токсическую дозу миноксидила. Гематоксилин и эозин. $\times 400$.

ПЕРИКАРДИТ

Перикардит с выпотом в перикард или без него наблюдался у больных лекарственно-индуцированной красной системной волчанкой. У большинства таких больных перикардит является лишь одним из множества проявлений синдрома красной волчанки. Считается, что этот синдром может вызываться относительно большим числом различных лекарственных препаратов. К ним относятся: гидралазин (апрессин), прокаинамид (новокаинамид), изо니아зид, ПАСК, дифенилгидантоин, метилфенилэтилгидантоин, мефенитоин, примидон (гексамидин), триметадон (триметин), этосуксимид, метсуксимид, триметадон, пенициллин, пеницилламин, сульфаниламиды, тетрациклин, пропилтиоурацил, метилдофа, барбитураты, гризеофульвил, стрептомицин, хинидин, фенилбутазон (бутадон), хлорпромазин (аминазин), метотримепразин, перфаназин (этаперазин), промазин (проназин) и резерпин. Следует отметить, что в большинстве сообщений о развитии синдрома красной волчанки связь между приемом препарата и развитием синдрома была в высшей степени неопределенной, и в некоторых случаях использование лекарства не было подтверждено. Наиболее точно развитие синдрома установлено для гидралазина и прокаинамида [40].

Лекарственные препараты, вызывающие токсический миокардит, миокардит вследствие гиперчувствительности или обширные участки некроза миокарда, часто вызывают и перикардит в ро-

росте распространения воспаления на перикард, особенно на серозальный листок. Кровоизлияние в перикард (см. рис. 31.3) может быть следствием токсического действия циклофосфамида [30], а также терапии антикоагулянтами. С последней проблемой часто сталкиваются у больных с уреемией, которым при проведении курса гемодиализа вводили гепарин [40].

ПОВРЕЖДЕНИЯ СОСУДОВ

Лекарственные препараты и химические соединения, используемые для терапии атеросклеротических поражений, способны в качестве побочного действия вызывать ряд морфологических изменений стенки сосудов, что необходимо учитывать в клинической практике. Такие изменения являются следствием либо влияния на состав липидов и липопротеидов крови, либо прямого действия на стенки сосудов. Другие токсичные соединения могут оказывать действие на кровеносные сосуды, вызывая изменения соединительной ткани, что приводит к образованию неатероматозных аневризм в аорте и других крупных артериях. Такие эффекты обычно опосредованы ингибированием специфических ферментов синтеза белков соединительной ткани, что наблюдается при использовании пенициллина и β -аминопропионитрила [75].

Васкулиты вследствие гиперчувствительности. Анатомические признаки воспаления сосудов вследствие гиперчувствительности можно суммировать следующим образом: (а) поражение захватывает только мелкие сосуды, преимущественно артериолы, капилляры и венулы; (б) не наблюдается поражения артерий мышечного и эластического типа, а также вен; (в) никогда не возникают тромбы; (г) все повреждения имеют приблизительно одинаковую стадию развития; (д) фибриноидный некроз не развивается; основными компонентами воспалительной реакции являются моноциты и одноядерные клетки, выявляемые во всех трех слоях пораженного сосуда и в окружающей интерстициальной соединительной ткани [40, 76, 77]. К лекарственным препаратам, наиболее вызывающим такое воспаление сосудов, относятся: аллопуринол, ампициллин, бромиды, карбамазепин, хлорамфеникол (левофлоксацин), хлортетрациклин, хлорпропамид, хлорталидон (оксофенбутин), кромолин-натрий, колхицин, декстран, диазепам (сибарин), дифенилгидантоин, дифенилгидрамин, гризеофульвин, индометацин (индометацин), изониазид, левамизол, метилтиоурацил, оксифлуризон, фенилбутазон (бутадион), йодид калия, прокаинамид (эубукцингамид), пропилтиоурацил, хипидин, спиринолактон, сульфаниламиды, тетрациклин и триметадон (триметил) [40, 76, 77].

В отличие от вызываемых лекарствами васкулитов повреждение сосудов при узелковом периартериите — заболевании неизвестной природы, относящемся к группе коллагенозов, могут быть характеризованы следующим образом: (а) поражаются артерии среднего типа; (б) наблюдается фибриноидный некроз стенки сосудов; (в) просвет сосудов часто перекрывается тромбом или фибриллярной тканью и (г) средняя оболочка сосудов часто

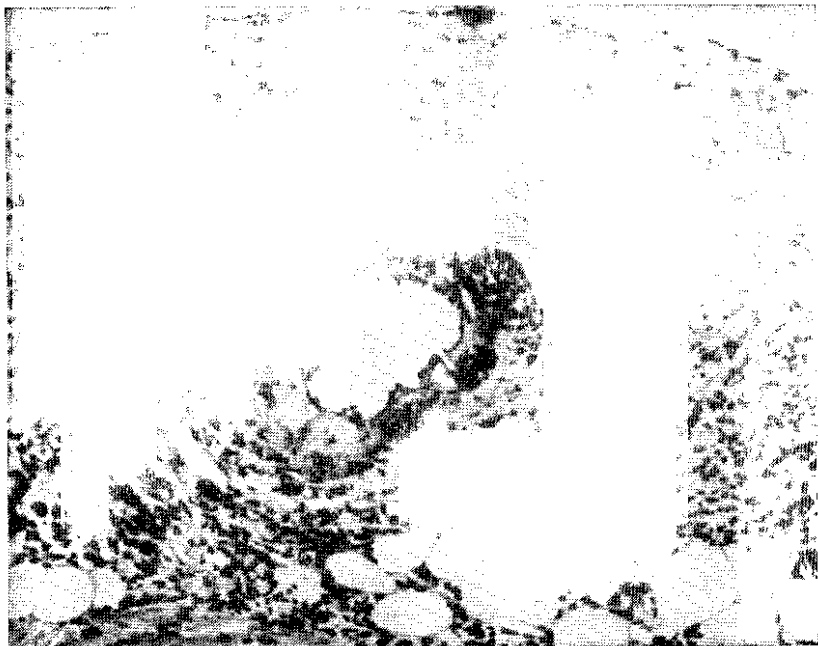


Рис. 31.9. Область фибриноидного некроза и интрамурального кровоизлияния, окруженная зоной воспаления, в небольшой артерии эпикарда правого предсердия собаки, получившей токсическую дозу миноксидила. Гематоксен лин и эозин. $\times 80$.

ослаблена, в результате возникают аневризмы. Повреждения сосудов при других сосудистых коллагенозах не имеют специфических признаков и иногда могут напоминать повреждения при узелковом периартериите. Исключением является гранулематоз Вегенера, при котором поражаются мелкие артерии, артериолы и вены (часто вовлекаются и сосуды малого круга кровообращения) с образованием гранул, содержащих клетки, характерные как для острого, так и для хронического воспаления, в том числе многоядерные гигантские клетки. Тем не менее гранулематозные повреждения не являются диагностическим признаком гранулематоза Вегенера, так же как фибриноидный некроз — сосудистых коллагенозов, так как такие повреждения развиваются и при других заболеваниях.

Токсический васкулит. Токсический васкулит обычно заканчивается некрозом, а его характерные морфологические признаки аналогичны признакам узелкового периартериита. Наиболее часто поражаются малые и средние артерии, однако в процесс могут вовлекаться и более мелкие сосуды. Повреждения располагаются сегментарно, характерна инфильтрация полиморфно-ядерными лейкоцитами. На различных стадиях развития в зоне поражения выявляются фибриноидный некроз, тромбы и аневризмы.



Рис. 31.10. Фиброзно-клеточная пролиферация во внутренней оболочке, являющаяся скорее всего, следствием приема противозачаточных препаратов, привела к значительному сужению просвета небольшой почечной артерии. Окраска пентахромным красителем Мовата. $\times 8$.

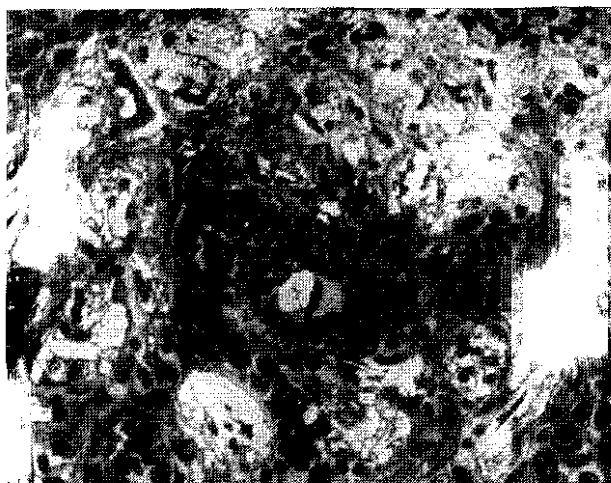


Рис. 31.11. Микрофотография в частично поляризованном свете участка ткани легкого больного, в анамнезе которого отмечено злоупотребление внутривенным введением лекарств. Видны многочисленные отложения тальна вокруг небольшого кровеносного сосуда малого круга кровообращения. Гематоксилин и эозин. $\times 100$.

Такие повреждения наиболее часто возникают при использовании пенициллина и сульфаниламидов, реже — при использовании органических соединений мышьяка, солей золота, миноксидила (рис. 31.9), соединений ртути и висмута, амфетамина (фемамина), метамфетамина, ДДТ, гетерологичной сыворотки. Патогенез токсического васкулита, вызванного лекарственными препаратами, пока до конца не изучен [40, 41].

Повреждения сосудов, связанные с использованием пероральных контрацептивов. У женщин, принимающих противозачаточные средства в виде таблеток (рис. 31.10), у беременных женщин и сразу после родов, а также у некоторых мужчин с тяжелыми заболеваниями печени (считается, что в последнем случае происходит неадекватная инактивация определенных типов стероидов) обнаружены пролиферативные изменения сосудов, не связанные с атеросклерозом. Такие поражения могут сопровождаться тромбозом и выявляются в большом и малом круге кровообращения, а также в системе воротной вены. Поражения представляют собой фиброзно-мышечные утолщения внутренней оболочки сосуда и содержат гладкомышечные клетки, коллаген и протеогликаны; клетки, характерные для воспаления, и некроз стенки обычно не выявляются. Патогенетический механизм развития таких повреждений остается неясным [76].

Другие повреждения сосудов, вызванные лекарственными препаратами. Другие лекарственно-индуцированные повреждения артерий могут быть вызваны: (а) эрготамином (пролиферация клеток внутренней оболочки, гипертрофия средней оболочки и гиалинизация стенки, осложненные тромбозом и гангреной и неосложненные); (б) малактом метизергида (пролиферация клеток внутренней оболочки, часто приводящая к окклюзии просвета сосуда) — упоминавшееся выше соединение, способное усиливать симптомы ишемической болезни сердца и вызывать фиброз эндокарда, средостения и задней части брюшины; (в) витамином D (кальцификация эластического слоя стенки артерий [40, 41]). Кроме того, рассеянное поражение сосудов, аналогичное наблюдаемому при узелковом периартериите, обнаружено у больных, которым внутривенно вводили амфетамин; гранулематозное повреждение легочных артериол (рис. 31.11) наблюдается у больных, которые вводили себе в вену суспензию размоловых лекарственных таблеток, содержащих тальк или другие силикаты [77], а инфекционный васкулит, связанный с действием лекарственных препаратов, может развиваться у больных при внутривенном введении любых лекарств. В последнем случае инфекция может вызывать как локальный флебит, так и инфекционный артериит или эндокардит. Внутривенное введение лекарств может также осложняться тромбофлебитом, не связанным с инфекцией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ferrans V. J. Morphology of the heart in hypertrophy. — Hosp. Pract., 1983, vol. 18, p. 67—78.

2. Oberpliller J. O., Ferrans V. J., Carroll R. J. Changes in DNA content, number of nuclei and cellular dimensions of young rat atrial myocytes in response to left coronary ligation. — *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1983, vol. 15, p. 31—42.
3. Powis L. Growth hormone in cardiac hypertrophy induced by nephrogenous hypertension. — *Recent. Adv. Stud. Cardiac. Struct. Metab.*, 1975, vol. 8, p. 413—425.
4. Gerdes A. M., Kriseman J., Bishop S. P. Changes in myocardial cell size and number during development and reversal of hyperthyroidism in neonatal rats. — *Lab. Invest.*, 1983, vol. 48, p. 598—602.
5. Symons C., Olsen E. G. J., Hawkey C. M. The production of cardiac hypertrophy by triiodothyroacetic acid. — *J. Endocrinol.*, 1975, vol. 65, p. 341—346.
6. Hawkey C. M., Olsen E. G. J., Symons C. Production of cardiac muscle abnormalities in offspring of rats receiving triiodothyroacetic acid (triac) and the effect of beta adrenergic blockade. — *Cardiovasc. Res.*, 1984, vol. 15, p. 196—205.
7. Laks M. M., Morady F. Norepinephrine—the myocardial hypertrophy hormone?—*Amer. Heart J.*, 1976, vol. 91, p. 674—675.
8. Bartolome J. V., Trepanier P. A., Chait E. A., Slotkin T. A. Role of polyamines in isoproterenol-induced cardiac hypertrophy: effects of alfa-difluoromethylornithine, and irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase. — *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1982, vol. 14, p. 464—466.
9. Roberts W. C., Ferrans V. J. Pathologic anatomy of the cardiomyopathies (idiopathic dilated and hypertrophic types, infiltrative types and endomyocardial disease with and without eosinophilia). — *Hum. Pathol.*, 1975, vol. 6, p. 287—342.
10. Perloff J. K. Pathogenesis of hypertrophic cardiomyopathy: hypothesis and speculations. — *Amer. Heart J.*, 1981, vol. 101, p. 219—226.
11. Liu S. K. Cardiac disease in the dog and cat. — In: *Pig model for biomedical research*/Ed. H. R. Roberts, W. J. Dodds. Taipei, Pig. Research. Institute, 1982, p. 110—133.
12. Hsu F. S., Du S.-J. Cardiac disease in swine. — In: *Pig model for biomedical research*/Ed. H. R. Roberts, W. J. Dodds. Taipei: Pig. Research. Institute, 1982, p. 134—142.
13. Ferrans V. J., Buja L. M., Roberts W. C. Cardiac morphologic changes produced by ethanol. — In: *Alcohol and abnormal protein Biosynthesis*/Ed. M. A. Rothschild, M. Oratz, S. Schreiber. New York: Pergamon, 1974, p. 139—185.
14. Regan T. J., Khan M. I., Ettinger P. O. et al. Myocardial function and lipid metabolism in the chronic alcoholic animal. — *J. Clin. Invest.*, 1974, vol. 54, p. 740—752.
15. Opie L. H. Metabolic and drug-induced injury to the myocardium. — In: *Drug-induced heart disease*/Ed. M. R. Bristow. Amsterdam: Elsevier/North Holland Biomedical, 1980, p. 84—102.
16. Ferrans V. J., Butany J. W. Ultrastructural pathology of the heart. — In: *Diagnostic electron microscopy*/Ed. B. F. Trump, R. T. Jones, vol. 4. New York: John Wiley and Sons, 1983, p. 319—473.
17. Ferrans V. J. Overview of cardiac pathology in relation to anthracycline cardiotoxicity. — *Cancer. Treat. Rep.*, 1978, vol. 62, p. 955—964.
18. Ferrans V. J. Morphologic assessment of cardiac lesions caused by anthracyclines. — In: *Anthracycline antibiotics in cancer therapy*/Ed. F. M. Muggia, C. W. Young, S. K. Carter. The Hague: Martinus Nijhoff, 1982, p. 331—347.
19. Ferrans V. J. Anthracycline cardiotoxicity. — In: *Myocardial Injury*/Ed. J. J. Spitzer. New York: Plenum, 1982, p. 519—532.
20. Bingham M. E., Mason J. W., Bristow M. R., Daniels J. R. Anthracycline cardiomyopathy monitored by morphologic changes. — *Cancer Treat. Rep.*, 1978, vol. 62, p. 865—872.
21. Herman E. H., Ferrans V. J., Jordon W., Ardalán B. Reduction of chronic daunorubicin cardiotoxicity by ICRF-187 in rabbits. — *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 1984, vol. 31, p. 85—97.
22. Herman E. H., Ferrans V. J. Reduction of chronic doxorubicin cardiotoxicity

- catecholamines in the formation of lipid peroxides and genesis of heart disease. — In: Myocardial injury/Ed. J. J. Spitzer. New York: Plenum, 1982, p. 391—401.
65. Blackwell B., Marley E., Price J., Taylor D. Hypertensive interactions between monoamine oxidase inhibitors and foodstuffs. — Brit. Psychiatry, 1967, vol. 113, p. 349—365.
 66. Van Vleet J. F., Amstutz H. E., Weirich W. E. et al. Clinical, clinicopathologic, and pathologic alterations in monensin toxicosis in cattle. — Amer. J. Vet. Res., 1983, vol. 44, p. 1629—1636.
 67. Bhatnagar M. K., Yamashiro S. Ultrastructural alterations of the myocardium of rats fed rapeseed oils. — Res. Vet. Sci., 1979, vol. 26, p. 183—188.
 68. Boor P. J., Ferrans V. J. Ultrastructural alterations in allylamine-induced cardiomyopathy: early lesions. — Lab. Invest., 1982, vol. 47, p. 76—86.
 69. Clark A. F., Tandler B., Vignos P. J. Glucocorticoid-induced alterations in the rabbit heart. — Lab. Invest., 1982, vol. 47, p. 603—610.
 70. Van Vleet J. F., Boon G. D., Ferrans V. J. Induction of lesions of selenium-vitamin E deficiency in weanling swine fed silver, cobalt, tellurium, zinc, cadmium, and vanadium. — Amer. J. Vet. Res., 1981, vol. 42, p. 789—799.
 71. Van Vleet J. F., Boon G. D., Ferrans V. J. Induction of lesions of selenium-vitamin E deficiency in ducklings fed silver, cobalt, cadmium, copper, tellurium or zinc and protection by selenium or vitamin E supplements. — Amer. J. Vet. Res., 1981, vol. 42, p. 1206—1217.
 72. Herman E. H., Balazs T., Ferrans V. J., Young R. S. K. Divergent effects of propranolol and furosemide pretreatment on acute cardiomyopathy induced by minoxidil in beagle dogs. — Toxicology, 1981, vol. 20, p. 155—164.
 73. Herman E. H., Ferrans V. J., Balazs T. Minoxidil and cardiac lesions. — Circulation, 1981, vol. 64, p. 1299—1300.
 74. Gans J. H., Korson R., Cater M. R., Ackerly C. C. Effects of short-term and long-term theobromine administration to male dogs. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1980, vol. 53, p. 481—496.
 75. Pinnell S. R. Disorders of collagen. In: The metabolic basis of inherited disease/Ed. J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Fredrickson. New York: McGraw-Hill, 1978, p. 1366—1394.
 76. Irey N. S., Norris H. J. Intimal lesions associated with female reproductive steroids. — Arch. Pathol., 1973, vol. 96, p. 227—234.
 77. Arnett E. N., Battle W. E., Russo J. V., Roberts W. C. Intravenous injection of talc-containing drugs intended for oral use: a cause of pulmonary granulomatosis and pulmonary hypertension. — Amer. J. Med., 1976, vol. 60, p. 711—718.

Глава 32

ГЛАДКОМЫШЕЧНЫЕ И ДРУГИЕ ПЕРИЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ СОСУДОВ СЕРДЦА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

М. С. ФОРБС (M. S. FORBES)

ВВЕДЕНИЕ

В сердце млекопитающих исключительно богатая сеть кровеносных сосудов. Однако из большого числа работ, посвященных изучению сердца, лишь в немногих основной целью было исследование ультраструктуры клеток средней оболочки или периэндотелиальных клеток кровеносных сосудов миокарда. Термин «гладкомышечные клетки сосудов» используется при попытке описать такие клетки, однако при изучении микрососудов сердца становится ясно, что их стенку образуют значительно менее специализированные клетки. Такие клетки, к которым относятся так называемые примитивные гладкомышечные клетки и перициты, по своему положению в стенке и, возможно, по своим функциям эквивалентны гладкомышечным клеткам крупных кровеносных сосудов миокарда. В этой главе описано строение истинных гладкомышечных клеток (ГМК) сосудов, а кроме того, рассмотрен весь спектр периэндотелиальных клеток сосудистой системы сердца.

ИСТИННЫЕ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫЕ КЛЕТКИ СОСУДОВ

Общая характеристика

Принципы расположения и ориентация гладкомышечных клеток крупных артерий и вен сердца могут существенно варьировать в зависимости от вида животного, а возможно, и от конкретной особи, в которой изучается строение стенок сосудов сердца. Несмотря на то что общепринятая картина строения стенки артерий характеризуется закручиванием мышечных клеток по окружности или по спирали вокруг эндотелиального цилиндра (рис. 32.1, 32.3 и 32.4), довольно часто на срезах стенки сосуда во внешнем слое средней оболочки выявляются пучки ГМК, идущие вдоль оси сосуда, например, в передней нисходящей [1] и правой коронарной [2] артериях сердца собаки или в правой коронарной артерии кролика [2]. Интересно рассмотреть ориентацию ГМК в правой стенке коронарной артерии мартышки-верветки (*Cercopithecus nethiops*); на некоторых срезах могут быть выявлены внутренний



Рис. 32.1. Тонкий поперечный срез коронарного сосуда белчьей обезьяны (*Saimiri csciugeus*). Обзорная микрофотография стенки передней нисходящей коронарной артерии. Средняя оболочка стенки артерии образована приблизительно 4 слоями гладкомышечных клеток. Со стороны просвета сосуда к средней оболочке прилегает внутренняя, состоящая из слоя эндотелиальных клеток (Э) и внутренней эластической мембраны (ВЭМ), а с внешней стороны средняя оболочка окружена соединительной тканью, включающей коллаген и фибробласты (ФБ) и вместе с отдельными нервными окончаниями образующей наружную оболочку. Калибровка 5 мкм.

Рис. 32.2. Вена, сопровождающая артерию, показанную на рис. 32.1. Микрофотография аналогичного препарата при том же увеличении. Видно значительное отличие строения стенки артерий и вен миокарда. Тем не менее в стенке вены можно выделить те же 3 оболочки, что и в стенке артерии, но, по-видимому, основную часть стенки занимает наружная оболочка. Обозначения и калибровка — те же, что и на рис. 32.1.

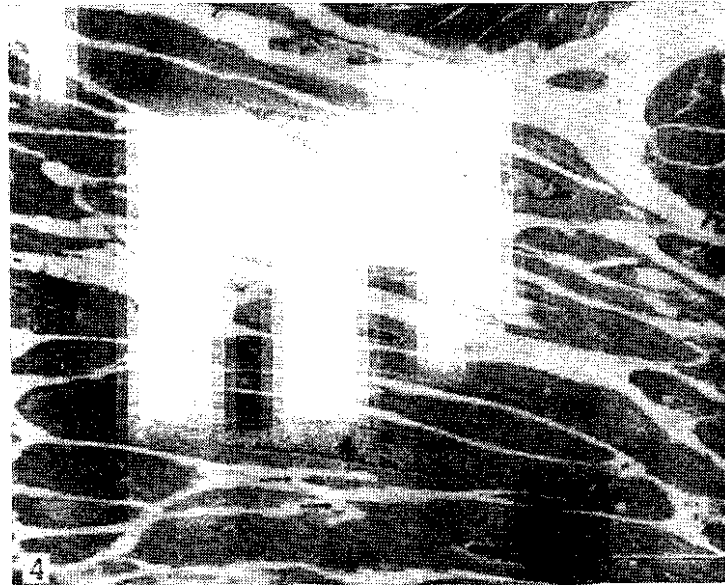
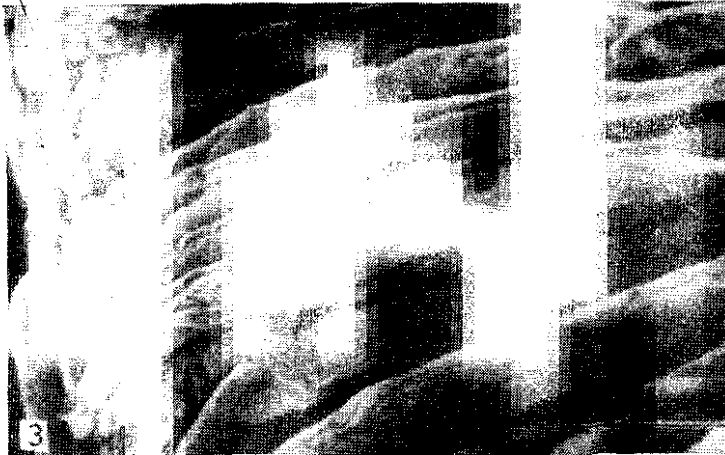


Рис. 32.3. Микрофотография гладкомышечных клеток правой коронарной артерии собаки, полученная на сканирующем электронном микроскопе. Наружная оболочка удалена путем обработки гидрохлорной кислотой, коллагеновой и механического отделения. В этом месте поверхности сосуда все гладкомышечные клетки загibaются вокруг оси по окружности (см. рис. 32.2 для более полного представления о строении средней оболочки этого сосуда). Ясно видна веретенообразная форма клеток, но их поверхность не ровная, с различными выступами и вдавлениями. Калибровка 10 мкм.

Рис. 32.4. Электронная микрофотография (в проходящем пучке с низкой энергией) стенки правой коронарной артерии мартышки-веревки (*Серсорицесус аethiops*). В верхней части фотографии видны пучки гладкомышечных клеток, ориентированных по спирали (ср. рис. 32.6). Основная часть стенки образована клетками, которые на срезе видны в продольном сечении и наклонно ориентированы по отношению к оси сосуда (большая стрелка). Обратите внимание на веретенообразные ядра и небольшие выщипывания цитоплазмы (маленькие стрелки). Калибровка 10 мкм.

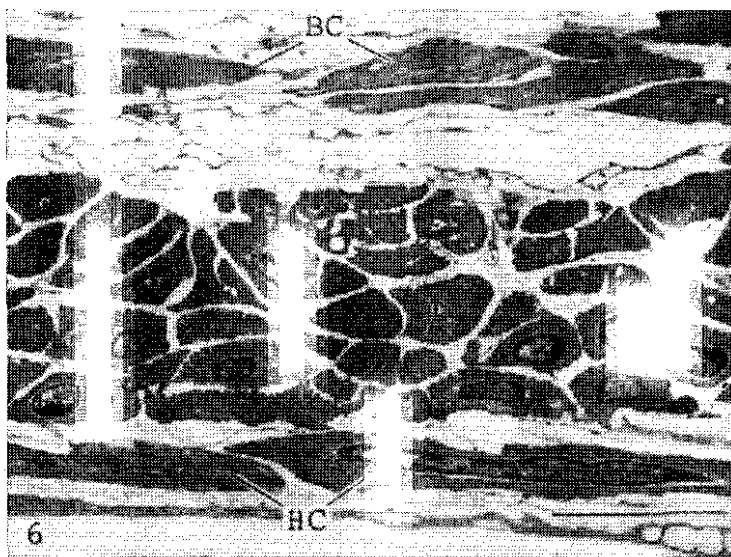
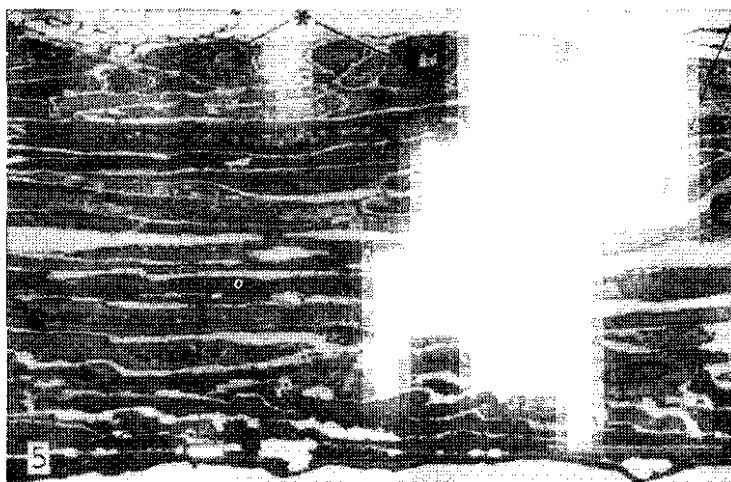


Рис. 32.5. Поперечное сечение правой коронарной артерии собаки. Основная часть средней оболочки сосуда образована гладкомышечными клетками, ориентированными по окружности сосуда, поэтому на фотографии виден их продольный срез (ср. рис. 32.1 и 32.3). Однако самый дальний от просвета сосуда слой гладкомышечных клеток виден в поперечном сечении (*), что указывает на их продольную ориентацию на внешней поверхности стенки сосуда. Калибровка 10 мкм.

Рис. 32.6. Продольный срез правой коронарной артерии мартышки-верветки. Средняя оболочка стенки этого сосуда образована 3 отдельными слоями гладкомышечных клеток. Слой, непосредственно прилегающий к просвету сосуда (BC), состоит из клеток, идущих параллельно оси сосуда. Центральный слой, составляющий основную часть средней оболочки, образован клетками, ориентированными приблизительно по окружности сосуда. Именно такие клетки видны на рис. 32.4 в продольном сечении. Клетки, ориентированные на рис. 32.4 по спирали, соответствуют либо слою, ближайшему к просвету сосуда, либо слою, расположенному около внешней поверхности стенки (HC), который отделен от средней оболочки большим количеством соединительной ткани. Калибровка 10 мкм.

продольный, центральный круговой и наружный продольный слой ГМК (рис. 32.6). Изучение строения других участков по длине этого сосуда показало, что замкнутую оболочку сосуда образует только центральный слой ГМК. Внутренний и внешний слои, видимому, образованы спиральными пучками клеток, длинные оси которых идут под очень острым углом к оси сосуда. Клетки центрального слоя также слегка наклонены, образуя угол $\approx 30^\circ$ по отношению к истинной циркулярной ориентации (рис. 32.4).

Следует помнить, что основным фактором, определяющим ориентацию ГМК, наблюдаемую под микроскопом, является физиологическое состояние кровеносного сосуда в момент фиксации [3]. Поэтому при морфологическом изучении стенки сосуда следует тщательно оценить условия выделения и сохранения сосуда перед фиксацией, а также стараться использовать методы, позволяющие восстанавливать по исходным данным трехмерную структуру клеток (или дающих общий вид, как при изучении сосуда, стенка которого обработана ферментом, с помощью сканирующей электронной микроскопии [2, 4—6]).

Средняя оболочка стенки основных коронарных артерий и их ветвей обычно непрерывная и образована в основном гладкомышечными клетками. Для другой обширной категории кровеносных сосудов сердца (вен, веноул, артериол и капилляров) характерно частое выявление больших разрывов средней оболочки. В мелких «мышечных» артериях сердца ГМК не образуют четко разделенных слоев в отличие от крупных «эластических» артерий, в стенке которых такие слои отделены друг от друга мембранами из эластина. Поэтому в лучшем случае будет неточно говорить о «нескольких слоях» в стенке кровеносных сосудов сердца. Пока же единственным общим выводом, который можно сделать на основании данных наблюдений, является то, что по мере увеличения размеров животного (и сердца) возрастают диаметр и толщина стенок соответствующих артерий. Например, толщина средней оболочки коронарных артерий мышцы редко достигает 6—7 мкм, и максимальное число слоев ГМК не превышает 3—4; средняя оболочка правой коронарной артерии собаки имеет значительно большую толщину и образована 12—15 слоями мышечных клеток (рис. 32.5).

Гладкомышечные клетки артерий имеют форму сильно сплюсненного веретена (рис. 32.1, 32.3 и 32.4). Однако клетки артерий крупных млекопитающих часто не утончаются к закругленным концам, а, наоборот, имеют множество инвагинатов, которые могут образоваться практически в любом участке сарколеммы¹ (рис. 32.1, 32.3, 32.4 и 32.8). В таких случаях концы клеток имеют особенно сложную форму (рис. 32.8). Для клеток мелких сосудов (и это справедливо почти для всех сосудов небольших млекопитающих) характерна более простая форма поверхности (например, рис. 32.7). Такие клетки более тесно прилегают друг

¹ Здесь и далее оставлена оригинальная терминология авторов (сарколемма, саркоплазма и т. п.), строго говоря, относящаяся к поперечнополосатым мышечным волокнам. — Примеч. ред.



Рис. 32.7. Продольный срез передней нисходящей коронарной артерии мышцы. Ориентированные по окружности гладкомышечные клетки на этом срезе видны в поперечном сечении и тесно прилежат друг к другу. Поэтому количество расположенной между ними соединительной ткани минимально. Калибровка 2 мкм.

Рис. 32.8. Правая коронарная артерия белчьей обезьяны, показанная при том же увеличении и той же ориентации среза, что и артерия мышцы на рис. 32.7. Гладкомышечные клетки стенки артерии обезьяны, в отличие от таковых артерий мышцы, полиморфны с выступами и впадинками (*) сарколеммы. Между клетками большие промежутки, заполненные поверхностными оболочками разной толщины, а также соединительной тканью. Калибровка 5 мкм.

к другу в медиальном слое стенки, возможно, вследствие малого содержания в ней элементов соединительной ткани.

Важным характерным свойством ГМК артерий является исключительно высокая степень полярности их цитоплазматических компонентов, включая ядро, миофибриллы, волокна цитоскелета и другие органеллы. Однако биполярная структура может быть не свойственна мелким коронарным сосудам, а характерным свойством перництов венул и капилляров является наличие вторичных («кольцевых») отростков (см. рис. 32.28—32.33); разветвления выявляются также в ГМК вен [3].

Органеллы и клеточные системы

Как отмечалось выше, наиболее характерным признаком мышечных клеток коронарных артерий является их биполярное строение. Это относится не только к внешнему виду таких клеток (см. рис. 32.1, 32.3 и 32.4), но выявляется и в их внутренней структуре, которая в каждой клетке строится вокруг ядра и связанной с ним околядерной цитоплазмы, распространяющейся и обе стороны от ядра. Эти особенности расположения клеточных компонентов ГМК более подробно описаны ниже.

Ядро, сопутствующие органеллы и центральный участок саркоплазмы. Большинство ГМК коронарных артерий сердца являются одноядерными. Ядро клетки имеет явно вытянутую форму, причем его полюса направлены к противоположным концам клетки (см. рис. 32.1 и 32.4). Ядерная мембрана может иметь складчатый характер (см. рис. 32.4), но это встречается достаточно редко, и форма ядра на тонком срезе обычно не обладает никакими особенностями и сохраняется такой на довольно большом протяжении (до 25 мкм).

Цистерны пластинчатого комплекса и центриоли обычно выявляются вблизи ядра (рис. 32.9). Пластинчатый комплекс (аппарат Гольджи) ГМК коронарных артерий редко имеет какие-либо морфологические особенности, хотя в сосудах других органов он сильно реагирует на введение веществ, обладающих ионоформной активностью [7]. В ГМК можно обнаружить до 4 центриолей; их значение неясно, так как в этих клетках редко выявляется более одного ядра.

В ГМК сосудов имеется четкая связь между ядром и резко ограниченными цилиндрами или конусами цитоплазмы, идущими от полюсов ядра к концам клетки (см. рис. 32.9). Это приводит к компартиментализации содержимого клетки, так что некоторые органеллы (пластинчатый комплекс, центриоли, микротрубочки, промежуточные волокна, митохондрии и лизосомы) располагаются преимущественно в центральном саркоплазматическом сердечнике (см. рис. 32.9—32.11), в то время как периферическая цитоплазма, занимающая большую часть клетки, почти полностью занята миофиламентами (см. ниже). Центральный саркоплазматический сердечник можно рассматривать в качестве структуры, которая образует медулярную зону ГМК и окружает ядро; его

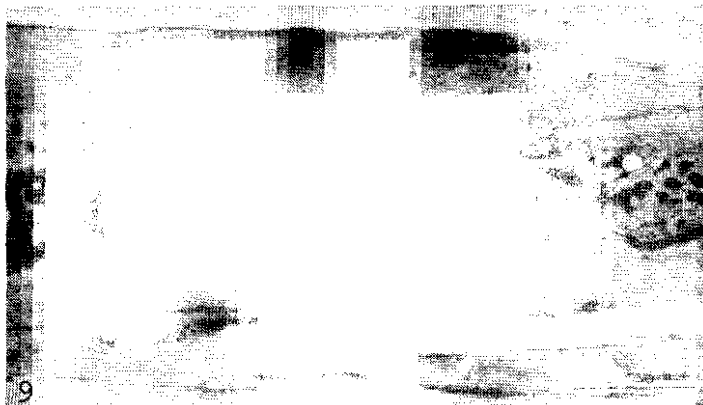


Рис. 32.9. Продольный тонкий срез через центр гладкомышечной клетки стенки правой коронарной артерии мартышки-веревки. Видно взаимное расположение ядра (ПЯ — поры ядра) и центрального саркоплазматического сердечника. В этой части саркоплазмы, кроме ядра, расположены и центриоли (Ц). Здесь же можно обнаружить и другие органеллы, в том числе митохондрии (Мх) и рибосомы. Периферические участки клетки заполнены преимущественно миофиламентами. Калибровка 2 мкм.

Рис. 32.10. Правая коронарная артерия беличьей обезьяны. Поперечный срез участка гладкомышечной клетки вдали от ядра. Здесь в центральном саркоплазматическом сердечнике преобладают цистерны и трубочки ретикулата (ПК) и, кроме того, расположено множество перпендикулярных волокон (ПВ) и микротрубочек (МТ), которые также рассеяны в поперечном направлении. В этой части саркоплазмы видны также митохондрии (Мх), саркоплазматический ретикулум (СР) и липосомы (Л) в виде мультивезикулярных структур. Тонкие периферические ответвления представлены в виде профилей микротрубочек, окруженных электроннопрозрачным ореолом. Калибровка 0,5 мкм.

основная часть имеет форму веретена, от которого отходят тонкие пальцеобразные ответвления, достигающие периферических участков клетки (см. рис. 32.10). Такая внутриклеточная компартиментализация обеспечивает разграничение и необходимое распределение элементов цитоскелета и митохондрий (см. ниже) в гладкомышечной клетке.

Фибриллярные элементы (цитоскелет и миофибриллы). Цитоскелет и сократительный аппарат ГМК коронарных артерий в основном изолированы друг от друга, как обсуждалось в предыдущем разделе. Цитоскелет состоит из микротрубочек и промежуточных волокон, ориентированных преимущественно вдоль длинной оси клетки (см. рис. 32.10—32.12). На многих срезах, проходящих через центральный саркоплазматический сердечник, промежуточные волокна (волокна толщиной 10 нм, «скелетные» волокна [8]) представляют основной тип волокон (см. рис. 32.10 и 32.11), однако количество таких волокон, выявляемых на срезах, может сильно варьировать между соседними клетками стенки кровеносного сосуда. Микротрубочки сопровождают промежуточные волокна (или сопровождаются ими) в различных ответвлениях системы саркоплазматического сердечника (см. рис. 32.10—32.12); они также преимущественно ориентированы вдоль оси клетки и часто выявляются в окружении венчика шириной около 10 нм, подчеркивающего наличие микротрубочек (см. рис. 32.10 и 32.12). Ориентация микротрубочек может в действительности быть тем фактором, который определяет направление промежуточных волокон [9, 10]. Считается, что в гладкомышечных клетках внутренних органов промежуточные волокна образуют сплошные сети, взаимодействующие между собой через места их прикрепления к плотным внутриклеточным телам (см. следующий раздел). В стенке коронарных сосудов такая система, по-видимому, отсутствует [2]. В них имеется скорее всего другая система опорного цитоскелета, содержащая только волокна и трубочки, которые распределены внутри всего внутриклеточного пространства без каких-либо промежуточных специальных мест прикрепления, однако в некоторых участках цитоплазмы она может быть слабо развита.

Для периферической миоплазмы характерно присутствие преимущественно тонких актиновых миофиламентов диаметром от 5 до 8 нм (см. рис. 32.10 и 32.12). Миозиновые миофиламенты выявляются на периферии ГМК коронарных артерий лишь спорадически. В тех случаях, когда такие «толстые» филаменты диаметром 15—19 нм все же выявляются, их обычно удается обнаружить и в других ГМК данного сосуда, но в некоторых ГМК они могут все же отсутствовать. В пределах стенки одного сосуда не удается обнаружить какой-либо закономерности распределения клеток, содержащих и не содержащих толстые филаменты.

Все исследователи согласны с тем, что сократительная активность ГМК артерий и вен определяется наличием в них миозиновых филаментов (см. Murphy [12] и Somlyo [13]). Поэтому наиболее вероятно, что полное отсутствие толстых филаментов в ГМК



Рис. 32.11. Правая коронарная артерия мартышки-верветки. На этом срезе гладкомышечные клетки рассечены продольно. Поверхность одной клетки (слева) показана en face. В клетке справа виден центральный саркоплазматический сердечник (ЦСС), имеющий вид относительно светлой зоны, содержащей продольно ориентированные митохондрии (Мх), многочисленные промежуточные волокна (ПВ) и лизосомы (Л). Микротрубочки также преимущественно располагаются в этом участке саркоплазмы (см. рис. 32.10), но из-за небольшого количества они хуже выявляются на продольном сечении. Миофиламенты в этих гладкомышечных клетках группируются в большие пучки, которые своими концами подходят к плотным субсарколеммальным бляшкам (плотные тела — ПТ). Места перехода пучков миофиламентов в плотные тела отмечены звездочками. С субсарколеммальными структурами, образованными массивами плотных тел, чередуются участки сарколеммы с большим количеством кавеол (К). С сарколеммой плотно связаны коллагеновые волокна (КВ). Калибровка 1 мкм.

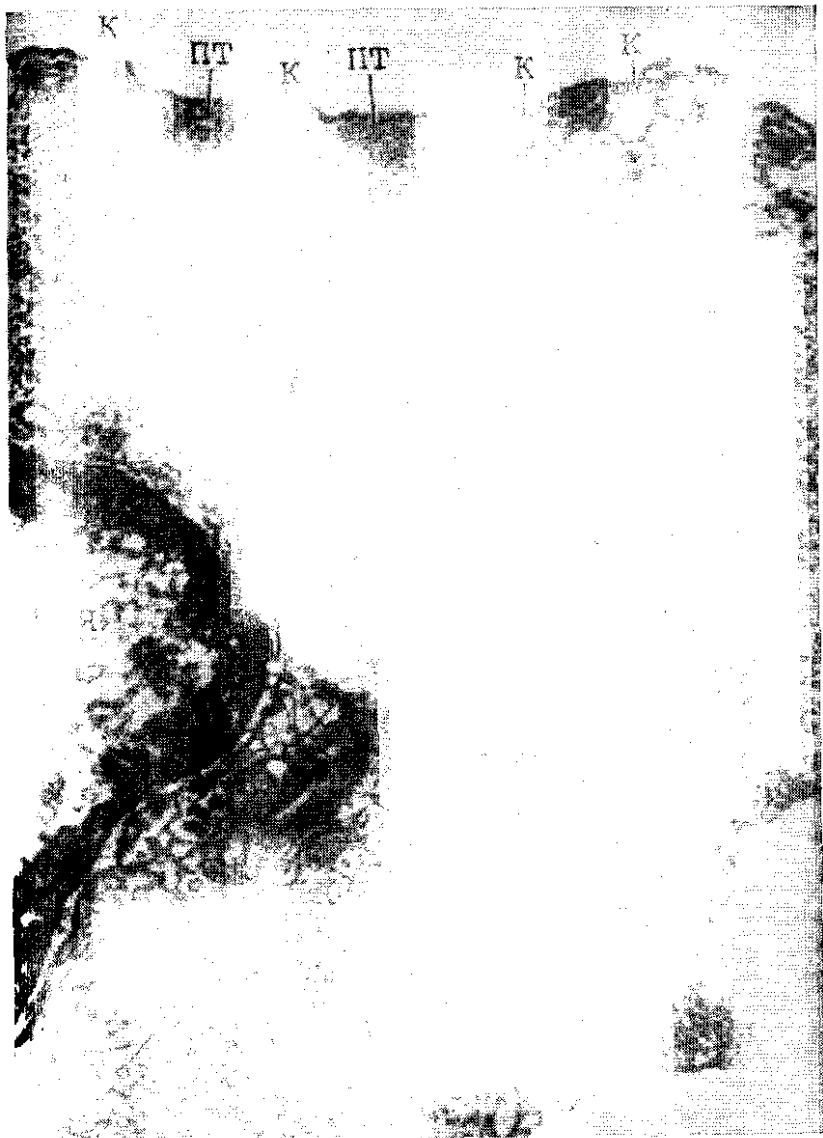


Рис. 32.12. Поперечный срез гладкомышечной клетки правой коронарной артерии белочьей обезьяны. На этой фотографии видны все виды волокон, включая актиновые (А) и миозиновые (М) миофиламенты, которые представляют сократительный аппарат клетки и занимают периферическую часть миоплазмы. Видно чередование кавеол (К) с плотными телами (ПТ) субсарколеммы (см. рис. 32.11). В небольшом количестве плотные тела встречаются в миоплазме вдали от сарколеммы (*). Внутри субсарколеммальных плотных тел различимы точки, соответствующие актиновым филаментам, что свидетельствует об их возможном окончании здесь. Срез на этом уровне клетки выявляет значительно меньше волокон цитоскелета — микротрубочек (МТ) и промежуточных волокон (ПВ): они преимущественно концентрируются в центральном саркоплазматическом сердечнике (рис. 32.10 и 32.11) и его ответвлениях. Я — ядро. Калибровка 0,5 мкм.

говорит о неадекватности метода фиксации исследуемого образца. Однако до сих пор не предложена процедура безошибочной фиксации препарата стенки, которая позволяла бы систематически находить в ГМК толстые филаменты, и не было исследовано мозаичное распределение выявляемости толстых филаментов в соседних ГМК одного и того же образца.

Свойство миофиламентов группироваться в пучки наиболее четко выявляется на продольных срезах ГМК коронарных сосудов (см. рис. 32.11). Большинство таких пучков оканчиваются в электронно-плотном веществе субсарколеммальных плотных тел (рис. 32.11, см. ниже). Стереоскопическое изображение позволяет показать тесную связь миофиламентов ГМК с плотными телами [2, 13], причем на тонких поперечных срезах этих тел часто удается различить сечения актиновых филаментов (см. рис. 32.12).

Поверхностное покрытие, сарколемма, плотные тела и кавеолы. Внешняя оболочка ГМК сосудов образована слабо прозрачным аморфным веществом. Это вещество скорее всего состоит преимущественно из молекул гликопротеидов; наиболее общим термином для обозначения этого вещества, наблюдаемого под электронным микроскопом, является термин «поверхностное покрытие» (однако он ничего не говорит о химической природе этого вещества). Поверхностное покрытие сосудов у млекопитающих разных видов и сосудов разных размеров сильно различается по внешнему виду. Например, если ГМК тесно прилегают друг к другу (рис. 32.7), то поверхностное покрытие представляет собой тонкий слой, наиболее плотная часть которого имеет толщину не более 50 нм, часто отделенный от собственно сарколеммы относительно прозрачным слоем, толщиной 30—50 нм [2]. Однако там, где ГМК не плотно прилегают друг к другу (например, в коронарных артериях обезьяны), поверхностное покрытие (см. рис. 32.8 и 32.13) имеет большую толщину, отслеживает все неровности сарколеммы и образует завитки и уплотнения, особенно в углублениях, характерных для концов ГМК в таких сосудах [2] (см. рис. 32.8 и 32.16).

Большая часть сарколеммы артериальных ГМК сегментирована на участки различной длины вследствие чередования в ней плотных тел вытянутой формы и пучков кавеол (рис. 32.11). В ГМК коронарных артерий удается обнаружить относительно немного плотных тел (см. рис. 32.12), расположенных внутри клеток, в отличие от ГМК крупных сосудов, например сонной артерии (неопубликованные данные) [13]; в отношении последних используют различные термины для внутриклеточных «свободно-плавающих» электронно-плотных образований и слоистых субсарколеммальных структур; первые называются плотными телами, вторые — поверхностными уплотнениями [13]. Проводилась также аналогия между Z-дисками поперечнополосатой мышцы и плотными телами ГМК сосудов; обе эти структуры служат участками прикрепления активных филаментов [13]. Точно так же субсарколеммальные плотные тела аналогичны *fasciae adherentes* в миокарде, т. е. тем участкам вставочных дисков, на которых закан-

чиваются толстые миофиламенты [14, 15]. В ГМК коронарных сосудов внутриклеточным плотным телам частично могут соответствовать отдельные пятна непрозрачного вещества, располагающегося вдали от сарколеммы в глубоких слоях миоплазмы.

Впячивание сарколеммы (кавеолы, буквально «маленькие пещерки») являются существенным компонентом мышечных клеток. Например, в кардиомиоцитах некоторых типов такие бутылкообразные углубления сарколеммы создают дополнительную площадь клеточной поверхности [16—18]. Мембраны кавеол непрерывно переходят в сарколемму, а их просвет соединяется с внеклеточным пространством. Это отличает их от подвижных «микропипоцитозных» пузырьков эндотелиальных клеток сосудов. Кавеолы в гладкомышечных клетках могут представлять собой не только одиночные инвагинаты, но и развитые структуры, называемые «бусовидными тубулами» (рис. 32.14 и 32.17), различной длины [2, 19]. Такие структуры напоминают элементы системы поперечных тубул сердечной и скелетных мышц на стадии формирования [2, 15, 20], поэтому кавеолы гладкомышечных клеток можно рассматривать как эквивалент Т-тубулярной системы как с точки зрения аналогии, так и в смысле гомологической близости [2, 19].

Почти вся поверхность ГМК артерий занята кавеолами (см. рис. 32.10—32.12). В артериолах ГМК становятся тоньше и, по видимому, меньше по объему, а на поверхности, обращенной в просвет сосуда, кавеолы часто отсутствуют, как это наблюдается в перидтах мелких сосудов (см. далее рис. 32.30 и 32.31).

Саркоплазматическая сеть. В гладкомышечных клетках можно выявить множество разнообразных тубул и пузырьков с гладкой поверхностью. Часть из них образует пластинчатый комплекс (рис. 32.10), однако большая часть этих структур, преимущественно расположенных в центральном саркоплазматическом сердечнике и его ответвлениях, а также сразу под сарколеммой, обозначается собирательным названием «саркоплазматический ретикулум»¹ (СР, саркоплазматическая сеть). Этот набор внутриклеточных мембранных структур считается эквивалентным по своим функциям более структурированной сети СР поперечнополосатой и сердечной мышц [21—24]. В крупных сосудах СР подразделяют на следующие категории: периферический глубокий и центральный [25]. Относительно небольшой объем ГМК коронарных сосудов позволяет ограничиться делением СР на периферический и центральный (см. рис. 32.10 и 32.13). Чередование плотных тел и кавеол создает некоторую компартментализацию в субсарколеммальном пространстве, которая дополняет более сильно выраженное разделение внутриклеточных компонентов

¹ Несмотря на то что в отечественной литературе принят термин «саркоплазматическая сеть», в соответствии с пожеланиями переводчика в качестве основного оставлено оригинальное название, рассматриваемое как рабочее в научной среде, тем более что оно позволяет использовать понятие «сеть (network) СР» (здесь и в главе 34) вместо «сеть СС» (см. «Руководство по кардиологии» — М.: Медицина, 1982 т. 1, с. 40). — Примеч. ред.



на кортикальные и медуальные. Большая часть саркоплазматического ретикулума расположена под складками сарколеммы, образующими кавеолы.

Наиболее значительной частью периферического отдела СР является «контактный» СР (КСР), сегменты которого прилегают к внутренней поверхности сарколеммы (см. рис. 32.13—32.15). КСР закручивается в виде разветвляющихся трубок вокруг инвагинатов сарколеммы, образующих кавеолы (см. рис. 32.13—32.15), и, по-видимому, образует контакты как с поверхностью сарколеммы, так и с кавеолами с помощью так называемых контактных выростов. Одной из форм этих выростов являются тон-

Рис. 32.13. Передняя нисходящая коронарная артерия белчьей обезьяны. Поперечный срез гладкомышечной клетки. Видны слоистые профили саркоплазматического ретикулума (СР), тубулярные выросты которой близко прилегают к сарколемме (*). К — кавеолы. Обратите внимание на неравномерную толщину поверхностного покрытия (Ш) клетки. Калибровка 0,5 мкм.

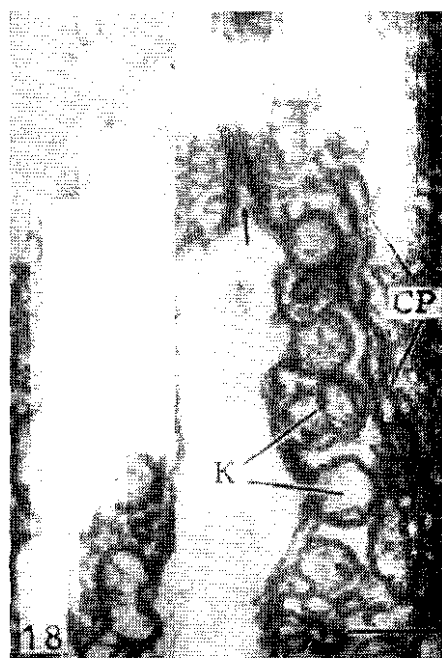
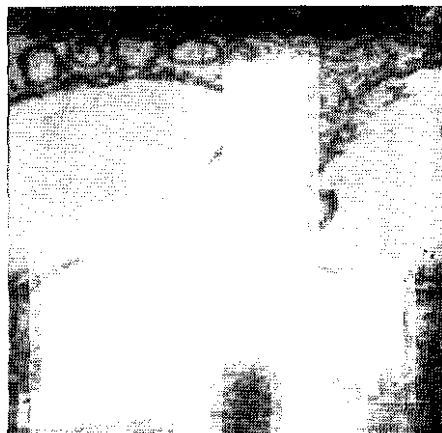
Рис. 32.14. Тот же сосуд, что и на рис. 32.13. Видны субсарколеммальные контакты между сарколеммой и цистернами контактного саркоплазматического ретикулума (КСР). Противоположные мембраны соединены четко различимыми линейными структурами («колонны», отмечено стрелками). Между мембранами КСР расположены кавеолы, две из которых (К) слились вместе и образовали короткую, похожую на бусы, тубулу. Калибровка 0,1 мкм.

Рис. 32.15. Передняя нисходящая коронарная артерия белчьей обезьяны. Две стереоскопические микрофотографии (стерео-угол 10°) показывают значительное взаимопроникновение контактного саркоплазматического ретикулума (КСР) и кавеол, связанных с сарколеммой. Эти два вида структур соединены колоннообразными отростками (отмечено стрелками). Калибровка 0,2 мкм.

кие профили («колонны» [26]), которые напоминают на срезе элементарную мембрану, а непрозрачное вещество, ограничивающее такой вырост с обоих концов, часто можно видеть слившимся с прилегающим монослоем мембран КСР и клеточной мембраны или кавеолы (см. рис. 32.13—32.15) [2, 27]. Как указано выше, кавеолы в ГМК, по-видимому, соответствуют Т-тубулам, комплексы, образованные КСР и кавеолами, в этом случае эквивалентны «внутриклеточным контактам», типичным для мышц других типов [15, 20], в то время комплексы КСР — сарколемма гомологичны периферическим контактам [2, 19].

Контакты. В стенке кровеносных сосудов миокарда можно обнаружить множество межмембранных соединений [2]. «Гомоклеточные» контакты образуются как между отдельными клетками средней оболочки, так и внутри клеток (т. е. они возникают между прилегающими участками сарколеммы клетки). «Гетероклеточные» контакты соединяют ГМК с подлежащим эндотелием [2].

В коронарных артериях описано множество типов многоклеточных контактов ГМК [2]. К ним относится «простое прилегание», при котором поверхности сарколеммы располагаются параллельно друг другу, разделенные промежутком 17—20 нм (рис. 32.16), в который обычно не проникает электронно-плотное вещество клеточного покрытия. Несколько разнообразных морфологических форм имеют «промежуточные» контакты (см. рис. 32.17) — от пары коротких внутриклеточных уплотнений, расположенных друг против друга и разделенных пустым на вид промежутком шириной 17—20 нм, до «квазидесмосомных» комплексов, для которых характерно наличие структурированного внеклеточного материала. Между ГМК коронарных артерий кошки обнаружены истинные десмосомы [2]. В ГМК коронарных ар-



терий мышцы, морской свинки, собаки и белчьей обезьяны присутствуют короткие нексусы [2] (рис. 32.18), которые могут образовываться как между отдельными клетками, так и между различными участками сарколеммы одной клетки.

Морфологическое строение гетероклеточных контактов в коронарных артериях менее вариабельно, чем морфология гомогенных соединений. Наиболее часто между ГМК и эндотелием выявляются контакты типа простого прилегания, которые образуются между отростками эндотелиальных клеток, проходящих

Рис. 32.16. Передняя нисходящая коронарная артерия белчьей обезьяны. Показаны две гладкомышечные клетки, образующие две зоны контакта типа «простого прилегания» (между стрелками). Хотя противолежащие участки сарколеммы идут параллельно на довольно значительном расстоянии, никаких внутри- или внеклеточных уплотнений на данном срезе не выявляется, и, кроме того, в эти участки межклеточной щели не проникает структурное вещество поверхностного покрытия (ШП). Калибровка 0,5 мкм.

Рис. 32.17. Правая коронарная артерия сердца собаки. Гладкомышечная клетка, расположенная сверху, имеет небольшой пальцеобразный отросток, который подходит к шижней клетке, образуя промежуточный контакт, характеризующийся в основном повышенной концентрацией электронно-плотного вещества (*) непосредственно под сарколеммой прилегающих участков. Окружающие место контакта участки сарколеммы богаты кавеолами, некоторые (К) из которых слились вместе, образуя бусовидную цепочку. Калибровка 0,1 мкм.

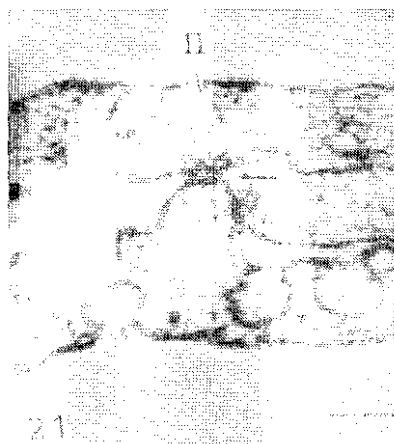
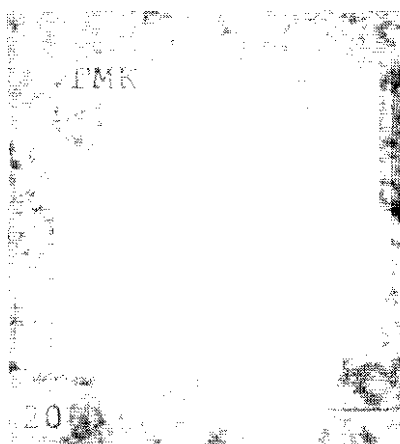
Рис. 32.18. Правая коронарная артерия белчьей обезьяны. Между отростком одной гладкомышечной клетки и телом другой образован нексус (между стрелками) длиной около 59 нм. Нексусы часто встречаются между клетками стенок коронарных артерий, но в большинстве случаев они ограниченного размера, как показано на этой фотографии. Обратите внимание на близкое прилегание кавеол (К) к тубулам саркоплазматического ретикулума (СР). Калибровка 0,1 мкм.

в среднюю оболочку к гладкомышечным клеткам. Ни в одной из клеток, принимающих участие в формировании миоэндотелиальных контактов такого типа, не удается выявить каких-либо специфических внутриклеточных структур. Вместе с тем иногда можно обнаружить гетероклеточные контакты промежуточного типа (рис. 32.19), для которых характерно выраженное локальное скопление внутри клетки электронно-плотного вещества, похожего на то, которое выявляется в аналогичных гомогенных контактах.

В артериях и артериолах сердца мыши был четко выявлен и третий тип гетероклеточных контактов — миоэндотелиальные нексусы [2] (рис. 32.20), однако в эквивалентных сосудах сердца животных других видов такие контакты пока не были обнаружены. Для миоэндотелиальных нексусов характерно образование выростов эндотелиальных клеток в сторону ГМК либо ГМК в сторону эндотелия. Частое выявление этих контактов в тонкостенных сосудах сердца может быть указанием на то, что основной их функцией являются соединение клеток и стабилизация структуры, а не обеспечение электрической связи [2].

Гетероклеточные контакты (включая нексусоподобные, рис. 32.21) часто встречаются также в венах, венулах и капиллярах. В венах, кроме того, обнаружены структуры необычной формы (рис. 32.22), которые нельзя строго соотнести ни с одним из типов контактов, описанных выше.

Другие органеллы. В обзоре такого типа, как этот, ряд категорий клеточных структур объединяют и рассматривают вместе так для полноты картины, так и преимущественно вследствие недостаточной их изученности. В большей или меньшей степени



это относится к митохондриям, гранулярной эндоплазматической сети, рибосомам, частицам гликогена и лизосомам гладкомышечных клеток сосудов, рассматриваемым в этом разделе. Пластинчатый комплекс и центриоли описаны выше в этой главе.

Как было отмечено, в ГМК сосудов сердца митохондрии встречаются преимущественно в центральном саркоплазматическом сердечнике и его ответвлениях; последние также включают в со-

Рис. 32.19. Прилежащий к внутренней оболочке слой гладкомышечных клеток стенки крупной артерии папиллярной мышцы правого желудочка сердца макаки резуса. Два отростка эндотелиальной клетки (Э) подходят к поверхности ближайшей гладкомышечной клетки. Слева образован плотный контакт с сарколеммой мышечной клетки, частью которого является гетероклеточный промежуточный контакт, о чем говорит тонкий слой непрозрачных бляшек (*) в этой области (рис. 32.17). ГЭС — гранулярная эндоплазматическая сеть. Калибровка 1 мкм.

Рис. 32.20. Нексус между гладкомышечной и эндотелиальной клеткой правой коронарной артерии мышцы. В данном случае контакт образован выпячиванием эндотелиальной клетки (Э), которое точно соответствует углублению на поверхности соседней гладкомышечной клетки (ГМК). Калибровка 0,1 мкм.

Рис. 32.21. Стенка венылы папиллярной мышцы правого желудочка сердца макаки резуса. Выпячивание эндотелиальной клетки (Э) касается отростка перидита (П), где формируется короткий участок плотного контакта (стрелка), напоминающий нексус между эндотелиальной и гладкомышечной клеткой, показанный на рис. 32.20. Калибровка 0,1 мкм.

Рис. 32.22. Поперечное сечение передней коронарной вены белочьи обезьяны. Поверхностные мембраны гладкомышечной (ГМК) и эндотелиальной (Э) клеток идут практически параллельно друг другу; особое внимание привлекают два участка, на которых в межклеточной щели видны тяжи, причем некоторые из них объединены в линейные структуры (стрелки), контактирующие с обеими противоположащими мембранами. Калибровка 0,1 мкм.

384

бя субсарколеммальные полости, в которых митохондрии могут контактировать с СР и кавеолами [19]. Образование таких комплексов может вносить вклад во внутриклеточное перемещение ионов Ca^{2+} в гладкомышечных клетках [13]. Митохондрии ГМК сосудов малы по размерам, имеют удлинненную форму и обычно ориентированы вдоль длинной оси клетки (см. рис. 32.11).

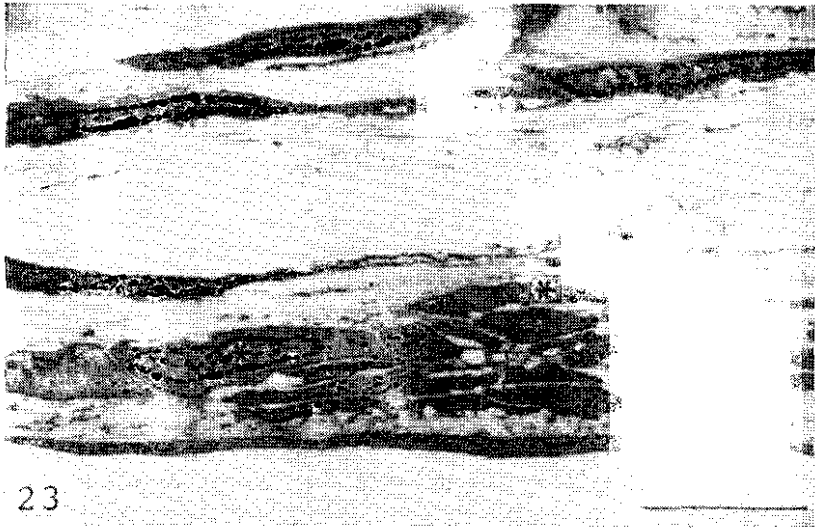
Обрамленные рибосомами тубулы — гранулярная эндоплазматическая сеть — и альфа-розетки гликогена являются частыми находками в ГМК сосудов у новорожденных животных, а у взрослых они практически исчезают, хотя в центральном саркоплазматическом сердечнике иногда обнаруживают гранулярную эндоплазматическую сеть (см. рис. 32.19) наряду со свободными рибосомами и рассеянными частицами гликогена.

Лизосомы ГМК коронарных сосудов могут иметь различную форму [2], включая равномерно плотные сфероиды, окруженные мембраной (см. рис. 32.11), пестрые тела с темными и светлыми компонентами (по-видимому, вторичные лизосомы) и мультивезикулярные структуры (см. рис. 32.10). Выявление в межклеточном пространстве средней оболочки коронарных артерий крысы множества разнообразных по размеру везикул позволило выдвинуть гипотезу о том, что конечные продукты метаболизма ГМК сосудов выводятся из клеток путем экзоцитоза лизосом [28].

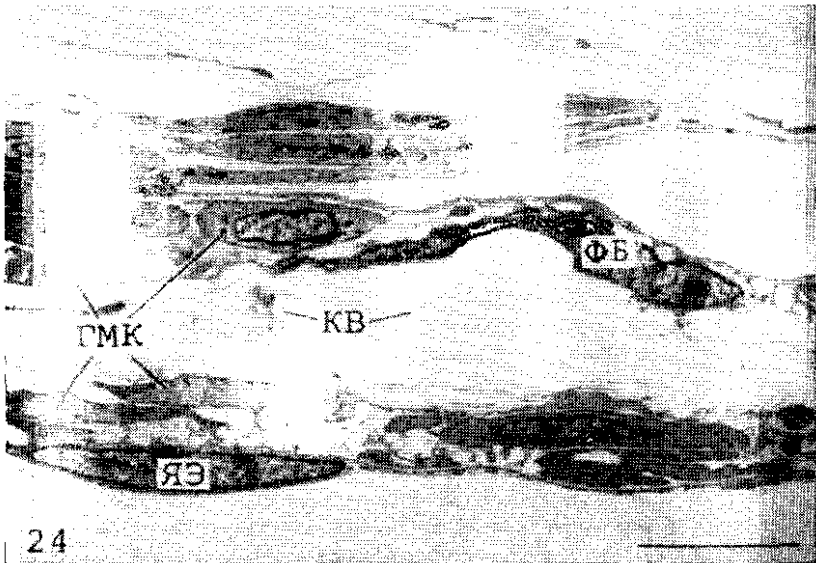
СРАВНЕНИЕ АРТЕРИАЛЬНЫХ (АРТЕРИОЛЯРНЫХ) ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК С ВЕНОЗНЫМИ (ВЕНУЛЯРНЫМИ)

Кровеносные сосуды сердца двух основных категорий можно легко отличить друг от друга уже на уровне световой микроскопии на основе того, что артерии имеют толстую мышечную стенку, а вены — это сосуды с тонкой стенкой и большим просветом (см. рис. 32.1). Для артериол (рис. 32.26) и венул обычно характерны те же признаки, что и для соответствующих «родительских» сосудов. Однако в некоторых участках сосудов различия не ясны. и периадотелиальные компоненты в большей или меньшей степени являются промежуточными по своей структуре клетками между ГМК и перипитами (рис. 32.27); такие переходные формы будут рассмотрены в следующем разделе.

Об артериальной сети кровеносных сосудов сердца известно значительно больше, чем о венозной. Считается, что в стенках вен ГМК обычно расположены по оси сосуда, однако в действительности форма и ориентация этих клеток могут существенно варьировать в зависимости от типа вены, конкретного ее участка, точки на окружности сосуда и т. д. [3, 29]. В венах довольно трудно выделить различные слои стенки, так как ГМК могут быть выявлены в стенке вен на том уровне, который в артериях несомненно относится к внутренней или наружной оболочке [3] (рис. 32.24). Огромная вариабельность в частоте и ориентации ГМК в венах человека, изученная Kügelgen (данные обобщены Rhodin [3]), является основанием для строго индивидуальной оценки каждого сегмента конкретной вены животного того или иного вида. Следовательно, описание коронарных вен, приведенное здесь, может быть неточным ввиду относительного небольшого числа исследований сосудов такого типа к настоящему времени. В наиболее широком участке стенка передней вены (сопровождает правую коронарную артерию) у макаки резуса имеет 4—5 «слоев» тел и отростков ГМК в отдельных точках по окружности вены (рис. 32.23), а в других точках ГМК могут полностью отсутствовать. К эндотелию могут примыкать фибробласты и пучки коллагеновых волокон, в то время как ГМК обычно располагаются дальше от просвета; в некоторых участках соединительная ткань является основным компонентом стенки вены. Кроме того, обнаружены вариации ориентации ГМК (судя по направлению миофиламентов); находящиеся ближе к просвету продольно ориентированные ГМК перемежаются с ориентированными по окружности ГМК, расположенными дальше от просвета, и наоборот (см. рис. 32.23). Кроме того, обнаружены «звездчатые» ГМК [3]. Это говорит о том, что некоторые венозные ГМК имеют как продольные, так и циркулярные выросты, напоминая, таким образом, перипиты венул и капилляров [30], что может частично объяснить обнаруженные в венах разнообразные ориентации ГМК.



23



24

Рис. 32.23. Передняя коронарная вена макаки резуса в поперечном сечении. На этом участке стенки вены гладкомышечные клетки занимают положение, эквивалентное средней оболочке стенки артерий. Однако ориентация клеток варьирует, поэтому их слой образуется клетками, ориентированными по окружности (*) и вдоль оси сосуда. Калибровка 5 мкм.

Рис. 32.24. Та же вена, что и на рис. 32.23, но другой участок стенки. Здесь гладкомышечные клетки (ГМК) локализируются как в субэндотелиальном слое (ЯЭ — ядро эндотелиальной клетки), так и в «адвентиции». Обратите внимание на фибробласты (ФБ) и пучки коллагеновых волокон (КВ), расположенные между двумя слоями гладкомышечных клеток. Калибровка 5 мкм.



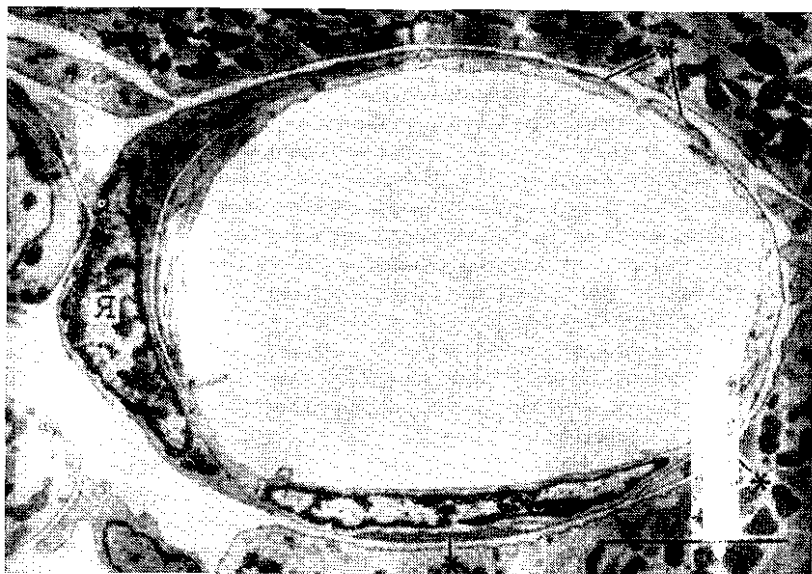
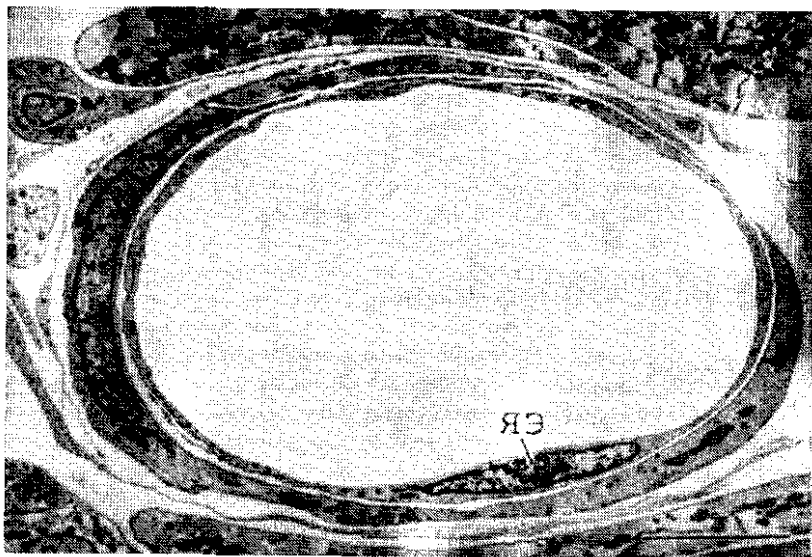
Рис. 32.25. Гладкомышечная клетка на поперечном срезе передней коронарной вены сердца макаки резуса. Для этих клеток характерна тонкая уплощенная форма. На данном срезе виден ряд органелл и структур, которые выявляются и в гладкомышечных клетках стенки артерий. К ним относятся митохондрии (Мх), дистерны пластинчатого комплекса (ПК) и гранулярной эндоплазматической сети (ГЭС). В гладкомышечных клетках вен ГЭС более развита, чем в ГМК артерий. На этом поперечном срезе такие фибриллярные элементы, как микротрубочки (МТ) и миофиламенты, также оказываются рассеченными поперек, что указывает на ориентацию клеток и их органелл по оси сосуда. Плотные тела (ПТ) расположены в миоплазме либо свободно, либо прикреплены к сарколемме, где они разделяются группами кавеол (К). Калибровка 0,5 мкм.

Возможно, единственное обобщение, которое можно сделать относительно структуры ГМК вен сердца, состоит в том, что их толщина заметно меньше, чем толщина ГМК соответствующих артерий (см. рис. 32.1 и 32.23—32.25). В венозных ГМК можно обнаружить те же органеллы и внутриклеточные системы, которые были описаны выше (рис. 32.25), хотя в них и не найдены некоторые специфические комплексы, например гомоклеточные поксусы. Интересно отметить, что в одной и той же вене толстые (миозиновые) филаменты в одних ГМК могут выявляться, а в других — отсутствовать, как и в случае артерий. Несомненно, что возможность ветвления, а также меньшая толщина усложняют концепцию центрального саркоплазматического сердечника в венозных ГМК. Прежде чем сделать более далеко идущие обобщения, необходимо провести большое число исследований, специально направленных на изучение ультраструктуры коронарных вен.

СРАВНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК СОСУДОВ И ДРУГИХ ПЕРИЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Согласно классическому определению, перicyты — это расположенные периэндотелиально клетки, частично охватывающие эндотелиальные клетки микрососудов, таких, как капилляры и посткапиллярные вены, и, кроме того, несущие поверхностное вещество (базальный слой), переходящее в вещество, естественно покрывающее эндотелиальные клетки (рис. 32.28—32.30). Клетки Руже (Rouget), или периэндотелиальные клетки микрососудов моноцитных, характеризуются четко определяемым сократительным аппаратом [31]. Однако вера в сократительные способности их филогенетических аналогов — перicyтов — со времени наблюдений Rouget появилась и угасла. В течение 20-х годов Zimmerman [32], Vimtrup [33] и Krogh [34] подтвердили их сократительную способность, но позднее, возможно, одновременно с появлением трансмиссионной электронной микроскопии, функция перicyтов стала менее понятна, и в некоторых исследованиях их сократительная способность полностью была отвергнута (см. Majno [35] и Zweifach [36]). Однако эта концепция не умерла окончательно, и недавно снова появились данные в пользу такого представления [6, 30, 37—41].

В сети микроциркуляции наблюдается постепенное изменение диаметра просвета, а также типа и количества периэндотелиальных клеток при переходе от капилляров к венам (а также иногда от артериол к капиллярам) [32, 35, 42]. Ультраструктура периэндотелиальных клеток также постепенно изменяется от той, которая характерна для перicyтов, до типичной для морфологии ГМК сосудов. Поэтому во многих сосудах можно обнаружить промежуточные формы клеток (например, примитивные гладкомышечные клетки, рис. 32.27). В нескольких исследованиях мио-



карда мышцы было показано, что ГМК, примитивные гладкомышечные клетки и перициты обладают рядом основных ультраструктурных признаков, общих для всех этих типов клеток [19, 30, 37]. Эти характерные признаки можно отнести к пяти категориям:

- 1) элементы цитоскелета;
- 2) система электромеханического сопряжения (СР и «Т-система»);

Рис. 32.26. Поперечное сечение типичной артериолы в стенке правого желудочка сердца белчьей обезьяны (*Saimiri sciureus*). Большая часть окружности сосуда образована одним слоем гладкомышечных клеток, почти полностью охватывающим эндотелиальный слой. По существу гладкомышечные клетки идентичны по составу органелл клеткам коронарных артерий, хотя объем клеток стенки артериол несколько меньше. ЯЗ — ядро эндотелиальной клетки. Калибровка 5 мкм.

Рис. 32.27. Кровеносный сосуд стенки левого желудочка сердца мыши. Несмотря на то что диаметр сосуда (≈ 14 мкм по меньшей оси) характерен для артериол или венул (см. рис. 32.26), его средняя оболочка состоит из «примитивных» гладкомышечных клеток, характерные признаки которых являются промежуточными между таковыми для перичитов и гладкомышечных клеток. К этим признакам относятся неправильная форма ядра (Я) и вытянутые цитоплазматические отростки (*), которые на этой микрофотографии выглядят как изолированные образования, но при просмотре последовательных срезов обнаружено, что они непрерывны с основной массой цитоплазмы клетки. В таких клетках субсарколеммальные кавеолы выстилаются на обеих поверхностях клеток, в отличие от перичитов, образующих перивендотелиальный слой мелких сосудов, где кавеолы концентрируются у поверхности клетки, лежащей дальше от просвета сосуда (см. рис. 32.30 и 32.31). Калибровка 5 мкм.

3) сократительный аппарат (развитие силы);

4) системы передачи механического напряжения (гетеро-клеточные контакты);

5) эффекторная система (эфферентная иннервация).

Элементы цитоскелета. Микротрубочки и промежуточные волокна образуют высокоорганизованную опорную сеть в перивендотелиальных клетках, таких, как перичиты. Исследование структуры системы микроциркуляции сердца мыши [30] показало, что эти фибриллярные элементы скорее всего ответственны за форму и стабильность множества цитоплазматических отростков перичита и, по-видимому, то же справедливо и для сердца приматов (см. рис. 32.30 и 32.31). Микротрубочки особенно выражены в продольном стволе перичита (см. рис. 32.30 и 32.14) в тангенциальных выростах и в продольном стволе между микротрубочками располагаются промежуточные волокна, число которых варьирует (рис. 32.33, см. также Forbes с соавт. [30]).

Характерная особенность фибрилл цитоскелета перичитов — расположение только в той части цитоплазмы, которая находится дальше от просвета сосуда, в то время как скопления микрофиламентов обнаруживают в участках, близких к просвету (рис. 32.30—32.33). Следовательно, для перичита типична двухслойная внутренняя сегментация; такой вид цитоплазматической компартиментализации хорошо согласуется с расположением фибриллярных элементов в истинной ГМКС миокарда: заполненная микрофибриллами оболочка вокруг центрального сердечника, лишённого сократительных элементов.

Система электромеханического сопряжения. Пузырьки и трубочки с гладкой поверхностью, являющиеся структурным аналогом саркоплазматического ретикулаума ГМК сосудов, в перичитах

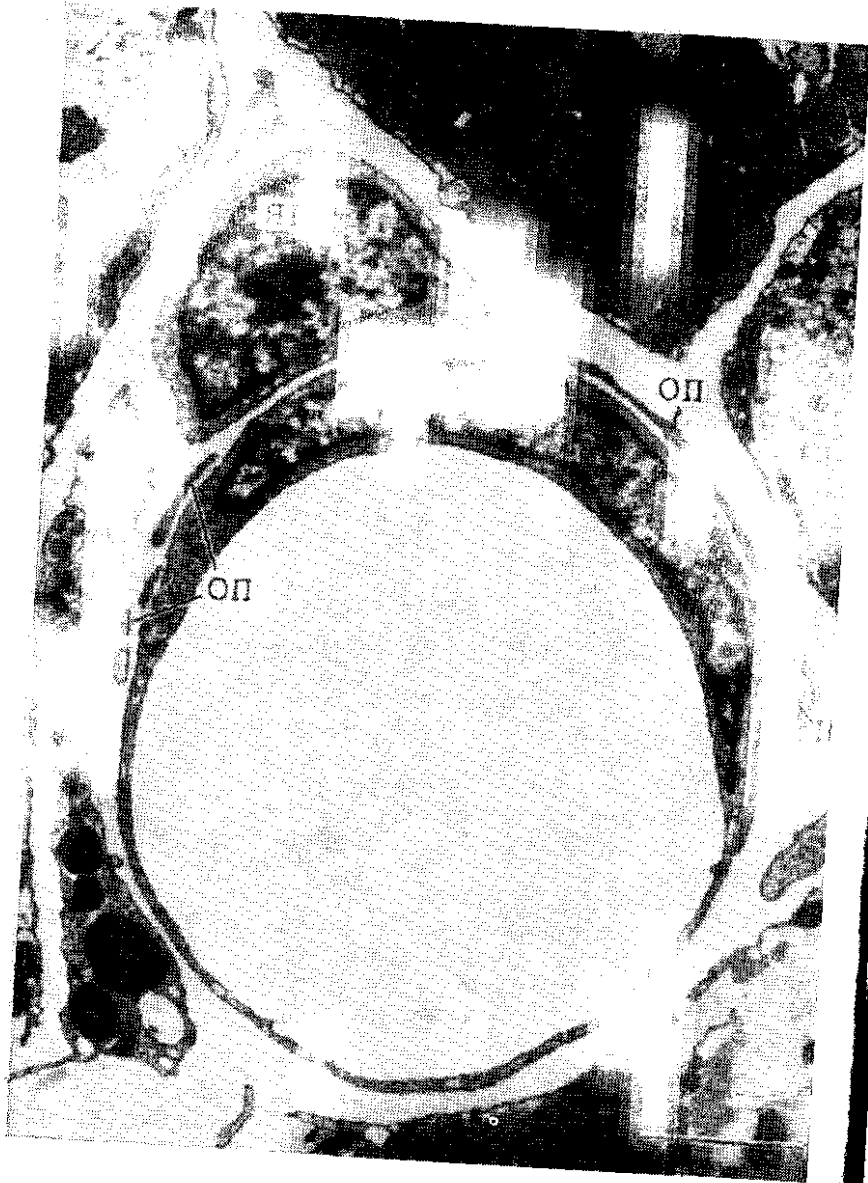


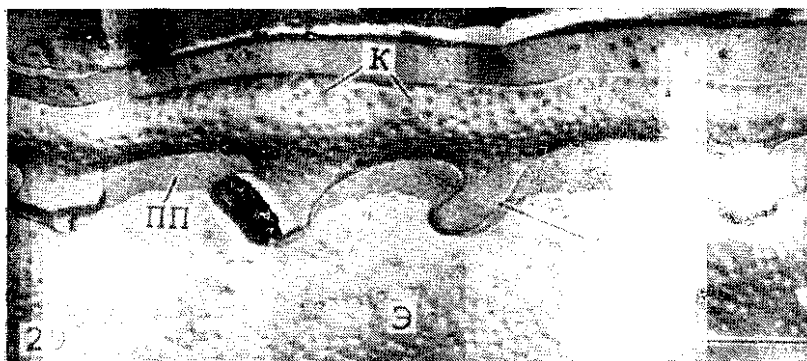
Рис. 32.28. Поперечное сечение мелкого сосуда (диаметр просвета около 7,9 мкм — возможно, венозный капилляр) папиллярной мышцы сердца макаки резуса. Для перицита характерно ядро (ЯП) неправильной формы; отростки его цитоплазмы (ОП) выявляются в различных точках эндотелиального цилиндра (ЯЭ — ядро эндотелиальной клетки). Сосуд окружен кардиомиоцитами. К внешней поверхности сосуда тесно прилегают элементы нервной ткани (Н). Калибровка 2 мкм.

расположены преимущественно под сарколеммой (см. рис. 32.30 и 32.31). Субсарколеммальная эндоплазматическая сеть перицитов часто образует мостики, контактирующие с внутренней поверхностью сарколеммы и напоминающие контактные выросты системы сопряжения ГМК сосудов.

Кавеолы, во множестве выявляемые по всей поверхности более толстых ГМКС, обычно занимают только дальнюю от просвета сосуда часть клеточной мембраны перицита; небольшое количество кавеол на ближней к просвету части сарколеммы обнаружено в примитивных гладкомышечных клетках более крупных микрососудов и в ГМК артериол. И в перидитах, и в периэндотелиальных клетках переходной формы выявляются кавеолозные тубулы, образованные из 2—3 везикулярных элементов, слившихся своими концами; они не столь развиты, как «бусовидные тубулы» ГМК коронарных артерий мыши [19], однако демонстрируют свойство поверхностной мембраны периэндотелиальных клеток всех типов сосудов образовывать значительные инвагинации.

Сократительный аппарат. Главным признаком идентификации большинства перицитов миокардиальных сосудов является наличие пучков микрофиламентов диаметром 7—8 нм, которые располагаются в ближайшем к просвету сосуда слое клетки, т. е. в слое, примыкающем к эндотелию (см. рис. 32.30 и 32.33). В микроциркуляторном ложе мозга [43] и сетчатки глаза [41] такие микрофиламенты химически эквивалентны F-актину мышечных клеток, как было показано на основании связывания ими тяжелого меромиозина. В перидитах сосудов миокарда микрофиламенты идут вдоль длинной оси различных отростков; такая особенность ориентации, а также расположение вблизи эндотелия делают эти нити идеально приспособленными для сократительных возмущений, особенно в тех многочисленных отростках, которые ориентированы по окружности и иногда охватывают почти весь эндотелиальный цилиндр [30]. Основным недостатком гипотезы о сократительной способности перицитов является отсутствие в них толстых, миозиноподобных филаментов; однако в определенных условиях в цитоплазме перицитов сосудов мозга удается обнаружить удлинённые тела, напоминающие агрегаты молекул миозина [43]. Было сделано предположение о механизме сокращения гладких мышц, в соответствии с которым для сокращения не нужно явного присутствия толстых филаментов [44]; я уже отмечал непостоянство выявления миозиновых филаментов в ГМК коронарных сосудов [2]. Следует учесть также относительную трудность получения на срезе поперечного сечения отростков перицита, в котором возможна наиболее надежная идентификация миозиновых филаментов, если они вообще есть в клетке.

Система передачи механического напряжения. В артериях и венах сердца млекопитающих множество контактов между средней и внутренней оболочками. В микрососудах также обнаружены разнообразие гетероклеточные контакты, включая простое прилегание (см. рис. 32.30), контакты промежуточного типа [30] и пейсусы (см. рис. 32.21). Доля окружности сосуда, охватывае-



мая отдельными перицитами, варьирует, и этот параметр в микрососудах скелетной мышцы, по-видимому, больше, чем в микрососудах миокарда [39, 40]. Тем не менее наличие множества точек контакта между перицитами и эндотелием в сосудах миокарда может обеспечивать передачу механического напряжения от перцитов к границе сосудов, создавая таким образом градуальную деформацию формы просвета капилляров и венул.



Рис. 32.32. Схема относительного расположения перицита и эндотелиального цилиндра капилляра (построена на основе исследования сердца мыши). Гидро перицита типично неправильной формы (см. рис. 32.28), а его цитоплазма образует два основных продольно ориентированных ствола и множество ориентированных по окружности сосуда отростков; последние могут начинаться как от основного тела клетки, так и от продольных стволов (см. рис. 32.33). Для внешней (дальней от просвета) поверхности перицита характерны вдавления (кавеолы) [30].

Рис. 32.33. Рисунок, уточняющий схему, представленную на рис. 32.32. Здесь показана структурная организация фибриллярного цитоплазматического матрикса. Микрофиламенты (МФ), по-видимому, актиновые, преимущественно концентрируются в цитоплазме ближе к просвету сосуда, в то время как фибриллы цитоскелета, микротрубочки (МТ) и промежуточные волокна (ИВ) занимают участки цитоплазмы ближе к внешней поверхности сосуда. Обратите внимание, что многие фибриллы всех трех типов отклонены от продольного ствола (ПС) и расположены в отростках, ориентированных по окружности (ОП), так что во всех ветвлениях перицита сохраняется слоистость структуры, образованной фибриллами. ЯЭ — ядро эндотелиальной клетки [30].

нение перицитов в его стенке, а при таком же воздействии на сосуды миокарда никакой реакции не наблюдается. Перициты сосудов скелетной мышцы отличаются от перицитов сосудов миокарда тем, что к ним обычно не подходят окончания эфферентных нервов [39]. Еще предстоит выяснить, какие эффекты будут наблюдаться в сосудах сердца при экстравазкулярном воздействии вазоактивных соединений или при высвобождении нейромедиатора из самих нервных окончаний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Одним из важнейших компонентов стенки кровеносных сосудов в сердце млекопитающих являются разнообразные мышечные и мышцеподобные клетки, разные типы которых известны под многими собирательными названиями: гладкомышечные и примитивные гладкомышечные клетки, клетки переходного типа, клетки средней оболочки, муральные, периваскулярные и перикапиллярные клетки, клетки Руже и т. д. Универсальное название, одновременно охватывающее весь этот спектр компонентов сосудистой стенки, — просто «периадотелиальные клетки», так как этот термин довольно свободно описывает их положение в стенке, а не ограничивает его лишь медиальным слоем (рассмотрите, например ГМК вен, выявляемые в различных слоях стенки), (см. рис. 32.24). Более того, использование термина «периадотелиальные клетки» позволяет прекратить споры относительно того, можно ли выявить три четких слоя (внутренняя, средняя и наружная оболочки) в таких микрососудах, как капилляры. Для капилляров миокарда млекопитающих ответ автору этого обзора уже ясен: внутренняя оболочка, несомненно, представлена эндотелиальным цилиндром, средняя — телами перицитов и их отростками, а наружная — фибробластами и многочисленными элементами нервной ткани (включая леммоциты, которые выявляются в околососудистом пространстве).

Спектр тонких структурных признаков, характерных для периадотелиальных клеток, не ограничивается «микрососудами», соединяющими артерии и вены данного сердца, а дополняется также межвидовыми отличиями, как было показано во многих случаях, когда в анатомически эквивалентных сосудах сердца животных разных видов выявляли поразительные отличия формы и распределения ГМК (см. рис. 32.7 и 32.8). При использовании более эффективных методов сохранения препаратов становится ясно, что ГМК сосудов представляют собой значительно более сложные клетки, чем было показано в ранних электронно-микроскопических исследованиях. То же относится и к периадотелиальным клеткам другого типа, к перицитам, в которых при хорошей фиксации ткани удается выявить набор микрофиламентов, способных быть структурной основой сократительного аппарата. Поэтому не следует полностью исключить возможность, что в некоторой степени регуляция просвета сосудов происходит на всех уровнях кровеносной системы сердца.

Глава 33

ПАТОГЕНЕЗ АТЕРОСКЛЕРОЗА КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ

С. Д. ГЕРЦ, А. КУРГАН (S. D. GERTZ, A. KURGAN)

ВВЕДЕНИЕ

В США в течение 1974—1977 г. 52% всех случаев смерти было связано с заболеваниями сердечно-сосудистой системы [1]. Ишемическая болезнь сердца (ИБС) составляет 65% всех заболеваний сердечно-сосудистой системы и обуславливает каждый третий (34%) случай смерти в США за этот период. Увеличение заболеваемости ИБС в развитых странах в первые $\frac{2}{3}$ нашего века объясняют различными причинами, например снижением числа инфекционных заболеваний, «неоптимальной адаптацией к изменяющемуся стилю жизни» или успехами в диагностике. Хотя смертность от ИБС в США значительно снизилась (на 21%) за период 1968—1976 гг. [2, 3], частота заболевания не уменьшилась и ИБС до сих пор остается причиной большего числа случаев смерти, чем от других заболеваний.

ИБС является общим термином, включающим в себя все виды повреждения миокарда, обусловленного недостаточностью коронарного кровотока по сравнению с потребностью. Основной причиной этой недостаточности в 99% случаев является тромбоз коронарных артерий, вызванный атеросклеротическим стенозом (преимущественно атеросклерозом) коронарных артерий. Другие причины, в том числе тромбоэмболия, артерииты (сифилитический, ревматический, острый или полиартериит), врожденные аномалии коронарных сосудов или спазм «нормальных коронарных артерий», все вместе обуславливают лишь малую часть патогенетических факторов ИБС. Прогресс в понимании патогенеза атеросклероза частично затруднен в связи с тем, что болезнь начинается незаметно и имеет длительный период бессимптомного развития. К сожалению «бессимптомный» коронарный атеросклероз в большинстве случаев удается диагностировать только лишь после смерти от других причин или при ангиографии коронарных сосудов. Распространенность этого заболевания у мужчин в возрасте от 20 лет удалось показать лишь при проведении патологоанатомического исследования американских солдат — жертв войны в Корее. С этого времени были приложены значительные усилия для выяснения механизма патогенеза атеросклероза. Успешное решение этой проблемы существенно для увеличения периода активной жизни человека.

Цель этой главы состоит в освещении современных концепций, лежащих в основе теорий патогенеза атеросклероза, а также последних достижений в этой области. Для облегчения понимания проблемы в начале главы дан краткий обзор основных патологических изменений в коронарных сосудах при атеросклерозе.

СТЕНКА НОРМАЛЬНОЙ КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ

Стенка коронарной артерии, как и других артерий мышечного типа, состоит из трех четко различимых слоев, или оболочек: внутренней (интима), средней (медия) и наружной (адвентиция).

Внутренняя оболочка. Этот наиболее глубоко расположенный слой ограничен со стороны просвета обычно одним непрерывным слоем эндотелиальных клеток, которые сцеплены друг с другом с помощью ряда контактных комплексов различных типов, зависящих от локализации и калибра сосуда. Клетки слегка перекрывают друг друга по краям, что обеспечивает некоторый клеточный резерв для поддержания непрерывности слоя при чрезмерном расширении сосуда или при других механических воздействиях, связанных с нормальной пульсацией. Контакты между эндотелиальными клетками препятствуют прохождению через этот слой макромолекул, что доказывается непроницаемостью слоя для пероксидазы хрена. Небольшие макромолекулы, соответствующие по размерам липопротеидам низкой плотности, могут транспортироваться через эндотелий с помощью цепочек пиноцитозных пузырьков [4]; некоторые исследователи считают, что повреждение и разрыв этой системы транспорта вносят определенный вклад в накопление этих липидов в стенке артерий.

С внешней стороны эта оболочка ограничена внутренней эластической мембраной — перфорированным круговым слоем эластической ткани. Внутренняя эластическая мембрана в сосудах плода образует непрерывную трубку из эластической ткани, отдельные разрывы в которой появляются лишь через несколько дней после рождения перед началом дальнейшего развития средней оболочки [5]. Отверстия во внутренней эластической мембране диаметром 2—5 мкм, по-видимому, образуют специальные проходы для миграции клеток из средней оболочки в субэндотелиальное пространство. Эта точка зрения подтверждается результатами многочисленных работ, в которых показана морфологическая связь между фиброзно-мышечной гиперплазией внутренней оболочки, характерной для атеросклероза, и разрывами внутренней эластической мембраны.

Между эндотелием и внутренней эластической мембраной расположено большое количество свободных компонентов соединительной ткани, в том числе тонкая сеть соединительной ткани, или базальный слой, который часто довольно слабо развит. В отдельных точках этот слой прикрепляется к эндотелию через полудесмосомы. У плода и новорожденных эндотелий плотно прилегает к внутренней эластической мембране, однако вскоре после рождения субэндотелиальное пространство расширяется

вследствие поступления в него клеток и соединительной ткани, так что в главных коронарных артериях взрослых внутренняя оболочка составляет приблизительно $\frac{1}{6}$ от всей толщины стенки. Обычно в субэндотелиальном пространстве между двумя слоями, ограничивающими внутреннюю оболочку, лишь изредка удается обнаружить гладкомышечные клетки. Однако с увеличением возраста и в местах утолщения эндотелия (обычно около точек разветвления сосуда) количество гладкомышечных клеток возрастает.

Внутренняя оболочка, в частности эндотелий, обладает уникальным набором функций, предназначенных для поддержания целостности сосудистой системы. Некоторые исследователи считают, что функция эндотелия как атерогенной поверхности связана с секрецией эндотелиальными клетками тонкого слоя сложных углеводов, который обнаружен на поверхности эндотелия, обращенной к просвету. Такой гликокаликс обладает высоким сродством к рутению красному, и было показано, что этот слой тоньше в участках артериального дерева, склонных к развитию атеросклероза [6]. В последние годы признано, что атерогенность эндотелиальной поверхности, по крайней мере частично, обусловлена секрецией эндотелиальными клетками простаглицина (PGI_2) — мощного ингибитора агрегации тромбоцитов, а также секрецией антифактора VIII, нарушающего естественную свертываемость крови. К другим функциям эндотелия относятся: участие в тромболлизисе, регенерация и пролиферация в ответ на повреждение сосуда, контроль обмена жидкости и метаболитов различной молекулярной массы между кровью и окружающей тканью, участие в метаболизме липопротеидов и хиломикронов благодаря активности липопротеид липазы, а также создание барьера для клеток крови и других взвешенных в крови частиц [7, 8].

Средняя оболочка. Средняя оболочка артерии состоит преимущественно из гладкомышечных клеток, организованных в виде множества концентрических ламеллярных единиц. Коллаген и эластические волокна (а также гликозаминогликаны), окружающие гладкомышечные клетки, по-видимому, вырабатываются самими этими клетками [9—11]. Гладкомышечная клетка мультипотентна, способна к миграции, пролиферации и синтезу веществ, что обуславливает утолщение интимы при атеросклерозе. Внешняя дальняя от просвета сосуда, поверхность средней оболочки образована наружной эластической мембраной, которая не является сплошной, а в некоторых местах может и вовсе отсутствовать. Наличие эластической ткани существенно для механической адаптации артериальной стенки к повышению напряжения в фазе систолы и для эластического возврата к прежнему состоянию в фазе диастолы, что способствует более эффективному продвижению крови к дистальным сосудам и обеспечивает постепенное затухание пульсации потока в мелких сосудах.

Наружная оболочка. Этот внешний слой стенки коронарной артерии состоит из рыхлой соединительной ткани, образованной

пучками коллагеновых и эластических волокон попеременно с гладкомышечными клетками и фибробластами. Последние являются доминирующим типом клеток в этом слое. Здесь же выявляются *vasa vasorum*, проникающие, согласно Wolinsky и Glasgow [12], внутрь стенки, приблизительно до 29-й ламеллярной единицы средней оболочки. Область, в которую метаболиты и кислород поступают из *vasa vasorum*, распространяется еще дальше в глубь стенки, так что только самые внутренние слои средней оболочки получают кислород исключительно из просвета. Значение периваскулярных нервов и их окончаний, часто выявляемых в верхнем слое средней и в наружной оболочке коронарных сосудов и даже граничащих с перикардом на уровне капилляров, обсуждено в главе 32.

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СТЕНКЕ АРТЕРИЙ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Атеросклероз является одной из форм артериосклероза, при которой поражаются преимущественно крупные артерии, представляющей собой патогенетическую основу большинства случаев ИБС. С точки зрения патологической анатомии атеросклероз является преимущественно заболеванием внутренней оболочки стенки артерий, хотя вторичные изменения можно иногда обнаружить и в средней оболочке. Атеросклеротические поражения обычно подразделяются на 3 типа: жировые полосы, фиброзные бляшки и осложненные поражения [5, 6, 13—19].

Жировые полосы. Жировые полосы, или пятна, считаются наиболее ранними проявлениями атеросклероза, их можно обнаружить у любого человека старше 10 лет. Их количество возрастает вплоть до 30-летнего возраста, а общая занимаемая ими площадь увеличивается до конца жизни [17]. Такое поражение представляет собой необструктивное повреждение стенки, характеризующееся локальным скоплением в интиме небольшого количества гладкомышечных клеток, макрофагов и тучных клеток.

Жировые полосы обычно не распространяются в глубь стенки, занимая только очень тонкий слой. Желтый цвет этих пятен, обнаруживаемый макроскопически, связан с отложением липидов в клетках интимы, а также во внеклеточном пространстве. Жировые полосы распространяются по всему артериальному дереву, однако преимущественно концентрируются вблизи мест изгибов артерий и вокруг отверстий боковых ветвей [20].

Интересно, что макрофаги, выявляемые в зоне этих поражений, кроме множества других функций, обладают способностью секретировать коллагеназу и эластазу [21], что имеет особое значение, поскольку разрушение внутренней эластической мембраны считается одним из первых этапов атерогенеза [22].

Остается спорным вопрос, каково происхождение тучных клеток, количество которых возрастает по мере увеличения отложенных липидов: происходят они из гладкомышечных клеток или

макрофагов. Этот вопрос возник потому, что были обнаружены фагоцитарные свойства тучных клеток, их ультраструктурные признаки часто напоминают строение лейкоцитов, в частности моноцитов, а кроме того, они способны синтезировать и выделять кислые гидролазы и каталазы. Вместе с тем было показано, что гладкомышечные клетки в культуре ткани могут трансформироваться в тучные клетки после поглощения липидов. Fowler и соавт. [23] показали, что скорее всего эти клетки могут образовываться и из моноцитов, и из гладкомышечных клеток, причем чаще они образуются из последних.

Фиброзные бляшки. Фиброзные бляшки обычно рассматриваются как повреждение стенки, характерное для развитой формы атеросклероза. В коронарных сосудах такие повреждения обычно возникают позднее, чем в аорте, а в коронарных сосудах мужчин, как правило, раньше и выражены сильнее, чем у женщин.

При микроскопическом исследовании фиброзные бляшки выглядят белыми и обычно в разной степени выступают внутрь просвета сосуда, что объясняет их частое обозначение как «выступающие повреждения». Основным компонентом фиброзной бляшки являются гладкомышечные клетки, которые в большом количестве накапливаются в интиме, с различной степенью отложения липидов как внутри клеток, так и во внеклеточном пространстве. Между гладкомышечными клетками вплетаются коллаген, эластические волокна и гликозаминогликаны, количество которых может также варьировать, поэтому роль гладкомышечных клеток в утолщении интимы определяется не только их размножением и миграцией, но и синтезируемыми ими продуктами. Было выдвинуто предположение, что гликозаминогликаны, возможно, в комбинации с другими соединительнотканными компонентами принимают участие во внеклеточном накоплении липидов внутри бляшки и в средней оболочке сосудов [24].

Скапливающиеся в интиме гладкомышечные клетки, макрофаги, тучные клетки и межклеточное вещество образуют куполообразную фиброзную шляпку, покрывающую глубже расположенные остатки погибших клеток и внеклеточные отложения липидов. Фиброзные бляшки в сосудах, как правило, распределены не столь повсеместно, как жировые полосы, и гораздо чаще концентрируются в тех участках артериального дерева, где стенка подвергается действию повышенного напряжения сдвига, т. е. в местах искривления и разветвления сосудов. Таким образом, несмотря на то что во многих случаях жировые полосы и фиброзные бляшки имеют одинаковую анатомическую локализацию в коронарных артериях, причем первые появляются обычно раньше, тем не менее так происходит не всегда, поэтому представление о том, что жировые полосы являются несомненными предшественниками фиброзных бляшек, остается не подтвержденным. Было показано, что фиброзные бляшки с наибольшей частотой возникают в главных коронарных артериях непосредственно за коронарными синусами [25]; у 39 больных из 41 (до 40-летнего возраста), умерших от причин, не связанных с сердечно-сосудистыми

стыми заболеваниями, в коронарных сосудах были выявлены жировые полоски и фиброзные бляшки, занимавшие 5—10% площади интимы. Подавляющее большинство таких повреждений обнаружено на той части стенки сосуда, которая обращена к миокарду, а не к эпикарду. Атеросклеротические повреждения можно встретить во всех поверхностных артериях, но они обычно не встречаются в глубоких артериях, проходящих в толще миокарда [26].

Осложненные поражения. К осложненным поражениям относятся фиброзные бляшки, которые видоизменены вследствие усиления клеточного некроза, кальцификации и слущивания покрывающего бляшку эндотелия с образованием пристеночного тромба или разрыва стенки с кровоизлиянием.

Происхождение отложений кальция во внутренней оболочке, не считая возможности проникновения его в поврежденную интиму из просвета сосуда, может быть связано с теми ионами, которые высвобождаются при повреждении и некрозе гладкомышечных клеток. Другим возможным источником кальция могут быть разрушающиеся тромбоциты, имеющие внутриклеточные системы транспорта кальция, аналогичные существующим в гладкомышечных клетках [22].

Осложненные поражения могут приводить к ухудшению коронарной перфузии вследствие частичной или полной окклюзии сосуда из-за выпячивания бляшки далеко внутрь просвета или из-за образования тромба около пораженного участка, что может вызывать также окклюзию мелких коронарных сосудов дистальнее поражения вследствие отрыва тромбоцитов от пораженного участка или эмболизации. Развитие некроза в центре бляшки и накопление клеточного детрита часто сопровождаются ослаблением артериальной стенки, что может привести к расслоению стенки, образованию аневризмы, кровоизлиянию или появлению эмболов из фрагментов бляшки или других участков стенки сосуда, примыкающих к ней.

ЭНДОТЕЛИЙ И АТЕРОГЕНЕЗ

Регенерация эндотелия. Продолжительность жизни «нормальной» эндотелиальной клетки, определенная при изучении синтеза ДНК, варьирует от 100 до 180 сут для большинства участков сосудистого дерева, причем обновление клеток в местах изгибов или около отверстий боковых ветвей происходит в течение 60—120 сут [27]. Spaet и Gaynor [28] сообщают, что обновление эндотелиальных клеток происходит лишь несколько раз в течение жизни. Тем не менее эти авторы не отрицают, что скорость обновления эндотелия около отверстий ответвлений выше.

Способность эндотелия сосудов к регенерации изучалась очень интенсивно. Результаты ранних исследований повреждения эндотелия, проведенных Poole с соавт. (1958), позволили предположить, что заживление путем регенерации зависит от прорастания эндотелия от периферии повреждения [29]. Предполагалось

также, что источником клеток для регенерации эндотелия могут быть также лейкоциты крови [30]. Третья гипотеза, основанная на изучении регенерации после повреждения, нанесенного баллонным катетером, рассматривала возможность образования новых эндотелиальных клеток вследствие миграции в интиму и дифференциации гладкомышечных клеток [31]. В последующем Fishman и соавт. [32] методами сравнительной световой, сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии, когда удаление эндотелия вызывали кратковременным высушиванием клеток путем пропускания слабого потока воздуха, чтобы не повредить одновременно среднюю оболочку сосуда, было доказано, что регенерация эндотелия осуществляется за счет нарастания эндотелиальных клеток с периферии поврежденного участка. Однако при этом нельзя исключить возникновение новых эндотелиальных клеток из моноцитов крови. Более того, они обнаружили выраженное утолщение интимы, особенно в участках, еще не до конца покрытых регенерирующим эндотелием, но без отложений липидов. Изучалась сонная артерия крысы, которая, как обычно считается, не склонна к спонтанному атеросклерозу, что указывает на возможность и третьего способа регенерации — превращения гладкомышечных клеток в эндотелиальные.

Повреждение эндотелия. В настоящее время общепризнано, что атеросклероз развивается в участках первичного повреждения целостности эндотелиального слоя. Такое повреждение может привести к воздействию на субэндотелиальные ткани форменных элементов и растворенных веществ крови, инициируя таким образом, возникновение атерогенеза. Считается, что непосредственно повреждать эндотелиальные клетки или вносить вклад в такое повреждение может множество факторов. К ним относятся: значительное изменение pH, температуры или осмолярности [16]; ишемия [33, 34]; гипоксия [35]; сдавливание сосуда [36]; экспериментальная гипертензия [37]; отравление окисью углерода [38]; инъекции брадикинина, серотонина, адреналина, ангиотензина I и II, ацетоацетатной кислоты (метаболит, образующийся при диабете) и никотина [39], а также ряд механических манипуляций, включая окклюзию микрохирургическим зажимом [40]; введение баллонного катетера и даже прикосновение щетки из мягкой верблюжьей шерсти [16]. К другим факторам, способным вызывать повреждение эндотелия, относятся: гомоцистинемия [41]; эндотоксины [42], комплексы антиген — антитело [43], гиперлипидемия [44], форменные элементы крови, включая лейкоциты [45] и тромбоциты [46], сдавливание эндотелия при спазме артерии [47] и действие гемодинамических сил, связанных с частичным сужением просвета [48].

Обычно наблюдается небольшое число различных реакций эндотелия на такой широкий спектр повреждающих воздействий. К таким реакциям относятся, судя по результатам множества исследований с помощью световой и сканирующей или трансмиссионной электронной микроскопии, изменения, начиная от разрушения клеточной мембраны, очагового некроза, фрагментации

и сращивания клеток до структурных изменений отдельных клеток или непрерывности слоя клеток, не приводящих к обнажению субэндотелия, в зависимости от интенсивности и продолжительности вредных воздействий. К изменениям последнего типа относятся цитоплазматические вакуоли различных видов, псевдоподии окружающих эндотелиальных или подлежащих гладкомышечных клеток, образующие контакты с мембраной данной эндотелиальной клетки, выпячивания эндотелия различных размеров, выступающие в просвет сосуда, а также разрыв контактов между эндотелиальными клетками [16, 34, 36, 47].

Роль эндотелия в процессе атерогенеза состоит в его влиянии на толщину повреждения интимы, в регуляции транспорта липидов к месту формирования бляшки, а отсутствие эндотелия позволяет тромбоцитам прикрепляться к стенке и выделять различные вещества. Было показано, что утолщение интимы наиболее сильно выражено в тех участках, в которых не произошло восстановление эндотелиального слоя, а регенерация эндотелия, по-видимому, способствует регрессии признаков повреждения [49]. Благодаря системе везикулярного транспорта (переносящего молекулы диаметром до 100 нм), осуществляющей большую часть трансмурального транспорта липидов, концентрация липидов в стенке артерий, например в грудном отделе аорты, падает до $1/30$ от их концентрации в крови [50]. Изменения, затрагивающие эту систему транспорта при повреждении эндотелия или нарушении непрерывности эндотелиального слоя, вызывают воздействие на субэндотелиальные ткани значительно более высоких концентраций липидов, что может оказывать стимулирующее влияние на пролиферацию гладкомышечных клеток. Stemerman [16] обнаружил, что накопление липидов почти исключительно происходит в участках, находящихся под регенерирующим эндотелием. Таким образом, сложная взаимосвязь между эндотелием и накоплением липидов оказывается еще не до конца выясненной. Независимо от способа повреждения нарушение целостности эндотелиального слоя приводит также к прикреплению тромбоцитов к обнаженным субэндотелиальным тканям. Считается, что все эти тромбоциты способны стимулировать пролиферацию гладкомышечных клеток за счет выделения митогенного фактора (факторов) в ходе реакции высвобождения содержимого [13, 14].

ТЕОРИИ АТЕРОГЕНЕЗА: ВВЕДЕНИЕ

Scarpa (1804) и Lobstein (1833) [51] были первыми, кто дал патогенетическое описание атеросклероза и отметил его связь с ИИС. За прошедшее с тех пор время предложено множество теорий этиологии и патогенеза атеросклероза. В каждой из них авторы пытались выявить механизм(ы), ответственные за развитие какого-либо одного или всех патологических изменений, которыми характеризуется атеросклероз: пролиферацию гладкомышечных клеток, образование избытка соединительной ткани и отложение различных количеств липидов. Целью данного раздела

является описание основных теорий, пока еще не отвергнутых в результате исследований. Следует подчеркнуть, что ответа на вопрос о том, какой из предложенных механизмов является наиболее вероятным, пока не найдено. Более того, имеющиеся данные показывают, что в инициации атерогенеза может принимать участие большое число разнообразных патогенетических факторов как в отдельности, так и в комбинации друг с другом.

Поскольку современные представления о патогенезе атеросклероза все еще испытывают влияние двух основных теорий, выдвинутых в середине прошлого века, — тромбогенной и инфильтрационной, поэтому здесь мы начнем с краткого описания этих теорий.

Тромбогенная, или инкрустационная, теория. Эта наиболее старая теория была впервые предложена Von Rokitansky [52] и затем уточнена Duguid [53, 54]. Согласно данной теории, атерогенезу предшествует образование тромбов (содержащих тромбоциты, фибрин и лейкоциты) на поверхности интимы, которые затем включаются в состав стенки благодаря разрастанию эндотелия. Считается, что липиды, содержащиеся в бляшке, образуются из продуктов распада тромбоцитов и лейкоцитов, входящих в состав этих тромбов. На этой начальной стадии изучения патогенеза атеросклероза пролиферация гладкомышечных клеток еще не была обнаружена.

Инфильтрационно-воспалительная теория. Эта теория, выдвинутая Virchow [55, 56], утверждает, что атеросклероз инициируется локальным (механическим) повреждением внутренней оболочки, приводящим к усилению поступления (поглощение или инфильтрация) составных частей крови (клеточных и растворенных) из просвета артерии внутрь интимы и их накоплению в стенке. Virchow обнаружил, что такая инфильтрация приводит к развитию воспалительного процесса с отеком тканей стенки, «жировой дегенерации» клеток интимы и пролиферации элементов соединительной ткани в ответ на появление дегенеративного «мукоидного пула». Автор не считал при этом, что воспаление вызывается инфильтрацией липидов, как его неверно толкуют многие исследователи, наоборот, первым возникает повреждение интимы, создавая предрасположенность стенки артерии к увеличению проницаемости, после чего и развивается вторичный воспалительный процесс.

На этой стадии развития инфильтрационная теория не определяет точную форму, в которой липиды транспортируются в атерому. Dnitschkow [57, 58] показал, что добавление кроликам в пищу холестерина приводит к гиперхолестеринемии, а затем и к появлению в аорте «наполненных липидами повреждений». Таким образом, он модифицировал инфильтрационную теорию, предложив, что гиперхолестеринемия является инициирующим фактором атеросклероза, так как обнаружил компоненты атеросклеротической бляшки в виде холестерина и его эфиров. Таким образом, эта модификация теории гласит, что липопротеиды, содержащиеся в крови в повышенной концентрации, имеют тенденцию

оседать в интима и вызывать в результате изменения, типичные для атеросклероза. Другие факторы, механические и фармакологические, считаются при этом второстепенными. На основании этих наблюдений долгие годы существовало мнение, что решение проблемы атеросклероза зависит исключительно от выяснения и нормализации биохимических изменений липидов плазмы.

ЛИПИДЫ И АТЕРОСКЛЕРОЗ

Источник, состав и судьба липидов, накапливающихся в местах атеросклеротических поражений, были предметом большого числа исследований. При этом считали, что внеклеточные липиды сами по себе способны вносить вклад в инициацию процесса атерогенеза или же, наоборот, липиды представляют собой побочные продукты этого процесса. Было общепризнано, что большинство липидов, обнаруживаемых в стенке сосуда, поступают сюда, проходя через эндотелиальный «барьер» в форме липопротеидов, несмотря на существование данных в пользу происхождения некоторых липидов артериальной стенки из гладкомышечных клеток.

Общая структура липопротеидов носит название «псевдомицелл», состоящих из внешней поверхностной оболочки, образованной пептидами (апопротеины) и полярными липидами (неэтерифицированный холестерин, фосфолипиды и т. д.), и внутреннего ядра из неполярных липидов (эфир холестерина, триглицериды) [59]. Были выделены 5 основных типов липопротеидов плазмы, классификация которых основана на распределении по фракциям при центрифугировании или на их электрофоретической подвижности: 1) хиломикроны; 2) липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП) (пре- β -липопротеиды); 3) липопротеиды промежуточной плотности (ЛППП); 4) липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) (β -липопротеиды); 5) липопротеиды высокой плотности (ЛПВП) (α -липопротеиды). Все эти липопротеиды гетерогенны в отношении липидного состава, так что каждая из основных групп липидов плазмы (холестерин, триглицериды и фосфолипиды) представлена в липопротеидах всех типов, однако их относительное содержание таково, что в хиломикронах в ЛПОНП основными липидами являются триглицериды, причем в ЛПОНП концентрация триглицеридов ниже. В ЛПНП наибольшую концентрацию составляет холестерин, в то время как в ЛПВП преобладает белковая фракция, а следующим по относительному содержанию компонентом являются фосфолипиды. Основная функция липопротеидов плазмы заключается в переносе синтезированных и полученных с пищей холестерина и триглицеридов к местам их использования и хранения [59—62].

Общепризнано, что основной компонент липидов в атероматозной бляшке образуется из холестерина крови в виде ЛПНП. Триглицериды и фосфолипиды, также поступающие в стенку артерий в составе ЛПНП и ЛПОНП и, кроме того, синтезируемые и метаболизируемые в ткани стенки, являются относительно небольшим компонентом липидов большинства атероматозных бляшек [63]. Тем не менее в ряде работ было показано, что существует достоверная корреляция между гипертриглицеридемией и поражением коронарных сосудов [64] и, кроме того, в местах атеросклеротических поражений сосудов человека были обнаружены апопротеины, характерные для ЛПОНП [65, 66].

После того как был обнаружен холестерин (свободный и эстерифицированный в атероматозных поражениях) [57, 58, 64], гиперхолестеринемия стала считаться важным фактором риска развития атеросклероза. Известно, что у лиц с семейной гиперхолестеринемией накопление холестерина в стенке артерий происходит быстрее и в более раннем возрасте проявляются клинические признаки сердечно-сосудистого заболевания [67, 68]. В результате большого числа эпидемиологических исследований получены доказательства высокой степени корреляции между гиперхолестеринемией, вызванной поступлением холестерина с пищей, и повышенной предрасположенностью к поражению коронарных сосудов [69]. Более того, экспериментальные исследования с использованием диет с высоким содержанием холестерина подтвердили, что при этом происходит накопление холестерина в стенках крупных артерий, сопровождающееся другими патологическими признаками, характерными для развитого атеросклероза [70]. Доказательство накопления ЛПНП, основных переносчиков эндогенного холестерина, в атеросклеротических поражениях стенки артерий было получено при обнаружении в них апопротеина (Апо-В), характерного для ЛПНП [71, 72].

Для лучшего понимания современной гипотезы о роли липидов (особенно ЛПНП) в генезе атеросклеротической бляшки кратко опишем основные стадии взаимодействия ЛПНП с клетками [73]: (а) ЛПНП связываются с клеткой с помощью специализированных мембранных рецепторов, обладающих высоким сродством к ЛПНП; (б) ЛПНП поступает внутрь клетки, по-видимому, с помощью эндоцитоза, где они сливаются с первичными лизосомами; (в) ЛПНП расщепляются на белки и эфиры холестерина; (г) белки расщепляются на свободные аминокислоты, которые покидают клетку; (д) эфир холестерина гидролизуются до свободного холестерина, который поступает из лизосом в цитоплазму; (е) этот холестерин угнетает эндогенный синтез холестерина, стимулирует эстерификацию с образованием холестеринового «запаса» и угнетает синтез новых рецепторов для ЛПНП, что ослабляет взаимодействие клетки с ЛПНП.

Как отметил Steinberg [73], было выдвинуто предположение о дефиците рецепторов для ЛПНП у больных с семейной гиперхолестеринемией (фенотип IIa), что, по-видимому, позволяет объяснить высокую концентрацию ЛПНП в крови этих больных. Связь между таким дефицитом рецепторов и ускоренным развитием атеросклероза, наблюдающимся у этих больных, остается неясной. Ross и Harker [44] выдвинули интересное предположение о том, что сама по себе хроническая гиперлипидемия может инициировать атерогенез, вызывая повреждение эндотелиальных клеток.

Возможная атерогенность хиломикронров (содержащих экзогенный холестерин и триглицериды) обсуждалась Zilvermit [72], который выдвинул гипотезу, что взаимодействие липопротеидов, богатых триглицеридами, с артериальной липопротеидлипазой представляет собой атерогенный процесс. Согласно этой гипотезе,

хиломикроны могут связываться с субэндотелием, обнаженным в результате потери эндотелиальных клеток. После этого триглицериды гидролизуются липопротеидлипазой, а богатые холестерином остатки хиломикронов захватываются гладкомышечными клетками артерий.

Между содержанием в плазме ЛПВП и атеросклеротическим поражением коронарных сосудов была выявлена отрицательная корреляция. ЛПВП могут оказывать антиатерогенное действие, как полагают, путем обратного транспорта холестерина из клеток к печени, где он катаболизируется и в итоге выводится из организма [74]. Патологические изменения молекул ЛПВП могут быть обычной причиной раннего развития атеросклероза [59, 74].

В заключение перечислим наиболее широко признанные теории относительно факторов, ответственных за накопление липидов в стенке крупных сосудов: а) нарушение функции мембранного рецептора к ЛПНП; б) изменение чресклеточного (эндоцитозного) транспорта липопротеидов; в) повреждение механизма разрушения липопротеидов в лизосомах; г) изменение проницаемости эндотелия [62]. Несмотря на то что накопление липидов в стенке сосуда является несомненным, главным фактором развития атеросклеротической бляшки и что гипотеза инфильтрации липидов заняла практически главенствующее положение при изучении атеросклероза в нашем веке, тем не менее остается ряд существенных вопросов. К ним относятся: несостоятельность попыток воспроизвести известные осложнения при атеросклерозе человека, включая изъязвление бляшки и тромбоз, на моделях повреждений, вызываемых диетой с высоким содержанием холестерина; большие различия между гистологическими характеристиками атероматозных поражений у человека при атеросклерозе, вызванном диетой, и при «спонтанном» атеросклерозе, а также тот факт, что накопление липидов в стенке артерий выявляется у животных разных видов и у человека без какого бы то ни было повышения уровня липидов в плазме крови [75]. Кроме того, несмотря на предположение о существовании причинной связи между липидной инфильтрацией и пролиферацией гладкомышечных клеток, адекватное объяснение пролиферации, представляющей собой один из важнейших, если не главный компонент роста атеросклеротической бляшки, отсутствует.

ТЕОРИИ ДЕГЕНЕРАЦИИ И СТАРЕНИЯ КЛОНА

Считается, что «теория дегенерации» была первоначально выдвинута Тома в 1833 г. [76], который предположил, что компоненты атеросклеротической бляшки являются продуктами дегенерации элементов соединительной ткани стенки артерий. В стенке артерий действительно удается выявить признаки бляшки [77, 78], и в самом деле старение является бесспорным фактором риска. Вместе с тем известно, что атеросклеротические поражения сосудов возникают и в молодом возрасте в отсутствие каких-либо признаков дегенерации тканей.

Еще одна теория, родственная предыдущей, называется «теорией старения клона». Martin и Sprague [79] предположили, что атерогенез определяется уменьшением активности стволовых клеток. Согласно этой теории, пролиферация гладкомышечных клеток интимы в норме контролируется с помощью обратной связи посредством кейлонов — эндокринных веществ, ингибирующих митоз и, возможно, секретируемых самими гладкомышечными клетками [78]. С возрастом нарушается адекватность замены гладкомышечных клеток, что приводит к отказу этой ингибирующей управляющей системы, и происходит «бесконтрольная» пролиферация гладкомышечных клеток.

МОНОКЛОНАЛЬНАЯ ТЕОРИЯ

Benditt и Benditt [80] выдвинули предположение, что каждое отдельное атеросклеротическое поражение представляет собой клон одной единственной гладкомышечной клетки, являющейся предшественницей всех последующих клеток. Основанием для такого предположения послужило их наблюдение о том, что в клетках большинства атеросклеротических поражений сосудов человека с дефицитом активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) удается обнаружить лишь какой-либо один из двух изоферментов Г-6-ФДГ, в то время как в большинстве тканей здорового человека присутствуют оба изофермента. Согласно этой теории, каждая атеросклеротическая бляшка является доброкачественным новообразованием, происходящим из клетки, подвергшейся мутации вследствие некоторого вредного воздействия, например действия химического соединения или вирусной инфекции [81].

Несмотря на то что эту теорию поддерживают немного исследователей, она до сих пор не опровергнута. Аргументы, свидетельствующие против этой теории пролиферации гладкомышечных клеток, состоят в том, что систематическое обнаружение во всем участке отдельного поражения изофермента лишь одного фенотипа не обязательно означает моноклональную природу всех клеток в этом участке, так как предшественниками отдельного поражения могут быть несколько клеток с одним и тем же изоферментом [82].

ИММУННЫЕ МЕХАНИЗМЫ В ИНИЦИАЦИИ АТЕРОГЕНЕЗА

Предположение о значении иммунных механизмов в атерогенезе основано преимущественно на их участии в возникновении повреждений стенки артерий, в частности эндотелия [43]. Известно, что в эндотелии присутствует некоторое количество антигенов, включая антигены АВ0, антиген фактора VIII, антиген α_2 -макроглобулина и антиген тромбопластина [16]. Считается, что наличие такого широкого спектра антигенов на эндотелиальной

поверхности позволяет по крайней мере частично объяснить подверженность эндотелия этого рода повреждениям [16]. Свидетельства о возможности повреждения стенки артерии, связанного с иммунными механизмами, были получены в исследованиях отторжения трансплантатов, например в случае пересадки почки у человека или хронических неудач пересадки сердца [43, 83], когда в артериях всех размеров выявляются пролиферация клеток интимы и отложение липидов. Что касается циркулирующих аутоиммунных антител, то имеются данные о существовании антигенов, специфических к интиме артерий. Например, при ревматизме, кроме хорошо известных гистологических изменений, связанных с кальцификацией створок аортального и атриоventрикулярного клапанов, выявляются также изменения, характерные для атеросклероза, наряду с собственно ревматическим артериитом коронарных сосудов. Предполагается, что в инициации повреждения стенок артерий принимает участие реакция задержанной гиперчувствительности, что подтверждают данные об инфильтрации стенки небольшими лимфоцитами и развитием фибриноидного некроза и о связи таких повреждений с развитием гипертензии и ее последствиями [84]. Циркулирующие комплексы антиген — антитело также, по-видимому, участвуют в атерогенезе, так как хорошо известно, что они способны вызывать повреждение тканей. При заболеваниях, вызванных иммунными комплексами, установлено развитие артериитов [85], а при сывороточной болезни в коронарных артериях и в участках разветвления аорты выявляются поражения, напоминающие атеросклероз [86]. Полагают, что сходство распределения повреждений, вызываемых иммунными комплексами, с распределением «спонтанных» поражений связано с тем, что отложение как липопротеидов, так и иммунных комплексов в стенке определяется одними и теми же гемодинамическими механизмами и механизмами изменения проницаемости [43]. Повреждение артерий иммунными комплексами может быть также обусловлено активацией комплемента и внедрением полиморфных лейкоцитов, следствием чего является фибриноидный некроз стенки артерий. Несмотря на то что значительная инфильтрация полиморфными лейкоцитами считается патогномичной для атеромы, Mińick и соавт. [87] и Howard и соавт. [88] показали, что для атеросклеротических поражений, вызванных одновременно двумя факторами — аномалиями иммунных комплексов и избытком жира в пище, характерны как пролиферация гладкомышечных клеток, так и отложения липидов в стенке, что свойственно гистологии атеросклероза человека. Предполагается также, что иммунные комплексы могут вносить дополнительный вклад в атерогенез посредством тромбогенных механизмов: путем агрегации и активации тромбоцитов и инициации реакции высвобождения [89].

Несмотря на то что роль иммунных комплексов в инициации атерогенеза у экспериментальных животных хорошо установлена, выяснение их участия в развитии этого заболевания у человека требует дополнительных исследований. Кстати, интересно напом-

нить, что у больных с моноклональной гаммаглобулинопатией была обнаружена гиперлипидемия, вызванная аутоиммунной реакцией, например ингибированием липопротеидлипазы аутоиммунными антителами к гепарину [90]. Неясно, однако, в какой степени аутоиммунная гиперлипидемия существенна для развития атеросклероза человека. Тем не менее это лишний раз подчеркивает серьезный недостаток данных относительно роли иммунной системы в патогенезе атеросклероза.

РОЛЬ ТРОМБОЦИТОВ В АТЕРОГЕНЕЗЕ И ТЕОРИЯ РЕАКЦИИ НА ПОВРЕЖДЕНИЕ

Эта теория, недавно поддержанная Ross и соавт. [13—15], представляет собой синтез представлений, взятых из ряда других теорий, и основана на предположении, что атерогенезу предшествует нарушение целостности эндотелиального слоя. В самом деле предположение о повреждении интимы артерий как о первой стадии атерогенеза является составной частью теории липидной инфильтрации и тромбогенной теории.

Согласно этой теории, повреждение эндотелиального слоя независимо от того, происходит ли оно непрерывно или циклически, может быть столь слабым, что в результате нарушается только проницаемость эндотелия без явных морфологических изменений или существенного разрушения эндотелия в виде фрагментации клеток или их слущивания. Такое изменение проницаемости приводит к воздействию на субэндотелий повышенной концентрации компонентов плазмы крови, в том числе различных фракций липопротеидов, а также к связыванию тромбоцитов с обнажившейся субэндотелиальной соединительной тканью. Высвобождение продуктов тромбоцитов приводит к дальнейшей агрегации тромбоцитов и образованию тромба. Согласно Ross и соавт., одним из компонентов реакции вследствие агрегации тромбоцитов является высвобождение митогенного фактора (показано, что это положительно заряженный белок с низкой молекулярной массой порядка 10 000—30 000 дальтон), стимулирующего пролиферацию гладкомышечных клеток. Несмотря на наличие данных, опровергающих необходимость участия тромбоцитов в развитии этого пролиферативного процесса [91], показано, что в отсутствие тромбоцитарного фактора роста компоненты плазмы не способны поддерживать пролиферацию гладкомышечных клеток. Таким образом, упомянутое взаимодействие компонентов плазмы крови и (или) тромбоцитарных факторов с гладкомышечными клетками артерий приводит к пролиферации последних с очагами миграции их из меди в интиму через естественные или патологические отверстия во внутренней эластической мембране, а также к дальнейшей пролиферации гладкомышечных клеток, уже присутствующих в интиме. Такая пролиферация, сопровождающаяся ускоренным образованием новых компонентов соединительнотканного матрикса этими гладкомышечными клетками, приводит к фиброз-

по-мышечной гиперплазии интимы, патогномичной для атеросклероза.

Подтверждение пролиферативного влияния продуктов, высвобождающихся из тромбоцитов, на гладкомышечные клетки было также получено в исследованиях Мооге и соавт. [92], при которых у кроликов с помощью антител к тромбоцитам вызывали тромбоцитопению. После разрушения эндотелиального слоя у таких животных практически не наблюдали пролиферации гладкомышечных клеток, а развитие атеросклеротических поражений и фиброзных бляшек было полностью подавлено. Исследования на свиньях, гомозиготных в отношении болезни Вилленбранда (ангиогеомофилия), при которой нарушена способность тромбоцитов прикрепляться к субэндотелию, показали, что у них не возникает атеросклеротических поражений, несмотря на гиперхолестеринемию, вызванную соответствующей диетой [93]. При гиперхолестеринемии обычных свиней без болезни Вилленбранда развивается тяжелая форма атеросклероза. Вместе с тем последующее исследование подверженности атеросклерозу коронарных сосудов свиней с болезнью Вилленбранда при повреждении эндотелия баллонным катетером и использовании атерогенной диеты не выявило различий между животными, подвергавшимися воздействию, и контрольными [94]. На основе исследований с использованием среды, состоящей из эндотелиальных клеток, было выдвинуто предположение о том, что сам эндотелий может способствовать пролиферации гладкомышечных клеток [95, 96]. Предполагается также, что источником митогенного фактора для пролиферации фибробластов при заживлении ран могут быть макрофаги [97]. Естественно возникает вопрос, не могут ли эти клетки аналогичным образом влиять на гладкие мышцы.

Последние исследования показывают, что тромбоциты могут также высвобождать тромбоксан A_2 , один из многих видов простагландинов, производных арахидоновой кислоты. Тромбоксан A_2 обладает сильным сосудосуживающим действием и стимулирует агрегацию тромбоцитов. Однако следует напомнить, что предшественник тромбоксана A_2 в эндотелиальных клетках может быть превращен в другой вид простагландинов, в простаглицлин (PGI_2), который способствует вазодилатации и ингибирует агрегацию тромбоцитов, по-видимому, увеличивая содержание в них цАМФ [73, 98, 99]. Это еще больше подчеркивает важное значение интактности эндотелия для структурной и функциональной целостности стенки сосудов. Несмотря на существенные доказательства пролиферативной роли продуктов, высвобождающихся из тромбоцитов в процессе атерогенеза, имеющиеся в настоящее время сведения о защитном действии факторов, угнетающих агрегацию тромбоцитов при экспериментальном атеросклерозе, и, в частности, факторов, предотвращающих их первичную адгезию, пока являются лишь в какой-то мере обнадеживающими, так как многие данные сейчас противоречат этой точке зрения [100, 101].

В соответствии с гипотезой реакции на повреждение можно предложить другое вероятное объяснение большей тяжести и

распространенности атеросклероза у животных, находящихся на гиперлипидемической диете, основанное на обнаруженном недавно влиянии гиперхолестеринемии на агрегацию тромбоцитов. Carvalho и соавт. [102] сообщили о том, что агрегация тромбоцитов при действии адрепалина усиливается в 25 раз у больных с гиперлипидемией II типа. В другой работе сообщалось о значительном усилении агрегации тромбоцитов, вызываемой АДФ, при использовании диеты с высоким содержанием холестерина [103]. Более того, у лиц, использующих пищу с низким содержанием жиров и холестерина, значительно ослабляется агрегация тромбоцитов, вызываемая коллагеном и тромбином [104]. Хорошо известно накопление липидов в участках повреждения эндотелия животных, получающих большое количество холестерина с пищей. Вместе с тем Моого и соавт. [92, 105] обнаружили множество атеросклеротических поражений сосудов у животных с нормальным уровнем липидов в крови после многократного повреждения эндотелия при катетеризации. Такие поражения могут иметь вид жировых полосок, бляшек с выраженным отеком, фиброзных бляшек (без отложений липидов), а также развитых поражений с внутри- и внеклеточными отложениями липидов, частично или полностью покрытых формирующимися тромбами. Уже через 2 нед в таких поражениях удается выявить щели, заполненные холестерином. Таким образом, имеются данные о том, что накопление липидов в участках атеросклеротических поражений не зависит от содержания холестерина в плазме крови; оно может наблюдаться и у некоторых животных, получающих нормальную пищу, при условии многократного повреждения целостности эндотелия [92].

Но существует и другая взаимосвязь этих факторов, обусловленная тем, что гиперлипидемия сама по себе способна вызывать повреждение эндотелиальных клеток, как было показано в ряде исследований [44, 73, 92, 102].

Пролиферация гладкомышечных клеток артерий крыс происходит только в тех участках сосудов, в которых для регенерации эндотелия необходимо более 7 сут [47]. Таким образом, было выдвинуто предположение о возможном существовании «критического размера повреждения», т. е. для инициации пролиферации гладкомышечных клеток необходимо слушивание участка эндотелия определенного размера. Эта точка зрения получила подтверждение в исследованиях, показавших, что обнажение субэндотелия на участке шириной около 20 клеток не вызывает пролиферацию гладкомышечных клеток [106, 107]. Отсюда возникает другой вопрос, является ли митогенное воздействие тромбоцитов мгновенным или же для инициации пролиферации необходимо накопление митогенного вещества в течение длительного времени [47].

Существенное дополнительное подтверждение гипотезы реакции на повреждение было получено на основе данных, касающихся влияния гемодинамических сил на стенку артерий, что обсуждается в следующем разделе.

ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ В АТЕРОГЕНЕЗЕ

Предположение об участии гемодинамических факторов в инициации атеросклероза было выдвинуто на основании хорошо известной тенденции атероматозных поражений концентрироваться в изгибах артерий и вокруг отверстий в участках разветвления. Показано, что в этих участках повышена проницаемость интимы, о чем свидетельствует повышенное накопление синего Эванса в интимае и прилежащих слоях меди [108]. Распределение участков повышенной проницаемости соответствует местам отложений липидов в интимае, как показано с помощью окраски суданом коронарных артерий животных, находившихся на атерогенной диете [20]. В таких областях очень часто возникают атеросклеротические бляшки [108]. Сообщалось также о повышении скорости обложения эндотелия около отверстий боковых ветвей [27, 109], а чувствительность этих клеток к изменению характера потока проявляется в изменчивости ориентации оси клеток [110]. С помощью сканирующей электронной микроскопии около отверстий боковых ветвей сосудов животных, получающих нормальное питание, удалось выявить поврежденные эндотелиальные клетки. Степень такого повреждения может варьировать от кратероподобных или куполообразных дефектов везикул до очаговых участков слущивания клеток [34, 108, 111, 112]. Показано также, что именно в этих участках происходят агрегация тромбоцитов [113] и скопление лейкоцитов, особенно моноцитов [114].

Считается, что гемодинамические силы влияют на стенку артерий в соответствии с двумя основными механизмами: а) напряжение сдвига: действует параллельно оси сосуда и представляет собой силу воздействия на эндотелий прилегающего потока крови; б) сила бокового давления: действует перпендикулярно оси потока. Полагают, что эта сила облегчает взаимодействие клеточных элементов и растворенных компонентов крови со стенкой сосуда.

Сила сдвига. Это сила трения крови о внутреннюю поверхность сосуда, не зависящая от турбулентности потока. Она пропорциональна вязкости крови и скорости кровотока и обратно пропорциональна радиусу просвета. То, что такая сила способна вызывать повреждение стенки сосудов, было предположено на основании результатов ряда исследований функциональных и структурных изменений эндотелиального слоя в участках изгибов артерий и около отверстий боковых ветвей [20, 27, 108, 111]. Эти выводы подтверждаются классическими работами Fry, в которых для острого сужения просвета артерий использовали внутрисосудистую пробку с канавкой, вырезанной с одной стороны [115]. Автор сообщил, что когда сила сдвига со стороны крови достигает 379 ± 85 дин/см² («острая сдирающая нагрузка на эндотелиальную поверхность»), происходит быстрое повреждение клеток, приводящее к очаговому или сплошному слущиванию эндотелия. Сила сдвига такой величины (равная сдирающей нагрузке на эндотелиальный слой или превышающая ее) может возникать и в:

условиях *in vivo* как предполагалось ранее [48, 108]. Это особенно справедливо для таких артериальных систем с сильной пульсацией крови, как коронарные артерии, известные многочисленными анатомическими искривлениями и резким сужением и часто подверженные быстрым, резким и большим флуктуациям скорости и потребности в кровотоке [26]. Считается также, что напряжение сдвига имеет большую величину в местах сужений артерий, например при коарктации аорты, атеросклеротическом стенозе или спазме артерий. В недавней работе при одновременном использовании сканирующей электронной микроскопии и регистрации кровотока обнаружили повреждения эндотелия в участке частичного (50%) сужения коронарной артерии [48]. Диапазон повреждений колебался от везикулярных дефектов (кратеры и шаровые вздутия) до сдувания эндотелия, они были сильнее выражены в проксимальной части сужения, где должны быть наибольшие силы сдвига. В местах локального сужения на обнаженной поверхности субэндотелия были обнаружены скопления тромбоцитов и тромбы, несмотря на то (а возможно, и вследствие того) что сужение диаметра артерии было недостаточным, чтобы повлиять на скорость кровотока дистальнее места сужения.

Силы бокового давления. Считается, что при увеличении бокового внутрисосудистого давления, сопровождающего гипертензию, повреждение стенки сосуда происходит двумя основными путями. Так, известно, что роль эндотелиальных клеток в транспорте липопротеидов плазмы крови частично опосредована липопротеидлипазой, которая, как предполагают, находится на поверхности эндотелия. Повышенное боковое давление, особенно при гипертензии, может изменять транспорт липидов либо путем прямого разрушения эндотелиального барьера проницаемости, либо косвенно, посредством некоторого минимального повреждения клеток, нарушающего нормальные метаболические процессы. Исследования экспериментальной гипертензии показали, что при повышении артериального давления увеличивается проницаемость стенки сосудов для липидов, особенно у животных с экспериментальным атеросклерозом [116—118], и образование атеросклеротических поражений у таких животных (как в крупных, так и в мелких сосудах) выражено сильнее, чем у контрольных животных без гипертензии [118].

Большое число исследований посвящено изучению патологических изменений стенки сосуда, связанных с гипертензией у животных (спонтанной и экспериментальной) и человека. У крыс со спонтанной гипертензией были обнаружены утолщение интимы с гиалинизацией и фиброзом, а также гиперплазия и гипертрофия меди, что в итоге приводит к увеличению общей толщины стенки сосудов, сопровождающемуся в некоторых случаях полной окклюзией просвета [119]. Haudenschild и соавт. [120] при изучении сосудов крыс, получавших дезоксикортикостерон (ДОК) с избытком соли, и крыс со спонтанной гипертензией с помощью сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии обнаружили и у тех, и у других животных изменения в интимае, судя по

нарушению формы эндотелиальных клеток: утолщение субинтимального слоя вследствие накопления внеклеточного вещества, в том числе осажженных белков плазмы, сетчатую базальную мембрану, коллагеновые волокна и фрагменты эластических волокон, по-видимому, попадающие из крови наряду с образованием их в самой стенке. Интересно, что устранение причины гипертензии (ДОК+соль) и нормализация артериального давления, даже при последующем длительном содержании на бессолевой диете, не приводят к заметной регрессии таких изменений интимы, т. е. однажды индуцированное повреждение стенки сосудов не может быть полностью устранено и эти участки будут служить очагами последующего более сильного поражения стенки сосудов. Было также показано, что при гипертензии возрастает проницаемость артерий эластического и мышечного типа, на что указывают усиление везикулярного транспорта и поступление белков через межклеточные контакты и разрывы эндотелиального слоя [121—123].

В заключение отметим, что повышение артериального давления может влиять на проницаемость внутренней оболочки в результате: а) повышения давления фильтрации; б) растяжения эндотелиальной поверхности и увеличения проницаемости эндотелия; в) прямого механического разрушения эндотелия, приводящего к обнажению субэндотелиальных слоев. С помощью микроскопических исследований выявлено большинство (если не все) известных гистологических изменений внутренней и средней оболочки сосудов при гипертензии, характерных для атеросклероза. Более того, многократно подтверждалось, что значение гипертензии как фактора риска атерогенеза, особенно на фоне ИБС и сосудистых поражениях мозга, возрастает по мере повышения артериального давления; и наоборот, риск атеросклероза, по-видимому, уменьшается при терапевтическом снижении артериального давления.

ВАЗОКОНСТРИКЦИЯ, ВАЗОСПАЗМ И АТЕРОГЕНЕЗ

Обнаружение влияния гемодинамических сил на целостность сосудистой стенки позволило глубже понять взаимосвязь между сужением артерий, например в случае атеросклеротического стеноза или спазма коронарных сосудов, и патогенезом ИБС. Накоплено большое количество данных, свидетельствующих о важном, если не первостепенном, значении спазма коронарных сосудов как причинного фактора нестабильной стенокардии Принцметала [124—126], а также как фактора, вносящего вклад в классическую стенокардию и острый инфаркт миокарда [127—129]. Была выдвинута гипотеза, что вероятность инициации ишемии миокарда в таких случаях зависит от степени ухудшения кровотока в дистальных коронарных сосудах при уменьшении диаметра просвета. Однако в результате ряда работ была предложена модификация этой гипотезы [48, 108, 130]. Спазм коронарных сосудов может приводить к ишемии и(или) инфаркту миокарда не только вследствие «критического» сужения артерии, когда существенно

уменьшается коронарный кровоток, но также в результате значительного повреждения эндотелия, которое может развиваться даже (а возможно, и исключительно), если уменьшение диаметра просвета недостаточно, чтобы изменить величину кровотока в дистальных коронарных сосудах. При таком повреждении эндотелия в месте спазма или сужения образуется тромб, в результате чего возможна частичная или полная окклюзия артерии в данном месте (особенно если тромб образуется на участке, занятом атеросклеротической бляшкой) или окклюзия мелких коронарных артерий дистальнее места образования тромба вследствие смыкания тромбоцитов или эмболии.

Особое значение имеют результаты, полученные Turitto и Baumgartner [131], показавшими, что скорость и степень образования тромбоцитарных микротромбов на обнаженном субэндотелии возрастают при увеличении скорости сдвига, вплоть до наибольшей проверенной скорости, равной 10 000 в 1 с. Не ясно, приведет ли дальнейшее увеличение скорости сдвига к дополнительному повышению скорости и степени образования тромба и начиная с какой величины повышение напряжения сдвига будет способствовать эмболизации. В любом случае результаты последней работы обеспечивают дополнительное подтверждение предположению о том, что частичное локальное сужение артерии, например в случае спазма, является наиболее благоприятным местом для существенного повреждения эндотелия, скопления тромбоцитов и образования тромба — это возможно, в частности, если уменьшения диаметра просвета недостаточно для изменения скорости кровотока. Наконец, необходимо подтвердить развитие этих последствий увеличения напряжения сдвига (значительное повреждение эндотелия и образование тромба) в местах атеросклеротического стеноза, что могло бы быть еще одной причиной внезапного ухудшения коронарной перфузии.

Гипотеза о том, что спазм коронарных артерий способен сам по себе вносить вклад в инициацию атерогенеза, была выдвинута вследствие выявления повреждения эндотелия и скопления тромбоцитов в участках спазма в экспериментальных системах [48]. Что же касается гипотезы реакции на повреждение, то повреждение эндотелия в участках спазма (вследствие механического воздействия напряжения сдвига или сдавливания эндотелия из-за сужения сосуда) будет вызывать прикрепление тромбоцитов к обнажившимся субэндотелиальным тканям, инфильтрацию липопротеидами и заполненными липидами макрофагами, а также пролиферацию и миграцию в интиму гладкомышечных клеток медиа. Подтверждение этой гипотезы было получено Gutstein и соавт. [132], которые показали, что у крыс, аорта которых подвергалась многократным сужениям, выявляются фиброзные повреждения кальцификацией и многочисленные повреждения, характерные для промежуточных стадий атерогенеза. Betz и Scholte [133] обнаружили возникновение атеросклеротических поражений после вазоконстрикции, вызванной электрической стимуляцией.

К сожалению, очень мало клинических данных относительно

той патогенетической связи [134]. Marzilli и соавт. [135] описали случай, когда у больного после спонтанно развившегося спазма коронарной артерии в том же месте через 8 мес возник фиксированный стеноз. Как подчеркнул Gutstein [136], экспериментальные данные о связи между коронароспазмом и атеросклерозом существуют, и эта связь должна быть подтверждена. Несмотря на то что частота ИБС обычно считается незначительной, последние клинические работы показывают, что эта величина может быть значительно больше, чем считалось ранее [127, 129, 130]. Таким образом, подтверждение патогенетической связи между спазмом сосудов и атеросклерозом должно существенно поднимать значение спазма в патогенезе классической стенокардии и инфаркта миокарда.

* * *

Предложено множество механизмов атерогенеза, однако почти все они утверждают, что первопричиной являются нарушения структурной или функциональной целостности эндотелиального слоя (рис. 33.1). Ряд последних работ нацелен на выяснение природы повреждения эндотелия, которое может предшествовать развитию более тяжелых форм поражения стенки сосудов. Однако пока еще не удалось идентифицировать повреждения эндотелия, предшествующие более тяжелому поражению сосудов или связанные с ним, приводящему к ИБС у человека, и данные, которыми мы располагаем, относятся исключительно к области экспериментальных моделирующих систем. Следовательно, даже если предположить, что первопричиной является повреждение эндотелия, его природа у человека *in vivo* остается неясной, поэтому невозможно надежно проверить методы его лечения или предотвращения.

Предотвращение атеросклероза в клинике затруднено вследствие ряда факторов. Прежде всего мы все еще не располагаем эффективными надежными неинвазивными методами для оценки атеросклеротических поражений *in vivo*. Пока не доказана абсолютная надежность для этих целей ультразвуковых методов и ангиографии в сочетании со сканированием после инъекции меченых маркеров, и они совсем не применимы для оценки повреждений эндотелия. Это не позволяет нам проследить развитие поражений у одного и того же больного, а следовательно, не удается получить эффективную оценку потенциально антиатеросклеротических препаратов. Поэтому до сих пор все усилия по лечению атеросклероза коронарных сосудов были сконцентрированы преимущественно на фармакологических вмешательствах и диете питания, нацеленных на устранение или снижение уровня одного или нескольких из 246 известных факторов риска развития ИБС [138]. Усилия должны быть направлены на возможность локального вмешательства на уровне артерий с целью предотвращения или регрессии исходного повреждения эндотелиальных клеток, угнетения или задержки массивной пролиферации гладкомышечных клеток, а также модификации транспорта

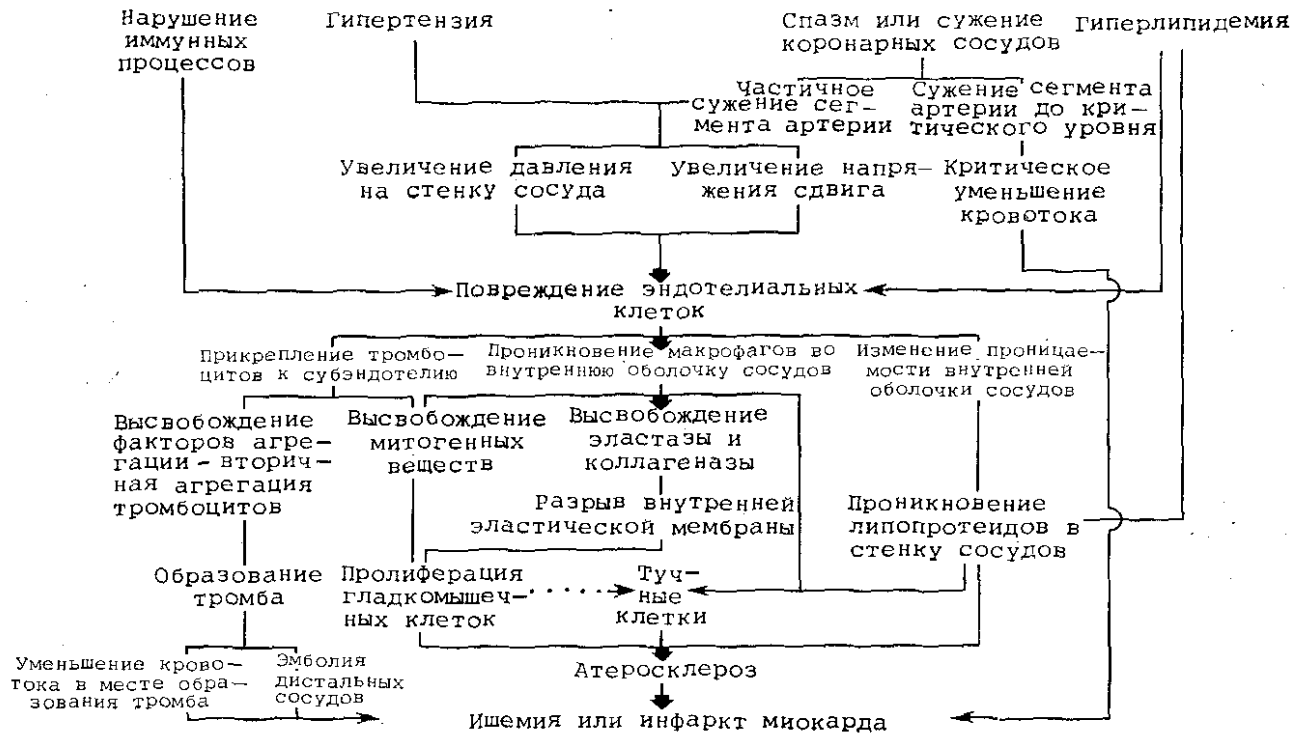


Рис. 33.1. Схема, показывающая роль четырех основных факторов риска в патогенезе атеросклероза и ишемической болезни сердца согласно гипотезе реакции на повреждение.

липопротеидов через стенку сосудов. Успехи в этом направлении существенны, чтобы избежать радикальных оперативных вмешательств и ограничений, сильно влияющих на качество нашей жизни.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Одна ламеллярная единица состоит из двух слоев гладкомышечных клеток, разделенных однослойной эластической мембраной, содержащей различные количества коллагена, эластина и гликозаминогликанов.

2. Значение сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) для исследования атерогенеза заключается в возможности выявления повреждений эндотелия на большой площади внутренней поверхности сосуда, позволяя получать трехмерную картину изменения формы поверхности. Несмотря на то что тонкие структурные изменения эндотелия, например невыступающие цитоплазматические вакуоли или складки клеточной мембраны, могут ускользать из-под контроля СЭМ, эти изменения обычно сопровождаются набуханием эндотелиальных клеток и наличием выступающих вакуолей, которые выявляются СЭМ в виде кратеров или куполообразных выпячиваний [34]. Предложенные недавно усовершенствования подготовки тканей для СЭМ существенно повысили надежность этого метода идентификации повреждений эндотелиальной поверхности, особенно если сравнивать полученные данные с результатами световой и трансмиссионной электронной микроскопии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. World Health Statistics Annual, Vol. 1: Vital Statistics and causes of death. Geneva: World Health Organization, 1977, p. 272—279; 1978, p. 218—225; 1979, p. 134—141; 1980, p. 108—115.
2. Cooper R., Stamler L., Dyer A., Garside D. The decline in mortality from coronary heart disease, USA, 1968—1975. — *J. Chronic. Dis.*, 1978, vol. 31, p. 709—720.
3. Stern M. P. The recent decline in ischemic heart disease mortality. — *Ann. Intern. Med.*, 1979, vol. 91, p. 630—640.
4. Stein O., Stein Y., Eisenberg S. Radioautographic study of the transport of ¹²⁵Iodine-labeled serum lipoproteins in rat aorta. — *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 1973, vol. 138, p. 223—237.
5. Vlodaver Z., Edwards J. E. Pathology of coronary atherosclerosis. — *Prog. Cardiovasc. Dis.*, 1971, vol. 14, p. 256—274.
6. Wissler R. W. Principles of the pathogenesis of atherosclerosis. In: Heart disease: a text book of cardiovascular medicine/Ed. E. Braunwald. Philadelphia: W.B. Saunders, 1980, p. 1221—1245.
7. Wall R. T., Harker L. A. The endothelium and thrombosis. — *Annu. Rev. Med.*, 1980, vol. 31, p. 361—371.
8. Hoak J. C., Czervionke R. L., Fry G. L. et al. Role of the vascular endothelium. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. [B]*, 1981, vol. 294, p. 331—338.
9. Ross R., Klebanoff S. J. The smooth muscle cell. I. In vivo synthesis of connective tissue proteins. — *J. Cell. Biol.*, 1974, vol. 50, p. 159.
10. Wight T. N., Ross R. Proteoglycans in primate arteries. II. Synthesis and secretion of glycosaminoglycans by arterial smooth muscle cells in culture. — *J. Cell. Biol.*, 1975, vol. 67, p. 675—686.
11. Narayanan S., Sanberg L. B., Ross R., Layman D. The smooth muscle cell. III. Elastin synthesis in arterial smooth muscle cell culture. — *J. Cell. Biol.*, 1976, vol. 68, p. 411—419.
12. Wolinsky H., Glagov S. Comparison of abdominal and thoracic aortic medial structure in mammals: deviation of man from the usual pattern. — *Circulat. Res.*, 1969, vol. 25, p. 677—686.
13. Ross R., Glomset J. A. The pathogenesis of atherosclerosis I. — *N. Engl. J. Med.*, 1976, vol. 295, p. 369—377.
14. Ross R., Glomset J. A. The pathogenesis of atherosclerosis II. — *N. Engl. J. Med.*, 1976, vol. 295, p. 420—425.

Глава 34

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЯ ГЛАДКИХ МЫШЦ СОСУДОВ

Н. СПЕРЕЛАКИС (N. SPERELAKIS)

ВВЕДЕНИЕ

В этой главе дан обзор электрофизиологических свойств гладких мышц сосудов и механизмов изменения электрических свойств клеточной мембраны под действием некоторых вазоактивных веществ. Основное внимание уделено роли ионов Ca^{2+} и действию лекарств, ингибирующих их транспорт.

Об электрических свойствах гладких мышц сосудов (ГМС) известно значительно меньше по сравнению со скелетной мышцей или миокардом вследствие трудностей получения стабильных микроэлектродных отведений от очень маленьких гладкомышечных клеток сосудов, окруженных плотным слоем соединительной ткани. Однако за последние несколько лет удалось добиться значительных успехов. Для простоты я буду иллюстрировать обсуждение результатами, полученными в основном в моей лаборатории, хотя многие факты работы ГМС были получены благодаря усилиям ряда других исследователей. Попытка уделить достаточное внимание всем опубликованным по этому вопросу работам приведет к чрезмерному увеличению объема главы.

Гладкая мышца сосудов образована короткими (≈ 200 мкм в длину) и тонкими (≈ 5 мкм в диаметре) клетками. Соседние клетки часто тесно прилегают друг к другу, образуя специализированные контакты различных типов. Степень низкоомного электрического сопряжения между клетками ГМС пока неизвестна. Исследователи, установившие, что в одном сосуде существует низкоомное сопряжение между клетками, тем не менее считают, что оно может отсутствовать в другом сосуде [1]. Иннервация ГМС осуществляется эфферентными волокнами вегетативной нервной системы, которая до некоторой степени контролирует сокращение клеток ГМС. Высвобождение нейромедиаторов, например норадреналина и ацетилхолина, из нервных волокон осуществляется в определенных участках по длине сосуда. Нервные волокна обычно проходят по границе между наружным и средним (мышечным) слоем. Поэтому нейромедиаторы действуют на многие клетки ГМС на относительно большом расстоянии, т. е. плотные нервно-мышечные контакты отсутствуют, в отличие от скелетных мышц.

Основной механизм действия нейромедиаторов и некоторых вазоактивных гормонов и лекарственных препаратов, по-видимому

му, состоит в изменении электрических свойств мембраны клеток ГМС. Изменения уровня потенциала «покоя» мембраны определяют степень сокращения клеток ГМС, причем деполяризация усиливает сокращение, а гиперполяризация — ослабляет (т. е. вызывает расслабление клеток). Изменение проницаемости клеточной мембраны для некоторых ионов, например для Ca^{2+} , существенно изменяет степень сокращения клеток.

Повышение концентрации Ca^{2+} в миоплазме, необходимое для сокращения миофиламентов (например, от 10^{-7} до 10^{-5} М), происходит за счет поступления Ca^{2+} из двух источников: а) приток Ca^{2+} через клеточную мембрану и б) освобождение Ca^{2+} из внутриклеточных запасников, например из саркоплазматического ретикулума (СР, саркоплазматическая сеть), которое вызывается поступлением Ca^{2+} из внеклеточного пространства и (или) изменением трансмембранного потенциала СР. Действие некоторых биоактивных веществ может быть обусловлено прямым или косвенным усилением или угнетением освобождения Ca^{2+} из СР.

Ряд вазоактивных веществ вызывают сокращение клеток ГМС без сопутствующего изменения трансмембранного потенциала, что получило название «фармакомеханическое сопряжение», но все же сокращение чаще сопровождается увеличением проводимости мембраны [2, 3].

В литературе часто упоминается о существовании ГМС двух типов: генерирующих потенциалы действия *in vitro* (спонтанно активные ГМС) и в норме не генерирующих потенциалы действия *in vitro* (неактивные ГМС) [4—6]. При возникновении потенциалов действия происходит сокращение ГМС или повышение степени сокращения. Примером спонтанно активной ГМС является гладкая мышца воротной вены крысы, а примером неактивной ГМС — гладкие мышцы некоторых крупных артерий кролика [4, 7]. Однако некоторые неактивные *in vitro* ГМС (одновременно и электрически невозбудимые) могут генерировать потенциалы действия (спайковые ПД) *in situ* при суммировании нескольких возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПСП) [8]. Кроме того, неактивную ГМС можно заставить спонтанно генерировать потенциалы действия *in vitro* просто путем снижения проводимости K^+ с помощью ионов Ba^{2+} или тетраэтиламмония (ТЭА⁺) [3, 9]. Это означает, что в клеточной мембране ГМС имеется полный набор потенциалозависимых медленных каналов, ответственных за входящий ток, и она способна регенеративно возбуждаться.

Потенциал покоя клеток ГМС относительно невысок (около 55 мВ) вследствие низкой проницаемости мембраны для K^+ (P_k), хотя в некоторых сосудах он может быть порядка -70 мВ. Клетки ГМС, по крайней мере в определенных условиях, способны к автоматической активности. Медленный входящий ток, в клетках ГМС различных типов почти исключительно переносимый ионами Ca^{2+} , определяет фазу деполяризации потенциала действия. По-видимому, в мембране клеток ГМС отсутствуют функционирующие быстрые Na^+ -каналы и не развивается быстрый Na^+ -

ток. Поэтому вещества, подобные тетродотоксину (ТТХ), блокирующие быстрые Na^+ -каналы, не влияют на потенциалы действия ГМС, в то время как блокаторы медленных каналов, подобные верапамилу, угнетают и полностью блокируют электрическую активность ГМС.

Подробное описание электрических свойств ГМС, а также электромеханического и фармакомеханического сопряжения в ГМС читатель может найти в ряде последних обзоров, включая обзоры Kumamoto [10], Horn [11], Johansson [7], Bolton [12], Johansson и Somlyo [13].

ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГЛАДКИХ МЫШЦ СОСУДОВ

Трансмембранный потенциал покоя

Вообще говоря, основные электрические свойства клеток ГМС, такие как потенциал покоя и характеристики потенциала действия (ПД), близки к свойствам гладких мышц других типов, например круговой мышцы кишечника.

Трансмембранный потенциал покоя в клетках ГМС обычно равен приблизительно -55 мВ. Например, Harder и Sperelakis [14] получили средний потенциал покоя (V_m) в клетках верхней брыжеечной артерии морской свинки $-54 \pm 0,6$ мВ (табл. 34.1А). Средний потенциал покоя для мелких коронарных артерий собак равен $-54 \pm 1,0$ мВ, а для крупных артерий -56 ± 2 мВ (табл. 34.1Б) [15, 16].

В потенциал покоя клеток ГМС небольшой вклад вносит потенциал электрогенного насоса. Например, Harder и Sperelakis [14] оценили, что этот вклад в клетках верхней брыжеечной артерии морской свинки составляет около 8 мВ, т. е. после добавления в раствор оубаина (10^{-5} М) для ингибирования (Na^+ , K^+)-АТФазы и остановки Na^+/K^+ -насоса потенциал покоя V_m быстро уменьшается по абсолютной величине от -54 до -46 мВ (см. табл. 34.1А). Таким образом, -46 мВ — это диффузионный потенциал ($E_{\text{дифф}}$), отражающий распределение ионов относительно клеточной мембраны и относительную проницаемость ее для различных ионов (обсуждение см. Sperelakis [17]). Потенциал электрогенного насоса $V_{\text{эн}}$ параллелен $E_{\text{дифф}}$, поэтому устранение $V_{\text{эн}}$ (-54 мВ) позволяет измерить $E_{\text{дифф}}$ (-46 мВ) (см. рис. 34.18).

Исходя из величины $E_{\text{дифф}}$ можно рассчитать отношение $R_{\text{Na}}/R_{\text{K}}$ с помощью уравнения Гольдмана для постоянного поля, если выбрать при этом разумные величины для $[\text{Na}^+]_i$ и $[\text{K}^+]_i$ и принять, что ионы Cl^- распределены пассивно. Величину $[\text{K}^+]_i$ можно оценить, если провести измерение зависимости V_m от $\log [\text{K}^+]_o$ в широком диапазоне $[\text{K}^+]_o$, а затем экстраполировать ее до нулевого потенциала (рис. 34.1). С помощью такого подхода была получена величина $[\text{K}^+]_i$ в клетках верхней брыжеечной

Таблица 34.1. Некоторые электрические свойства клеточной мембраны гладких мышц артерий в покое

Условия	Потенциал покоя V_m , мВ	Входное сопротивление $r_{вх}$, МОм	Отношение P_{Na}/P_K
A. Верхняя брыжеечная артерия морской свинки			
Контроль	$-54 \pm 0,6$	$8,5 \pm 0,3$	—
Оубаин (10^{-5} М)	$-46 \pm 1,0^*$	—	0,17
Раствор без Cl^-	$-55 \pm 0,6$	$8,5 \pm 0,4$	—
Ca^{2+} (1,0 мМ)	$-24 \pm 0,8^*$	$24,0 \pm 1,8^*$	0,42
Раствор с низким содержанием Na^+	$-66 \pm 1,3^*$	—	—
II. Коронарные артерии собаки			
Крупные	-56 ± 2	$9,0 \pm 0,4$	—
Средние	-53 ± 2	$10,0 \pm 1,0$	—
Мелкие	$-55 \pm 1,0;$	—	—
	$-54 \pm 1,3$		

* Значения представлены в виде средней ± 1 стандартное отклонение.

Отличие от контроля статистически достоверно при $p < 0,05$.

Крупные и мелкие коронарные артерии интрамуральные, диаметром менее 0,5 мм; крупные коронарные артерии поверхностные, диаметром более 1,0 мм. Измерение V_m при помощи оубаина осуществляли через 1–5 мин после его добавления в раствор. Если еще не начала развиваться деполяризация, связанная с изменением концентрации ионов в клетке (т. е. с исчезновением пиковых градиентов). Во всех случаях $[Ca^{2+}]_i = 4,0$ мМ. Из [14], [15], [16].

Артерия морской свинки, оказавшаяся равной 160 мМ, и было подсчитано, что $P_{Na}/P_K = 0,17$ (при $[K^+]_o = 4$ мМ) [14]. Это отношение значительно больше, чем в скелетной или сердечной мышце, что связано с более низкой величиной P_K и более высокой величиной P_{Na} .

В клетках верхней брыжеечной артерии морской свинки ионы Cl^- , по-видимому, распределены пассивно, т. е. в соответствии со внутренним трансмембранным потенциалом [14]. Это означает, что на мембранах в течение длительного времени находится в покое, равновесный Cl^- -потенциал (E_{Cl}), рассчитанный с помощью уравнения Нернста, равен трансмембранному потенциалу покоя. Доказательство пассивного распределения ионов Cl^- основано на том, что потенциал покоя в растворе, не содержащем Cl^- , почти равен потенциалу покоя в нормальном растворе Ривтера в присутствии Cl^- (см. табл. 34.1A); т. е. после кратковременной деполяризации, которую следует ожидать при вымывании Cl^- из клеток, трансмембранный потенциал возвращается к исходной величине уже через 10 мин. Если бы $[Cl^-]_i$ была больше, чем расчетно исходя из потенциала покоя V_m (т. е. если бы существовал направленный внутрь транспорт ионов Cl^-), то после выдерывания ткани в растворе, не содержащем Cl^- , должна была бы наблюдаться гиперполяризация. Так как входное сопротивление

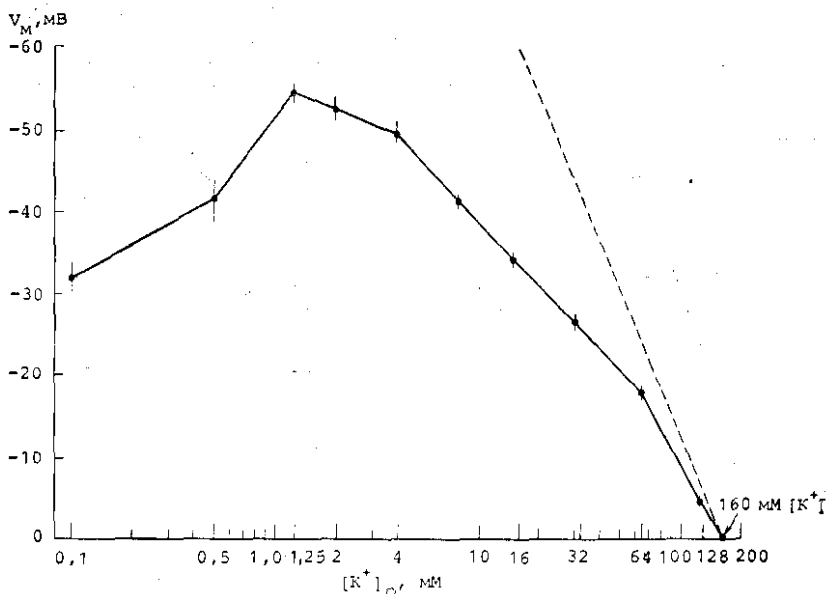


Рис. 34.1. Зависимость потенциала покоя (V_m) от внеклеточной концентрации K^+ ($[K^+]_o$ — логарифмическая шкала) для гладкомышечных клеток верхней брыжеечной артерии морской свинки. Вертикальными отрезками отмечена величина 1 стандартной ошибки средней для 10—23 отведений электрода в 4—6 препаратах. Экстраполяция кривой до нулевого потенциала позволяет оценить величину внутриклеточной концентрации K^+ ($[K^+]_i$), которая оказалась равной 160 мМ. Средний наклон этой кривой 32 мВ при 10-кратном изменении $[K^+]_o$. Пунктирной линией показана величина равновесного K^+ -потенциала (E_K), рассчитанного для разных концентраций в соответствии с уравнением Нернста; она имеет наклон 60 мВ при 10-кратном изменении $[K^+]_o$. По [14].

($\gamma_{\text{вх}}$) в растворе без ионов Cl^- практически равно $\gamma_{\text{вх}}$ в присутствии Cl^- (см. табл. 34.1), говорит об относительно низкой проводимости (g_{Cl}) ГМС для ионов Cl^- . Этот вывод подтверждается также тем, что ионы Ba^{2+} (1 мМ), довольно специфичные блокаторы проводимости K^+ (g_K), быстро вызывают деполяризацию клеток в нормальном растворе Рингера, содержащем ионы Cl^- (см. табл. 34.1А). Когда величина g_{Cl} высока, ионы Ba^{2+} оказывают относительно слабое воздействие [18]. Следовательно, нет никаких указаний на существование в этой ткани Cl^- -насоса.

В растворе с низкой концентрацией Na^+ мембрана должна гиперполяризоваться, если предположить, что в таких условиях происходит уменьшение входящего деполяризующего потока ионов Na^+ . И действительно, в таком растворе наблюдается гиперполяризация клеток верхней брыжеечной артерии морской свинки, составляющая около 12 мВ: от -54 мВ в контрольном препарате до -66 мВ в растворе с низким содержанием Na^+ (см. табл. 34.1А).

Входное сопротивление ($\Gamma_{вх}$), т. е. сопротивление, подключенное к концу микроэлектрода, введенного в клетку, можно рассчитать, исходя из наклона вольтамперной кривой, полученной в установившихся условиях, который определяют в начальной точке (т. е. в предположении бесконечно малой величины подаваемого тока). Деполяризующие и гиперполяризующие импульсы тока подают через микроэлектрод для регистрации потенциалов с помощью мостовой схемы, устраняющей артефакт стимуляции [19], или с использованием второго независимого регистрирующего потенциала микроэлектрода, введенного в ту же клетку как можно ближе к микроэлектроду, через который пропускают стимулирующий ток. Величина $\Gamma_{вх}$ в ГМС обычно находится в диапазоне от 5 до 15 МОм. Например, для верхней брыжеечной артерии морской свинки средняя величина составляет 8,5 МОм (см. табл. 34.1А) и 9 и 10 МОм соответственно для крупных и мелких коронарных артерий собаки (см. табл. 34.1Б). Приняв длину клетки (L) равной 200 мкм, радиус (a) — 2,5 мкм и считая, что между клетками не существует низкоомных контактов, при $\Gamma_{вх} = 9$ МОм получаем сопротивление мембраны $R_m = 283 \text{ Ом} \cdot \text{см}^2$ ($R_m = \Gamma_{вх} \cdot \pi 2aL$). Такая оценка будет заниженной, если клетки соединены контактами с низким сопротивлением. Добавление Ba^{2+} (0,5 или 1,0 мМ), блокатора проводимости K^+ , вызывает существенное увеличение $\Gamma_{вх}$.

Степень низкоомного сопряжения между клетками ГМС неизвестна, и сведения о нем противоречивы. Поскольку основная часть принципиальных результатов, полученных относительно электрического сопряжения в гладкой мышце, практически совпадает с тем, что известно для миокарда, мы отсылаем читателя к обзорной статье Sperelakis [20], где суммировано большинство данных и фактов, относящихся к сердечной мышце. Mekata [1] недавно сообщил, что $\Gamma_{вх}$ в ткани огибающей коронарной артерии собаки (измеренное путем пропускания тока силой 0,5 нА или меньше через микроэлектрод для регистрации потенциала с использованием мостовой схемы) находится в диапазоне 10—400 МОм (в среднем 181 МОм). Так как на расстоянии, превышающем 0,4 мм, ему вообще не удалось зарегистрировать электротонического потенциала при пропускании извне гиперполяризующего тока с использованием метода изолированных отсеков, предложенного Tomita [21], Mekata сделал вывод о слабом развитии системы низкоомного сопряжения между клетками этой артерии. Вместе с тем между клетками передней нисходящей коронарной артерии, по мнению того же Mekata, существует довольно хорошее сопряжение (постоянная длины 2,44 мм).

Согласно данным Harder [22], наклон кривой зависимости V_m от $\log [\text{K}^+]_o$ значительно больше (58 мВ при 10-кратном изменении концентрации) для средней мозговой артерии кошки, чем для брыжеечной артерии кошки (36 мВ при 10-кратном изменении концентрации) (см. рис. 34.1); это означает, что мембрана восток мозговой артерии значительно более избирательна для ионов K^+ (отношение $P_{\text{Na}}/P_{\text{K}}$ малое). Следствием этого является

значительно ббльшая чувствительность трансмембранного потенциала в таких клетках к изменениям $[K^+]_o$.

Деполаризация мембраны, развивающаяся в растворе с низкой концентрацией K^+ ($[K^+]_o < 1,25$ мМ) (см. рис. 34.1), может быть обусловлена двумя факторами: а) ингибированием работы электрогенного Na^+/K^+ -насоса и б) уменьшением R_k (и g_k). После выдерживания ГМС в растворе с низкой $[K^+]_o$ (или в бескалийевом растворе) возвращение к нормальной концентрации K^+ (например, 4 мМ) вызывает сильную гиперполяризацию, которая временно превосходит нормальный потенциал покоя. Считается, что это явление обусловлено значительной стимуляцией работы Na^+/K^+ -насоса вследствие перегрузки клеток ионами Na^+ в бескалийевом растворе (т. е. повышением $[Na^+]_i$ [23, 24]. Такая вызванная ионами K^+ гиперполяризация сопровождается расслаблением ГМС. Согласно данным Webb и Bohr [25, 26], степень расслабления, вызываемого ионами K^+ в этих условиях, выше в ГМС крыс со спонтанной гипертензией (СГК) по сравнению с крысами с нормальным артериальным давлением. Этот результат согласуется с данными Bonaccorsi и соавт. [23], которые обнаружили, что у СГК вклад потенциала электрогенного насоса в потенциал покоя больше.

Развитие механического напряжения в ГМС тесно связано с изменениями V_m что, например, хорошо известно для случая контрактуры, вызванной калием. Более того, амплитуда сокращения, вызванного норадреналином, изменяется в зависимости от уровня потенциала покоя V_m , например деполаризация на несколько милливольт существенно увеличивает развиваемую силу сокращения [27, 28]. Гиперполяризация оказывает обратное действие, угнетая сократительную реакцию на норадреналин [28]; гиперполяризация, вызванная нитропруссидом, уменьшает сокращение, обусловленное повышением концентрации K^+ или норадреналином [29].

В некоторых случаях было обнаружено, что низкие дозы норадреналина (10^{-9} — 10^{-7} М) вызывают сокращение ГМС без какой бы то ни было деполаризации, в то время как при действии высоких доз (10^{-6} — 10^{-5} М) сокращение сопровождается деполаризацией [3, 27, 30, 31], однако в других случаях норадреналин уже в концентрации 10^{-8} М (и 10^{-9} у СГК) вызывает значительную деполаризацию и сокращение клеток легочной артерии крыс. Кроме того, норадреналин способен вызывать также дополнительное сокращение клеток артерий, которые уже максимально деполаризованы ионами K^+ [2, 4, 28], по-видимому, освобождая Ca^{2+} , запасенный в саркоплазматическом ретикулуме.

Свойства возбужденной мембраны

Невозбудимость некоторых препаратов ГМС in vitro. По неизвестным причинам клетки ГМС некоторых изолированных препаратов стенки артерий невозможно возбудить путем электрической стимуляции. Однако имеются и исключения, в том числе культу-

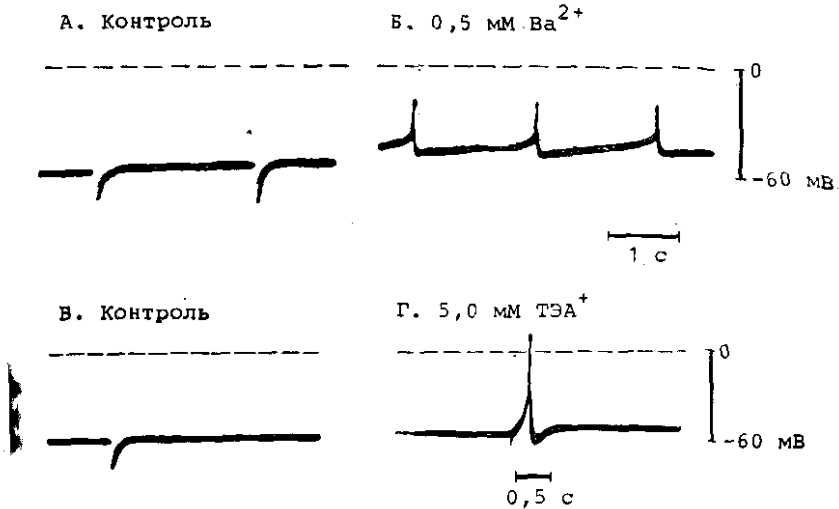


Рис. 34.2. Индукция возбудимости гладкомышечной клетки верхней брюшной артерии морской свинки путем добавления в перфузат ионов Ba^{2+} или тетраэтиламмония (TEA^+). (А) Контрольная запись, показывающая большую отрицательную величину потенциала покоя (-55 мВ), отсутствие спонтанных потенциалов действия (ПД) и реакции на электрическую стимуляцию (видны 2 артефакта стимуляции). (Б) Запись, полученная от той же клетки через 5 мин после добавления $0,5$ мМ Ba^{2+} ; видны частичная деполаризация и возникновение спонтанных ПД. (В) Контрольная запись, также показывающая большую поляризацию клетки в покое (-58 мВ), отсутствие спонтанных ПД и реакций на электрическую стимуляцию (виден один артефакт). (Г) Запись, полученная от той же клетки через 5 мин после добавления 5 мМ TEA^+ ; виден высокоамплитудный ПД с овершутом, возникающий в ответ на электрическую стимуляцию. По [9].

ируемые клетки аорты крысы (см. ниже). В изолированных препаратах клетки вен обычно возбудимы и могут быть даже спонтанно активными. Клетки брыжеечных артерий морской свинки также могут проявлять спонтанную активность при соответствующих температуре и давлении [32]. Невозбудимые *in vitro* клетки артерий, по-видимому, способны генерировать потенциалы действия *in situ* при суммировании достаточного числа возбуждающих постсинаптических потенциалов, возникающих в ответ на высвобождение нейромедиатора.

Возникновение возбудимости при действии ионов TEA^+ или Na^+ . Влияние на изолированные препараты гладких мышц артерий веществ, угнетающих проводимость ионов K^+ (g_k) в покое или при возбуждении, например ионами Ba^{2+} (рис. 34.2А и Б) или тетраэтиламмония (TEA^+) (рис. 34.2В и Г), вызывает появление электрической возбудимости. При действии таких веществ электрическая стимуляция приводит к развитию высокоамплитудных потенциалов действия (ПД) с овершутом (см. рис. 34.2Г), а иногда потенциалы действия могут возникать и спонтанно (см. рис. 34.2Б). Ингибирование g_k приводит к угнетению выходящего

K^+ -тока, что вызывает увеличение суммарного входящего тока и облегчает развитие регенеративного возбуждения, т. е. при данной величине входящего тока (через потенциалозависимые медленные каналы) уменьшение величины текущего одновременно с ним выходящего K^+ -тока приведет к увеличению суммарного входящего тока. Для возникновения регенеративного ПД необходима некоторая минимальная величина суммарного входящего тока. Ca^{2+} и $T\bar{A}^+$ не только угнетают g_K в покое, но также замедляют кинетику увеличения g_K при деполяризации, что приводит к доминированию медленного входящего тока (I_{si}). Отсутствие электрической возбудимости *in vitro* в нормальном растворе Рингера может быть обусловлено одним (или более) из следующих факторов: а) слишком раннее увеличение зависящего от времени компонента g_K при деполяризации; б) отсутствие аномального выпрямления (т. е. мгновенного уменьшения независимого от времени компонента g_K при деполяризации); в) инактивация некоторого числа медленных каналов, вследствие чего амплитуда I_{si} оказывается недостаточной; г) увеличение g_{Cl} (что приводит к стабилизации V_m на уровне E_{Cl}).

Было показано, что $T\bar{A}^+$ вызывает спайковую активность в клетках общей сонной артерии кролика [33] и подкожной вены кролика [34], а в низких дозах способствует возникновению спайковых ПД под действием норадrenalина [35]. Droogmans и соавт. [3] показали, что спонтанные ПД, появление которых вызвано действием $T\bar{A}^+$ в ушной артерии кролика, зависят от ионов Ca^{2+} . Следовательно, индуцированные $T\bar{A}^+$ потенциалы действия в гладких мышцах артерий представляют собой удобную модель для оценки эффективности действия различных вазоактивных соединений на входящий Ca^{2+} -ток (поступление Ca^{2+}) в клетках ГМС.

Когда ПД индуцируются веществом, подобным $T\bar{A}^+$, их максимальная скорость нарастания ($+V_{\max}$) находится в диапазоне от 2 до 12 В/с. Например, в верхней брыжеечной артерии морской свинки средняя величина $+V_{\max}$ (в присутствии 1,8 мМ Ca^{2+}) составляла $6,0 \pm 0,7$ В/с (табл. 34.2) [9]. Длительность ПД на уровне 50% реполяризации была равна 50—75 мс. Средняя амплитуда таких ПД равна 59 мВ, т. е. они обычно имеют овершуту порядка 5 мВ (см. табл. 34.2). Однако в некоторых условиях величина овершута ПД может изменяться, т. е. пик ПД может не достигать уровня нулевого потенциала. Это может быть следствием преждевременного увеличения g_K .

Гиперполяризация, вызванная пропусканием гиперполяризующего тока, приводит лишь к небольшому увеличению $+V_{\max}$. Это время как при деполяризации $+V_{\max}$ существенно уменьшается [9]. Уменьшение $+V_{\max}$ до 50% от максимальной величины (инактивация половины медленных каналов) происходит при $V_m = -47$ мВ, а полная инактивация ($+V_{\max} = 0$) наблюдается при $V_m = -22$ мВ. Такое изменение $+V_{\max}$ согласуется с введением медленных каналов гладких мышц внутренних органов

Таблица 34.2. Свойства индуцированных ТЭА⁺ потенциалов действия гладких мышц артерий

Параметр	Коронарные артерии собаки		Верхняя брыжеечная артерия морской свинки *
	мелкие (диаметр <0,5 мм)	крупные (диаметр >1,0 мм)	
Потенциал покоя V _м , мВ	-53±2	-56±2	-54±1,3
Амплитуда ПД, мВ	54±1	56±1	59±1
+V _{макс} , В/с	6±1	5±1	6±0,7
Зависимость от [Ca ²⁺] _о , мВ/10-кратное изменение концентрации	31	30	29

Данные представлены в виде средней ± 1 стандартное отклонение.

* Амплитуда ПД на уровне 50% реполяризации составляла 50–75 мс. Из [15] и [9].

сердечной мышцы (хотя в сердечных миоцитах инактивация начинается проявляться при V_м = -50 мВ). Кривая зависимости +V_{макс} от V_м более или менее типична для ПД, зависящих от внешнего входящего тока.

Специфический блокатор быстрых Na⁺-каналов — тетродотокс (ТТХ) — не влияет на скорость нарастания или овершут ПД ток ГМС (или гладких мышц внутренних органов), что было показано, например, в верхней брыжеечной артерии морской свинки [9]. Эти данные свидетельствуют о том, что входящий быстрый Na⁺-ток не вносит никакого вклада в фазу деполяризации ПД, а быстрые Na⁺-каналы в ГМС либо отсутствуют, либо просто не функционируют («молчат»). Такой вывод подтверждает также тем, что гиперполяризация не вызывает существенно увеличения +V_{макс} (см. выше).

Величины +V_{макс} и овершута ПД клеток большинства типов ГМС существенно увеличиваются при повышении [Ca²⁺]_о и уменьшаются при снижении [Ca²⁺]_о. Это было, например, обнаружено в верхней брыжеечной артерии морской свинки [9] (рис. 34.3) коронарных артериях собаки [15]. В артериях обоих типов график зависимости амплитуды ПД (пропорциональной овершуту от log [Ca²⁺]_о представляет собой прямую линию с наклоном около 30 мВ при 10-кратном изменении концентрации (см. рис. 34.2). Так как эта величина приблизительно равна теоретическому наклону (30,5 мВ при 10-кратном изменении концентрации), рассчитанному согласно уравнению Нернста для двухвалентных катионов, полученный результат свидетельствует о том, что входящий ток, протекающий во время ПД в клетках артерий обоих типов, переносится почти исключительно ионами Ca²⁺, ионы Na⁺ практически или совсем не участвуют в переносе внешнего тока. Этот вывод подтверждается также результатами экспериментов, в которых варьировали [Na⁺]_о, а [Ca²⁺]_о поддер-

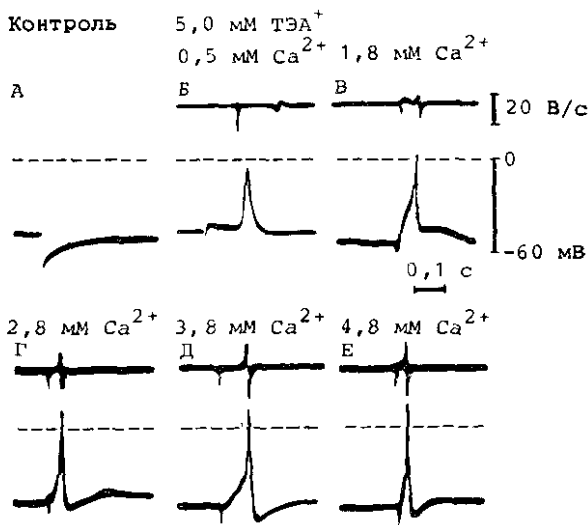


Рис. 34.3. Зависимость потенциала действия гладкомышечной клетки верхней брыжеечной артерии морской свинки от концентрации ионов Ca^{2+} в присутствии TGA^+ . Без TGA^+ эти клетки не возбуждаются при электрической стимуляции. Все записи получены от одной и той же клетки при непрерывной регистрации трансмембранного потенциала. (А) Контрольная запись, показывающая большую величину потенциала покоя (-58 мВ), отсутствие спонтанных потенциалов действия (ПД) и реакций на электрическую стимуляцию большой интенсивности (виден один артефакт стимуляции). (Б—Е) Возникновение ПД в ответ на электрическую стимуляцию после добавления 5 мМ TGA^+ в перфузат. Видно увеличение амплитуды и максимальной скорости нарастания ($+\dot{V}_{\text{макс}}$) ПД при увеличении концентрации Ca^{2+} в перфузате от $0,5$ мМ (Б) до $1,8$ мМ (В), $2,8$ мМ (Г), $3,8$ мМ (Д) и $4,8$ мМ (Е). На Б—Е сверху показаны записи dV/dt , а величина их максимального отклонения пропорциональна $+\dot{V}_{\text{макс}}$. Горизонтальной пунктирной линией отмечен уровень нулевого потенциала. По [9].

живали постоянной. Изменение $[\text{Na}^+]_o$ в широком диапазоне концентрации ($0-150$ мМ) мало или вовсе не влияло на амплитуду и $+\dot{V}_{\text{макс}}$ таких ПД [9]. Кроме того, зависимость $+\dot{V}_{\text{макс}}$ от $\log [\text{Ca}^{2+}]_o$ (между $1,0$ и $5,0$ мМ) описывается прямой линией.

Результаты экспериментов с использованием антагонистов Ca^{2+} , таких как верапамил или бепридил, согласуются с выводом, что входящий ток, текущий в ходе ПД клеток ГМС, обусловлен исключительно медленными каналами, т. е. быстрые Na^+ -каналы не принимают в этом никакого участия. Верапамил и бепридил в концентрациях, в которых они существенно угнетают работу медленных каналов, лишь незначительно влияют на быстрые Na^+ -каналы, т. е. эти соединения относительно специфичны для медленных каналов. Было показано, что в верхней брыжеечной артерии морской свинки [9] (рис. 34.4А и Б), в коронарных артериях собаки [15, 16] и в культивируемых гладкомышечных клетках аорты крысы [39] верапамил угнетает и блокирует Ca^{2+} -зависимые ПД. То же самое справедливо для действия бепридила.

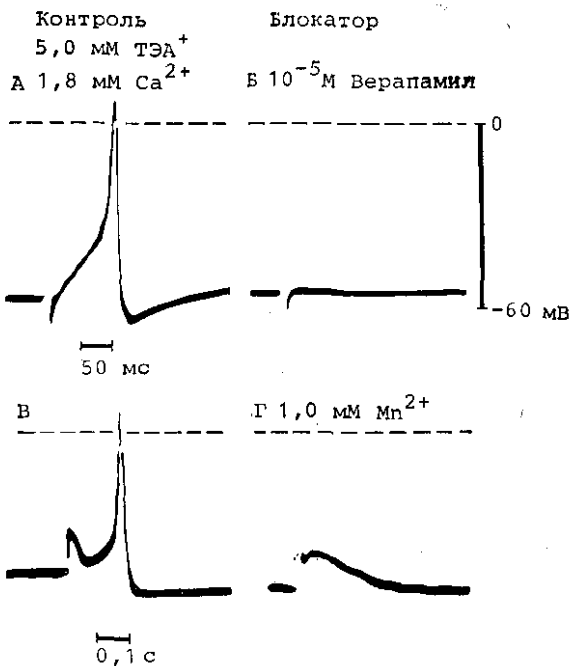


Рис. 34.4. Блокирование индуцированных ТЭА⁺ потенциалов действия блокаторами медленного канала. Препарат гладкой мышцы, изолированной из стенки верхней брыжеечной артерии морской свинки. (А) Контрольная запись, на которой виден высокоамплитудный ПД с овершутом, вызванный электрической стимуляцией после добавления 5 мМ ТЭА⁺ в перфузат. (Б) Запись от той же клетки; видно полное блокирование ПД через 5 мин после добавления 10⁻⁵ М верапамила (виден только артефакт стимуляции). (В) Другая контрольная запись, также показывающая высокоамплитудный ПД с овершутом, вызванный электрической стимуляцией после добавления 5 мМ ТЭА⁺ перфузата. (Г) Запись от той же клетки, показывающая полное блокирование ПД через 30 с после добавления 1 мМ Мп²⁺ в перфузат (виден только артефакт стимуляции). По [64].

на клетки коронарной артерии собаки [40] и на культивируемые клетки аорты крысы [41]. Если бы быстрые Na⁺-каналы принимали большое участие в электрической активности ГМС, тогда нельзя было бы ожидать полного блокирования ПД при действии верапамила или бепридила. Ионы Мп²⁺, тоже оказывающие Ca²⁺-антагонистическое действие, также блокируют ПД [9] (рис. 34.4В и Г). Кроме того, верапамил и бепридил угнетают сокращение, вызванное калием или норадреналином, в изолированных кольцевых препаратах аорты кролика [42]. Показано также, что способностью блокировать калиевую контрактуру как в артериальной, так и в венозной гладкой мышце обладает и ряд других антагонистов Ca²⁺, включая мезудиин, нифедилин и дилтиазем [43].

Поскольку ПД клеток ГМС полностью зависят от ионов Ca²⁺, индуцируемые ТЭА⁺ потенциалы действия представляют собой хорошую модель для оценки вазоактивных веществ на вход Ca²⁺

и на другие свойства мембраны клеток ГМС, как будет показано ниже. Скорость нарастания ПД пропорциональна входящему току (при постоянной емкости мембраны, C_m), а входящий ток (при условии неизменности электродвижущей силы) пропорционален количеству активированных медленных каналов. Таким образом, если вещество угнетает $+\dot{V}_{\text{макс}}$ на 50%, это соответствует блокированию 50% медленных каналов (при условии, что проводимость одиночного канала не изменяется). Такой анализ предполагает также, что вещество не влияет на другие свойства клеточной мембраны, например на g_K . Как было показано выше, изменения g_K могут оказывать существенное влияние на $+\dot{V}_{\text{макс}}$ потенциала действия ГМС, так как скорость нарастания пропорциональна суммарному входящему току, т. е. разности между медленным входящим и выходящим K^+ -током, а не абсолютной величине медленного входящего тока.

Относительно мало известно о распространении возбуждения в ГМС, в том числе и о скорости распространения. В гладкой мышце кишечника скорость распространения возбуждения составляет приблизительно 5 см/с и возбуждение передается непосредственно от клетки к клетке, причем активность нервной системы лишь изменяет скорость распространения возбуждения, но не определяет само распространение. Пока еще не получены убедительные свидетельства в пользу прямого распространения возбуждения в ГМС от клетки к клетке на большие расстояния. Относительно мало известно о степени низкоомного сопряжения соседних клеток. В частности, клетки артерий находятся под более сильным контролем со стороны нервной системы. В клетках ГМС при действии нейромедиаторов возникают возбуждающие (ВПСП) и тормозные (ТПСП) постсинаптические потенциалы [4]. ВПСП (деполяризация) повышают степень сокращения ГМС, а также вызывают спайковую электрическую активность, которая способствует дальнейшему увеличению силы сокращения. ТПСП (гиперполяризация) оказывают противоположное действие.

Спайковые ПД способны вызывать относительно быстрые фазические сокращения, накладывающиеся на базальный тонус (тоническое сокращение), который зависит от потенциала покоя. Высокая частота возникновения ПД может привести к развитию высокоамплитудного сокращения ГМС по типу гладкого тетануса.

Источники Ca^{2+} для сокращения

Ионы Ca^{2+} для активации сократительных белков поступают из двух основных источников: а) за счет входа кальция через клеточную мембрану из межклеточной жидкости и б) путем освобождения Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума (СР, саркоплазматическая сеть). Кроме того, предполагается, что определенный вклад могут вносить ионы Ca^{2+} , освобождающиеся из мест связывания на внутренней поверхности клеточной мембраны, например при действии некоторых веществ. Такие гипотетические

источники Ca^{2+} для сокращения схематично изображены на рис. 34.5.

Вход Ca^{2+} через сарколемму осуществляется по электрохимическому градиенту через зависящие от потенциала и времени медленные кальциевые каналы. Этот медленный входящий Ca^{2+} -ток ответствен за фазу нарастания ПД в клетках большинства типов ГМС. Именно эти медленные каналы блокируются такими агентами, как верапамил, бепридил, Mn^{2+} и La^{3+} , что указано на рис. 34.5.

Поступление Ca^{2+} через клеточную мембрану приводит к непосредственному увеличению $[\text{Ca}^{2+}]_i$ и, кроме того, способно вызывать освобождение дополнительного количества Ca^{2+} из СР в соответствии с механизмом вызванного Ca^{2+} освобождения Ca^{2+} , описанным А. Fabiato и F. Fabiato [44]. Возможно также, что процесс освобождения Ca^{2+} из СР контролируется потенциалом на клеточной мембране, так что при деполяризации сарколеммы одновременно деполяризуется мембрана СР посредством передачи электрического сигнала через диадные контакты, существующие между клеточной мембраной и мембраной СР (контактный СР непрерывно переходит в сеть СР, окружающую пучки миофибрилл). Уровень $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в расслабленной клетке приблизительно равен $1 \cdot 10^{-7}$ М, а концентрация Ca^{2+} , при которой развивается максимальное сокращение, находится в диапазоне $1 \cdot 10^{-5}$ — $1 \cdot 10^{-4}$ М; 50% максимального сокращения достигается при $2 \cdot 10^{-6}$ М².

Сокращение, вызываемое потенциалом действия или повышением $[\text{K}^+]_o$, по-видимому, развивается вследствие активации потенциалозависимых медленных каналов, что позволяет Ca^{2+} поступать в клетку по электрохимическому градиенту. Определенный вклад может вносить и освобождение Ca^{2+} из СР. При повышении $[\text{K}^+]_o$ происходит деполяризация вследствие снижения E_K , как показывает уравнение Нернста: $E_K = -61 \text{ мВ} \cdot \log [\text{K}^+]_i / [\text{K}^+]_o$. Поскольку верапамил блокирует поступление Ca^{2+} через потенциалозависимые медленные каналы, это соединение будет также препятствовать освобождению Ca^{2+} из СР, зависящему от поступления Ca^{2+} , а значит, должно почти полностью блокировать сокращение; кроме того, верапамил будет блокировать ПД, так как фаза нарастания ПД также определяется входящим Ca^{2+} -током.

Сокращение, вызываемое норадреналином, может быть обусловлено другими механизмами:

а) Норадреналин связывается с α -адренергическими рецепторами (постсинаптической) мембраны клеток ГМС и вызывает увеличение проводимости Na^+ (и, возможно, Ca^{2+}), что эквивалентно высокоамплитудному возбуждающему постсинаптическому потенциалу (ВПСП). Деполяризация вследствие возникновения ВПСП должна активировать потенциалозависимые медленные Ca^{2+} -каналы и вызывать поступление в клетку большого количества Ca^{2+} . Модель гипотетического механизма работы ворот, управляемых рецепторами, показана на рис. 34.5 слева внизу; для сравнения внизу справа приведена аналогичная модель потенциа-

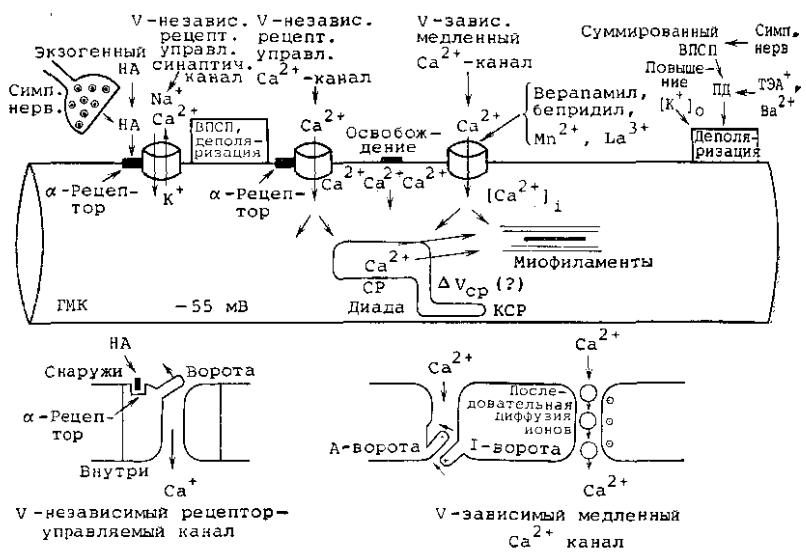


Рис. 34.5. Схема, показывающая различные возможные источники ионов Ca^{2+} для сокращения гладкомышечных клеток. Отмечены три основных внеклеточных источника: (1) постсинаптический канал, не зависящий от потенциала и управляемый рецепторами; он является неспецифическим и пропускает ионы Na^+ , Ca^{2+} и K^+ ; этот канал ответствен за возникновение возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПС); (2) постсинаптический Ca^{2+} -канал, также не зависящий от потенциала и управляемый рецепторами; канал селективен для ионов Ca^{2+} . (2а) вариантом этого же механизма является управляемое рецепторами освобождение ионов Ca^{2+} , связанных с фиксированными отрицательными зарядами на внутренней поверхности клеточной мембраны; (3) медленный Ca^{2+} -канал, управляемый воротными механизмом, зависящим от времени и потенциала; канал селективен для ионов Ca^{2+} ; этот канал ответствен за фазу парастания потенциала действия и является местом действия различных Ca^{2+} -антагонистов (блокаторов медленного канала) или поливалентных ионов. Рецепторы, участвующие в работе механизмов 1, 2 и 2а, являются α -адренергическими, а нейромедиатором служит норадреналин (НА). Основным внутриклеточным источником Ca^{2+} являются саркоплазматический ретикулум (СР) и, возможно, ионы Ca^{2+} , связанные с внутренней поверхностью клеточной мембраны; освобождение Ca^{2+} из СР может вызываться повышением внутриклеточной концентрации Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) или изменением разности потенциалов на мембране СР. Повышение внеклеточной концентрации K^+ ($[\text{K}^+]_o$) вызывает деполаризацию клеточной мембраны и поэтому приводит к активации потенциалозависимых медленных Ca^{2+} -каналов (механизм 3), следствием чего является сокращение клетки. Экзогенный норадреналин активирует α -рецепторы, которые в свою очередь (а) вызывают деполаризацию клеточной мембраны путем активации постсинаптических каналов (механизм 1) и таким образом активируют медленные Ca^{2+} -каналы (механизм 3) и (б) приводят к непосредственному повышению внутриклеточной концентрации Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) за счет механизмов 2 или 2а. Не показана возможность проникновения норадреналина внутрь клетки и прямого его действия на СР с освобождением Ca^{2+} . Некоторое количество Ca^{2+} может поступать через активированные постсинаптические каналы. На двух схемах внизу показана работа канала, управляемого рецепторами (слева) и управляемого потенциалом (справа). По [64].

зависимого медленного Ca^{2+} -канала. (Показаны также вероятная схема прохождения Ca^{2+} в результате одномерной диффузии через медленный канал с несколькими отрицательно заряженными местами связывания вдоль отверстия канала и перескакивание ионов из одного места связывания в другое последовательно в результате выталкивания их следующими ионами).

б) Если проводить аналогию с ионными каналами постсинаптической мембраны нервно-мышечных контактов в скелетных мышцах позвоночных — эти каналы активируются ацетилхолином (никотиновые рецепторы), то, учитывая неспецифичность каналов клеток ГМС, пропускающих катионы разных видов, включая Na^+ , Ca^{2+} и K^+ , через такие потенциалонезависимые синаптические каналы ГМС может проходить некоторое количество ионов Ca^{2+} . Casteels и соавт. [27] показали, что норадреналин увеличивает проницаемость клеточной мембраны для ионов Na^+ , Ca^{2+} , K^+ и Cl^- . Нет данных о способности верапамила блокировать вход Ca^{2+} через постсинаптические каналы (так же как и о влиянии тетродотоксина на вход Na^+ через постсинаптические каналы, активируемые ацетилхолином).

в) Было выдвинуто предположение (см. обзоры Bolton [12], Johansson и Somlyo [13], Casteels [46], Van Breeman и соавт. [47]), что существуют потенциалонезависимые каналы другого типа, управляемые α -рецепторами, которые пропускают только ионы Ca^{2+} . Основное подтверждение получено на основании того факта, что добавление экзогенного норадреналина к ГМС, полностью деполяризованной вследствие повышения $[\text{K}^+]_o$ и находящейся в контрактуре, вызывает значительное увеличение силы сокращения. Однако в этом случае трудно отличить механизм (б) от механизма (в). Даже если после добавления норадреналина к клеткам ГМС, деполяризованным калием, происходит увеличение поступления в них Na^+ , это не опровергает возможности существования управляемых рецепторами Ca^{2+} -каналов такого типа. Наиболее заслуживающим внимания аргументом в пользу существования таких каналов является наблюдение Casteels о том, что в низкой концентрации норадреналин вызывает сокращение без сопровождающей его деполяризации (более высокие дозы приводят к дальнейшему увеличению силы сокращения и к деполяризации клеток ГМС).

г) Один из вариантов третьего механизма состоит в том, что не существование в липидной бислойной мембране белкового канала, сопряженного с α -рецептором, имеет решающее значение, а активация α -рецепторов каким-то неизвестным путем вызывает освобождение Ca^{2+} , связанного с отрицательными зарядами на внутренней поверхности клеточной мембраны (см. рис. 34.5). Верапамил, по-видимому, слабо влияет на поступление Ca^{2+} в цитоплазму в соответствии с этим управляемым рецепторами механизмом, так как контрактура, вызванная норадреналином, угнетается верапамилом (10^{-5} M) только на 50% [42].

В заключение отметим, что скорее всего норадреналин вызывает сокращение за счет поступления Ca^{2+} по двум механизмам:

а) через потенциалозависимые медленные Ca^{2+} -каналы (активируемые вследствие деполяризации, вызванной ВПСП) и б) через каналы, управляемые рецепторами (типа неспецифических постсинаптических каналов или типа гипотетических специфических Ca^{2+} -каналов), так как (максимальная) контрактура при действии норадреналина часто имеет большую величину, чем (максимальная) индуцированная K^+ контрактура, а такие вещества, как верапамил, сильнее угнетают контрактуру, вызываемую K^+ , чем контрактуру, вызываемую норадреналином [42]. По-видимому, вещества, подобные верапамилу, блокируют потенциалозависимые медленные Ca^{2+} -каналы, но почти или совсем не влияют каналы, управляемые рецепторами. Так как возникающая при действии норадреналина контрактура в меньшей степени угнетается при снижении $[\text{Ca}^{2+}]_o$, чем вызванная калием контрактура, можно предположить, что норадреналин вызывает освобождение Ca^{2+} из внутриклеточных источников, вероятно, связанного с внутренней поверхностью клеточной мембраны. Вместе с тем не исключена возможность проникновения норадреналина внутрь клетки и его прямого действия на мембрану СР с освобождением из него ионов Ca^{2+} (если это так, то антагонисты α -рецепторов также должны иметь доступ к этим местам).

Согласно данным Motulsky и соавт. [48], некоторые антагонисты Ca^{2+} , такие, как верапамил и метоксиверапамил (Д-600), (но не нифедипин или дилтиазем), способны также действовать как антагонисты α_1 - и α_2 -адренергических рецепторов, и это позволяет частично объяснить их сосудорасширяющее действие, а также ингибирование контрактуры ГМС, вызванной норадреналином.

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ВАЗОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Введение

Для изучения механизма действия некоторых вазоактивных соединений (вазодилататоров аденозина, нитроглицерина и верапамила и вазоконстриктора оубаина) были проведены эксперименты на крупных (внешний диаметр $>1,0$ мм) и мелких (внешний диаметр $<0,5$ мм) коронарных артериях собаки. При приеме сердечных гликозидов у некоторых больших развивается острое сужение коронарных артерий, и Fleckenstein и соавт. [49] предположили, что этот эффект опосредован увеличением поступления Ca^{2+} . Schnaar и Sparks [50] обнаружили, что находящиеся в контрактуре мелкие коронарные артерии могут быть расслаблены аденозином, но не нитроглицерином, в то время как крупные сосуды расслабляются нитроглицерином, но не аденозином. Они полагают, что наблюдаемые эффекты являются следствием ингибирования поступления в клетки ГМС ионов Ca^{2+} .

Kohlhardt и соавт. [51] (см. обзор Fleckenstein [52]) впервые показали, что верапамил уменьшает силу сокращения миокарда

путем ингибирования поступления Ca^{2+} из внеклеточной жидкости. То же действие, но несколько эффективнее, оказывает метоксиверапамил (Д-600). Способностью блокировать медленный входящий ток в миокарде обладает и еще один антагонист Ca^{2+} — нифедипин [36]. Верапамил не является специфичным по отношению к входу Ca^{2+} , так как он также угнетает вход по медленным каналам сердечных миоцитов, т. е. верапамил является неспецифическим блокаторм медленных каналов [37, 53]. Бепридил — новый антиангинальный препарат [62] и коронарный вазодилататор [60, 61] — также блокирует медленные ПД и медленные каналы кардиомиоцитов [38]. Аналогичный результат получен Labrid и соавт. [54]. Верапамил ингибирует поступление Ca^{2+} в клетки ГМС [55—58] и клетки гладких мышц внутренних органов [59]. Антагонисты Ca^{2+} оказывают сосудорасширяющее действие, в том числе и на коронарные артерии. Так как в клетках ГМС имеются медленные каналы, а быстрые Na^{+} -каналы либо отсутствуют, либо не функционируют, можно с уверенностью предсказать, что вещества, подобные верапамилу и бепридилу, будут блокировать ПД в клетках ГМС.

Общая характеристика потенциалов действия

Гладкомышечные клетки как мелких, так и крупных артерий не проявляют спонтанной электрической активности и характеризуются стабильным потенциалом покоя [15, 16]. Потенциалы действия обычно не удается вызвать путем внутриклеточного или внеклеточного пропускания импульсов тока (рис. 34.6А). Однако при добавлении в перфузат 10 мМ ТЭА⁺ импульсы тока, приложенные извне (прямоугольные импульсы длительностью 20—30 мс), способны вызывать развитие ПД с овершутом в 5—10 мВ в ткани и крупных, и мелких артерий (рис. 34.6Б). Такие же ПД

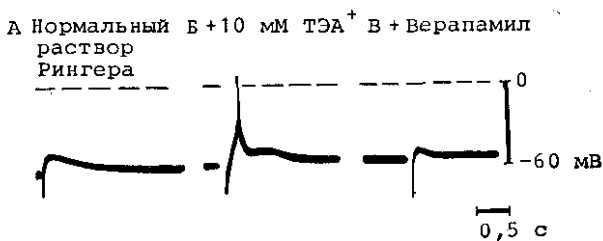


Рис. 34.6. Возникновение потенциалов действия в гладкомышечных клетках коронарной артерии собаки под действием ТЭА⁺ и их блокирование антагонистами кальция. (А) Контрольная запись в нормальном растворе Рингера; видно отсутствие спонтанных потенциалов действия или реакций в ответ на электрическую стимуляцию (показан один артефакт стимуляции); потенциал покоя —55 мВ. (Б) Запись, полученная от той же клетки через 10 мин после добавления 10 мМ ТЭА⁺; виден высокоамплитудный потенциал действия с овершутом, возникший в ответ на электрическую стимуляцию. (В) Добавление в раствор верапамила ($5 \cdot 10^{-6}$ М) через 5 мин устраняет потенциалы действия. Горизонтальной линией отмечен уровень нулевого потенциала. По [9].

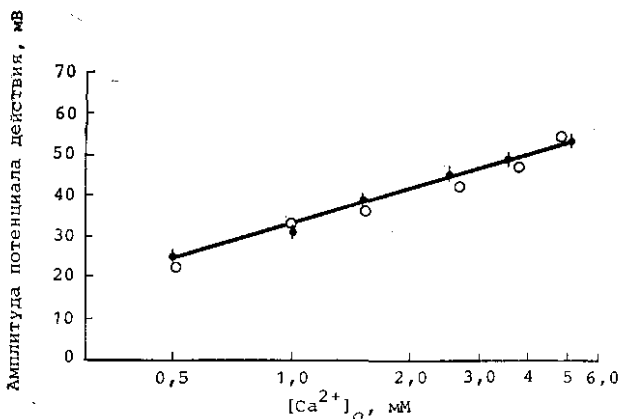


Рис. 34.7. Влияние повышения внеклеточной концентрации Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_o$) на амплитуду индуцированных ТЭА⁺ потенциалов действия крупных (>1,0 мм, темные кружки) и мелких (<0,5 мм, светлые кружки) коронарных артерий сердца собаки. Экспериментальные величины нанесены в виде средней \pm стандартное отклонение для 10–21 измерения. Прямая, проведенная через темные кружки, получена методом линейной регрессии. Средний наклон этой прямой — 30 мВ при 10-кратном изменении концентрации. По [15].

возникают и при внутриклеточном пропускании поляризующего тока. ТЭА⁺ сам по себе вызывает лишь небольшую деполяризацию — около 4 мВ. Средняя амплитуда индуцированных ТЭА⁺ ПД составляет 54 ± 1 мВ в мелких артериях и 56 ± 1 мВ в крупных (см. табл. 34.2). Величина $+\dot{V}_{\max}$ таких ПД равна 6 ± 1 В/с (мелкие артерии) и 5 ± 1 В/с (крупные артерии).

Зависимость потенциалов действия от Ca^{2+}

Амплитуда и $+\dot{V}_{\max}$ потенциалов действия, индуцированных ТЭА⁺ увеличиваются по мере повышения $[Ca^{2+}]_o$ (см. рис. 34.3) [9, 15]. Как видно на рис. 34.3, овершут ПД появляется в этом случае только при повышении $[Ca^{2+}]_o$ свыше 0,5 мМ. В растворе с высокой $[Ca^{2+}]_o$ вслед за потенциалом действия, вызванным стимуляцией, часто возникает второй ответ. Связь между амплитудой и $\log [Ca^{2+}]_o$ оказалась линейной, и средний наклон равен 30 мВ при 10-кратном изменении концентрации (между 0,5 и 5,0 мМ $[Ca^{2+}]_o$) в крупных артериях и 31 мВ при 10-кратном изменении концентрации в мелких артериях (рис. 34.7 и табл. 34.2). Эти величины хорошо согласуются с теоретически предсказанным наклоном (30,5 мВ при 10-кратном изменении концентрации) на основании уравнения Нернста для мембраны, селективной для двухвалентных ионов (при 37°C). Эти результаты свидетельствуют о том, что входящий ток, текущий во время ПД, переносится преимущественно ионами Ca^{2+} .

Блокирование Ca^{2+} -антагонистами

Верапамил и бепридил. Верапамил-НСI, известный блокатор медленных каналов [36, 37, 51, 53, 63], в концентрации 10^{-5} М быстро угнетает и полностью подавляет (см. рис. 34.6) индуцированные ТЭА⁺ ПД в гладких мышцах мелких и крупных коронарных артерий (табл. 34.3). Блокирующее действие верапамила согласуется с зависимостью ПД от ионов Ca^{2+} . Как и следовало ожидать, ингибирующее действие верапамила можно устранить путем повышения $[\text{Ca}^{2+}]_o$.

Показано, что антиангинальный препарат и коронарный вазодилататор бепридил угнетает и блокирует медленный входящий ток в сердечных миоцитах [38, 54]. В коронарной артерии собаки (внешний диаметр 0,5—1,0 мм) бепридил также быстро угнетает (10^{-6} М) и полностью блокирует (10^{-5} М) ПД, индуцированные ТЭА⁺ (см. табл. 34.3) [40]. Эти результаты позволяют объяснить

Таблица 34.3. Действие некоторых вазоактивных соединений на индуцированные ТЭА⁺ потенциалы действия в клетках мелких и крупных коронарных артерий сердца собаки

Вещества	Мелкие артерии (диаметр <0,5 мм)	Крупные артерии (диаметр >1,0 мм)
Верапамил ($1,5 \cdot 10^{-6}$ М)	Блокирует	Блокирует
Бепридил ($1 \cdot 10^{-5}$ М)	Блокирует *	—
Mn^{2+} (10^{-8} М)	Блокирует	Блокирует
Аденозин ($1 \cdot 10^{-5}$ М)	Блокирует	Нет эффекта
Нитроглицерин ($1 \cdot 10^{-5}$ М)	Нет эффекта	Блокирует
Сердечные гликозиды (10^{-8} — 10^{-6} М)	Потенцируют	—

* Исследовано на артериях промежуточного калибра (диаметром 0,5—1,0 мм). Из [9], [14], [15], [16], [64].

спазмолитическое действие бепридила ингибированием поступления Ca^{2+} в клетки коронарных артерий, что вызывает их релаксацию.

В зависимости от концентрации верапамил и бепридил также угнетают контрактуру, вызванную ионами K^+ в изолированных кольцевых препаратах аорты кролика (рис. 34.8) [42]. Эти вещества угнетают также контрактуру, вызванную норадреналином, правда, в меньшей степени, чем калиевую [42].

Ионы Mn^{2+} . MnCl_2 (1 мМ) оказывает на ГМС действие, аналогичное действию верапамила и бепридила, т. е. угнетает и полностью блокирует ПД, индуцированные ТЭА⁺, в тканях мелких и крупных артерий [63] (см. табл. 34.3 и рис. 34.4В и Г). Так как в концентрации 1 мМ Mn^{2+} является относительно специфическим блокатором медленных каналов, через которые ионы Ca^{2+}

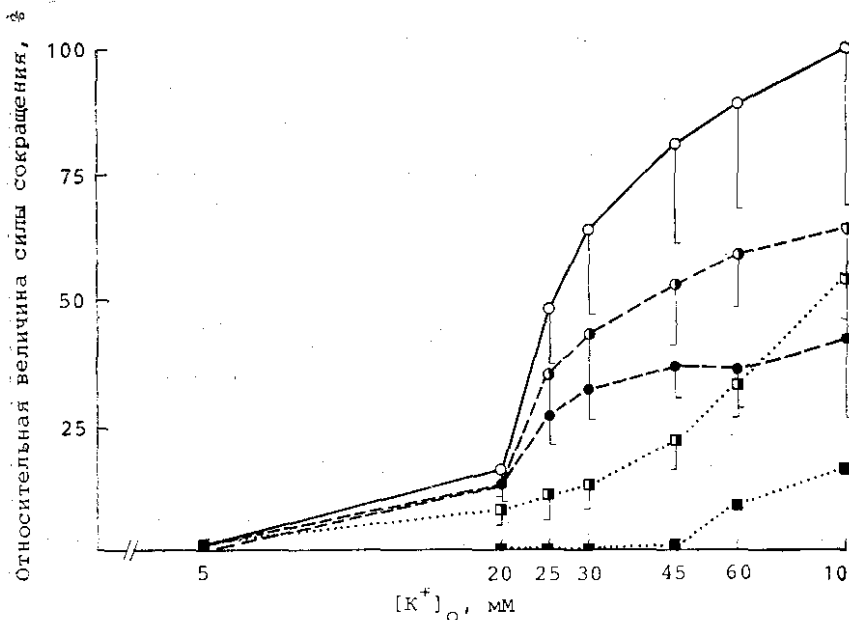


Рис. 34.8. Влияние верапамила и бепридила на сокращение колец, вырезанных из аорты кролика. Сокращение вызывали повышением концентрации K^+ в перфузате. Получены кривые зависимости реакции от концентрации K^+ контрольных препаратов (светлые кружки) и в присутствии верапамила (квадраты: 10^{-5} — темные квадраты и 10^{-6} М) и бепридила (кружки: 10^{-5} — темные кружки и 10^{-6} М). Измерения начинали через 20 мин после добавления блокатора. Сила сокращения выражена в процентах от максимальной реакции в контрольном препарате. По [42].

проходят внутрь клетки, и не блокирует медленные или быстрые Na^+ -каналы [37], эти результаты согласуются также с выводом, что входящий ток, текущий во время индуцированных ТЭА⁺ ПД, переносится исключительно ионами Ca^{2+} .

Пропафенон. Пропафенон, являющийся еще одним вазодилататором, также угнетает (10^{-6} М) и полностью подавляет (10^{-5} М) ПД в коронарной артерии собаки, индуцированные ТЭА [35].

Эффекты аденозина и нитроглицерина

Действие аденозина на мелкие коронарные артерии. Аденозин в концентрации 10^{-5} М в течение 1 мин устраняет Ca^{2+} -зависимые индуцированные ТЭА⁺ потенциалы действия в мелких коронарных артериях (табл. 34.3) [15]. Если после блокирования возбудимости клеток ГМС аденозином в перфузат добавить аденозиндеаминазу, разрушающую аденозин, то уже через 2 мин с помощью электрической стимуляции удается вызвать ПД. На рис. 34.9 (светлые столбики) показана зависимость $+V_{max}$ (см. рис. 34.9А) и амплитуды ПД (см. рис. 34.9Б) от концентрации аденозина. Видно, что угнетение ПД начинает проявляться при

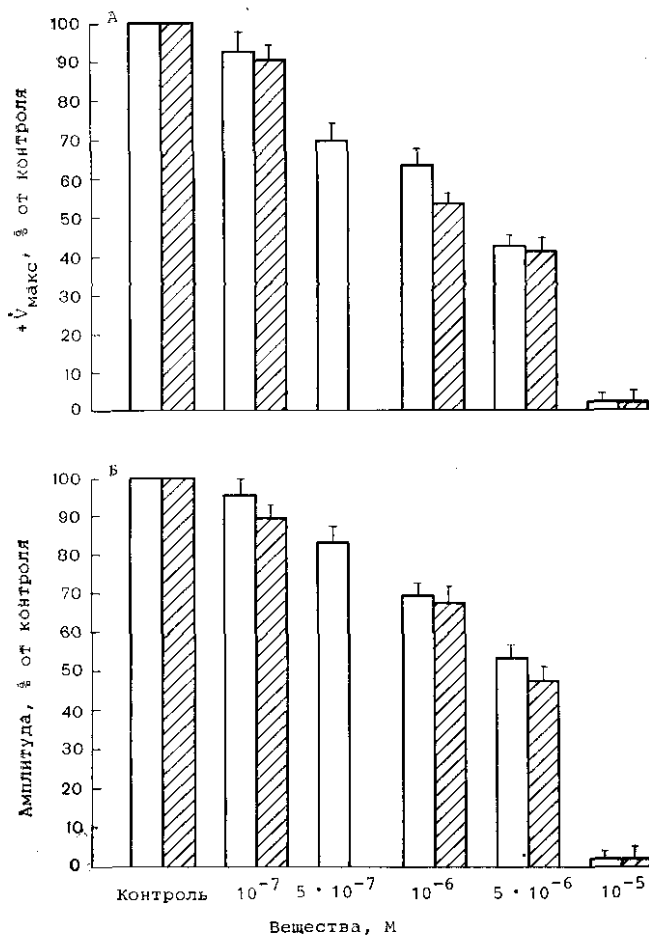


Рис. 34.9. Зависимость максимальной скорости нарастания ($+V_{\text{макс}}$) (А) и амплитуды (Б) потенциалов действия гладкой мышцы коронарной артерии от концентрации аденозина (светлые столбцы) и интроглицерипа (штрихованные столбцы). Потенциалы действия вызывали электрической стимуляцией на фоне ТЭА⁺. По оси ординат — параметры ПД, выраженные в процентах к контрольным величинам, измеренным в отсутствие веществ. Каждый столбец представляет среднюю \pm стандартное отклонение для 6—8 клеток из 3—4 коронарных артерий. Данные с аденозином получены на препаратах мелких артерий, с нитроглицеринном — на крупных. Полное блокирование ПД в обоих случаях достигалось при концентрации 10^{-5} М. По [15].

концентрации $1 \cdot 10^{-7}$ М и полный блок достигается при концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ М. Угнетение $+V_{\text{макс}}$ отражает ингибирующее действие аденозина на входящий Ca^{2+} -ток. Аденозин не оказывал существенного влияния ни на потенциал покоя (V_m), ни на входное сопротивление ($r_{\text{вх}}$).

Отсутствие чувствительности к аденозину крупных коронарных артерий. В концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ аденозин не влиял на ам-

плитуду и $+V_{\text{макс}}$ Ca^{2+} -зависимых индуцированных ТЭА⁺ ПД в крупных коронарных артериях (см. табл. 34.3) [15]. Аденозин также не оказывал существенного действия на потенциал покоя и $\Gamma_{\text{вх}}$.

Действие нитроглицерина на крупные коронарные артерии. В концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ М нитроглицерин за 5 мин полностью блокировал Ca^{2+} -зависимые индуцированные ТЭА⁺ ПД в крупных коронарных артериях (см. табл. 34.3) [15]. На рис. 34.9 (заштрихованные столбики) показана зависимость действия нитроглицерина на $+V_{\text{макс}}$ (см. рис. 34.9А) и амплитуду ПД (рис. 34.9Б) от концентрации. Видно, что угнетение этих параметров на 50% наблюдается при концентрации нитроглицерина, равной $5 \cdot 10^{-6}$ М, а при концентрации $1 \cdot 10^{-7}$ М он оказывал лишь слабое действие. Угнетение $+V_{\text{макс}}$ соответствует блокирующему действию нитроглицерина на входящий Ca^{2+} -ток. Повышение $[\text{Ca}^{2+}]_0$ на 3 мМ восстанавливает параметры ПД до нормы, что указывает на связь ингибирующего действия нитроглицерина с блокированием поступления ионов Ca^{2+} . Нитроглицерин не оказывает существенного влияния на потенциал покоя и $\Gamma_{\text{вх}}$.

Отсутствие чувствительности к нитроглицерину мелких коронарных артерий. В концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ М нитроглицерин не оказывал действия на амплитуду и $+V_{\text{макс}}$ Ca^{2+} -зависимых ПД мелких коронарных артерий (см. табл. 34.3) [15]. Нитроглицерин не влиял на потенциал покоя и $\Gamma_{\text{вх}}$.

Потенциация входящего Ca^{2+} -тока сердечными гликозидами

Эффекты сердечных гликозидов, оубаина и дигоксина, как известно, вызывающих сужение коронарных сосудов, изучали на изолированных мелких (внешний диаметр $< 0,5$ мм) коронарных артериях собаки [16]. Сердечные гликозиды в концентрации от $4 \cdot 10^{-9}$ до $1 \cdot 10^{-7}$ М увеличивают амплитуду и $+V_{\text{макс}}$ Ca^{2+} -зависимых индуцированных ТЭА⁺ ПД (рис. 34.10 и табл. 34.3). В большинстве экспериментов использовали субмаксимальную концентрацию ТЭА⁺ (5 мМ), чтобы потенцирующее действие сердечных гликозидов проявлялось как можно ярче. На рис. 34.11 показана зависимость $+V_{\text{макс}}$ (см. рис. 34.11А) и амплитуды ПД (см. рис. 34.11Б) от концентрации дигоксина. Видно, что уже концентрации $4 \cdot 10^{-9}$ М дигоксин вызывает значительное увеличение обоих параметров, а максимальная потенциация наблюдается при $1 \cdot 10^{-7}$ М. Если концентрацию дигоксина повысить до $1 \cdot 10^{-6}$ М, то его потенцирующее действие будет слабее, чем при концентрации $1 \cdot 10^{-7}$ М, что согласуется с блокированием мембранных каналов сердечными гликозидами при высокой их концентрации [63—65], а также с развитием небольшой деполяризации препарата.

В присутствии подпороговой концентрации ТЭА⁺ (например 5 мМ) добавление в перфузат сердечных гликозидов вызывает

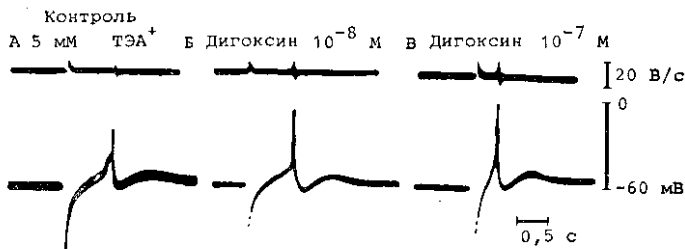


Рис. 34.10. Иллюстрация потенцирующего действия дигоксина на амплитуду и максимальную скорость нарастания потенциала действия гладкой мышцы. (А) Электрическая стимуляция препарата в присутствии ТЭА⁺ в низкой концентрации (5 мМ) вызывает появление потенциалов действия, максимальная величина которых не достигает уровня 20 В/с. (Б) и (В) Потенциалы действия зарегистрированные в той же точке через 2 мин после добавления дигоксина в концентрации 10⁻⁸ М (Б) и 10⁻⁷ М (В). Видно существенное увеличение амплитуды и максимальной скорости нарастания ПД. Вверху — запись dV/dt. По [16].

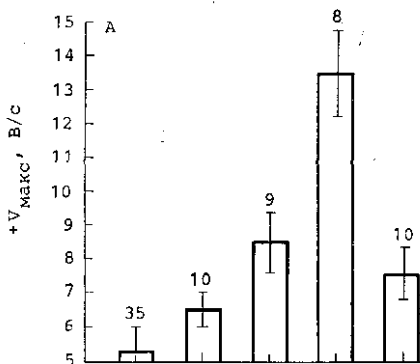


Рис. 34.11. Зависимость максимальной скорости нарастания (А) и амплитуды (Б) потенциалов действия гладкой мышцы коронарных артерий (небольшого калибра) собаки от концентрации дигоксина. Препарат стенки сосуда перфузировали раствором, содержащим 5 мМ ТЭА⁺, что позволяло при электрической стимуляции вызывать потенциалы действия. Данные представлены в виде средней ± стандартное отклонение для 24—60 измерений. При концентрации 10⁻⁸ М наблюдается существенное увеличение как $\dot{V}_{\text{макс}}$, так и амплитуды ПД, а максимальный эффект наблюдается при 10⁻⁷ М. При более высокой концентрации дигоксина (10⁻⁶ М) эффект был меньше. По [16].

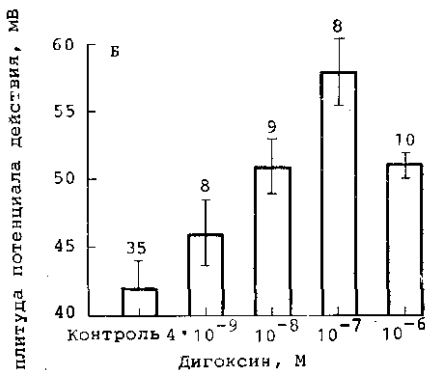
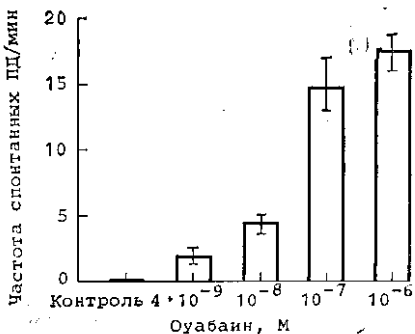


Рис. 34.12. Зависимость частоты спонтанных потенциалов действия (А) гладкой мышцы коронарной артерии собаки в присутствии 10 мМ ТЭА⁺ от концентрации оубаина. Данные представлены в виде средней ± стандартное отклонение для 12 отведений на 2—7 коронарных артериях. По [16].



быстрое (за 3—10 мин) появление спонтанных ПД или увеличение частоты следования спонтанных ПД, вызванных присутствием ТЭА⁺ в концентрации 10 или 15 мМ (рис. 34.12) [16]. Небольшое повышение $[Ca^{2+}]_o$ (например, на 1 мМ) вызывает значительное увеличение частоты следования, амплитуды и скорости нарастания ПД, т. е. эффект гликозидов усиливается при повышении $[Ca^{2+}]_o$, что согласуется с представлением о том, что эти эффекты опосредованы увеличением проводимости Ca^{2+} , а значит, и поступления в клетки Ca^{2+} . Верапамил ($5 \cdot 10^{-6}$ М) полностью блокирует ПД, вызванные действием сердечных гликозидов.

Фентоламин ($5 \cdot 10^{-6}$), α -адренергический антагонист, не предотвращает развития эффектов гликозидов, а фенилэфрин ($5 \cdot 10^{-6}$ М), α -адренергический агонист, не способен имитировать эффекты гликозидов и не оказывает существенного влияния на потенциал покоя или потенциалы действия [16]. Эти результаты свидетельствуют о том, что эффекты гликозидов не опосредованы высвобождением катехоламинов из окончаний симпатических нервов или активацией α -адренергических рецепторов.

Эффекты сердечных гликозидов развиваются еще до того как возникает деполяризация клеток [16]. Существенная деполяризация наблюдается только после относительно продолжительного действия (например, 15 мин) гликозидов в высоких концентрациях: 10^{-6} М для дигоксина и 10^{-7} М для оубаина. Через 15 мин действия оубаина в концентрации 10^{-6} М развивается деполяризация порядка 12 мВ (от контрольной величины -54 мВ до -42 мВ).

В заключение отметим, что полученные данные указывают на увеличение медленного входящего Ca^{2+} -тока в ГМС при действии сердечных гликозидов в низкой концентрации ($<10^{-7}$ М), механизм которого не зависит от деполяризации мембраны, т. е. не связан с хорошо известной способностью гликозидов ингибировать (Na^+ , K^+)-АТФазу и угнетать работу Na^+/K^+ -насоса. Такое потенцирующее действие сердечных гликозидов на поступление Ca^{2+} в клетки ГМС способно объяснить вызываемые ими сосудосуживающие эффекты и может играть важную роль в развитии токсического действия.

Потенциация входящего Ca^{2+} -тока гистамином

Harder [22] показал, что гистамин (10^{-7} — 10^{-5} М) увеличивает $+\dot{V}_{\max}$ и амплитуду индуцированных ТЭА⁺ ПД в коронарных артериях собаки (внешний диаметр $<0,5$ мм) и что такой эффект блокируется антагонистом H_1 -рецепторов малеатом пириламина. В отсутствие ТЭА гистамин (10^{-6} М) гиперполяризует покоящийся препарат на 9 мВ (от -55 до -64 мВ) и снижает $g_{\text{вх}}$ примерно в 2 раза по сравнению с контролем, что согласуется с увеличением $g_{\text{к}}$. Так как вызываемую гистамином гиперполяризацию можно предотвратить, добавив в перфузат 1 мМ Mn^{2+} , было предположено, что такое увеличение $g_{\text{к}}$ опосредовано увеличением

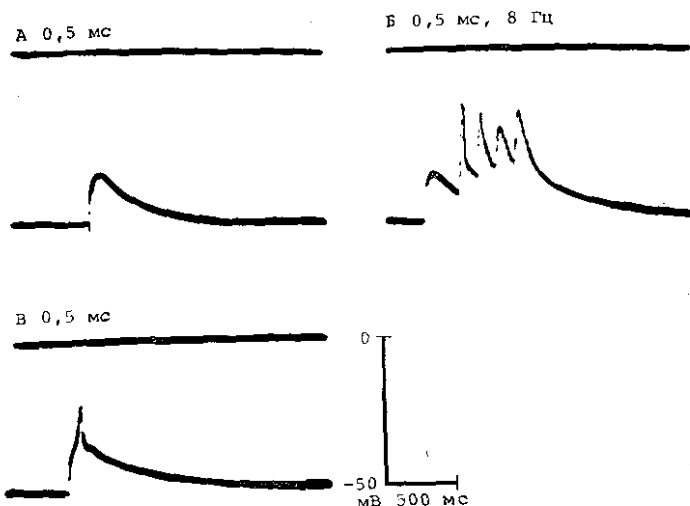


Рис. 34.13. Влияние стимуляции нерва на электрическую активность гладкой мышцы мелкой брыжеечной артерии морской свинки. Все записи сделаны от одной клетки. (А) Одиночный возбуждающий постсинаптический потенциал (ВПСП) в ответ на однократную стимуляцию нервного волокна электрическим полем (длительность 0,5 мс). (Б) Стимуляция последовательностью импульсов (8 Гц, длительность 0,5 мс) вызывает возникновение нескольких спайковых потенциалов действия и сокращения. (В) В некоторых случаях одиночный стимул вызывает появление ВПСП, который достигает уровня порога развития спайковых потенциалов действия. По [8].

поступления Ca^{2+} в клетки ГМС и повышением $[\text{Ca}^{2+}]_i$ вследствие эффекта Мееч-Гардос (вызванное Ca^{2+} увеличение g_{K}).

Согласно данным Casteels и Suzuki [66], в ушной артерии кролика гистамин активирует как H_1 -рецепторы (блокируемые мепирмином), так и H_2 -рецепторы (блокируемые диметидином), причем активация H_1 -рецепторов вызывает деполяризацию и увеличение силы сокращения, а активация H_2 -рецепторов — гиперполяризацию и уменьшение силы сокращения. Так как в бескальциевой среде активация H_2 -рецепторов не вызывает гиперполяризации, можно предположить, что последняя связана со стимуляцией работы электрогенного насоса. Эти авторы также обнаружили, что влияние гистамина на силу сокращения не зависит от изменения V_m , поэтому они сделали вывод, что активация H_1 -рецепторов вызывает освобождение Ca^{2+} из внутриклеточных запасников, а активация H_2 -рецепторов ингибирует такое освобождение.

Нервно-мышечное взаимодействие

Согласно данным Mekata [1], клетки коронарных артерий собаки электрически неактивны и в них не удастся вызвать ПД с помощью электрической стимуляции. Однако стимуляция электрическим полем (короткие импульсы длительностью 0,5 мс) интрамуральных нервов вызывает либо сокращение ГМС, сопро-

возбуждающееся деполяризацией, либо расслабление, сопровождающееся гиперполяризацией. Деполяризация наблюдается в том случае, когда потенциал покоя ниже -60 мВ, а гиперполяризация — когда он выше -50 мВ. Такие реакции блокируются ТТХ, что позволяет предположить, что изменения потенциала V_m клеток ГМС обусловлены возбуждающими или тормозными постсинаптическими потенциалами, возникающими вследствие высвобождения медиатора при возбуждении нервных окончаний. Meckata сделал вывод, что даже в таких относительно крупных артериях (диаметром около $2,5$ мм) большинство клеток, в том числе находящиеся вблизи просвета сосуда, могут испытывать управляющее влияние нервов (обычно заканчивающихся на границе раздела между наружной и средней оболочкой).

Характеристики возбуждающих постсинаптических потенциалов были изучены в ряде сосудов, включая артерии и артериолы брыжейки и подкожную и ушную артерии морской свинки [8, 34, 67—74]. Примеры ВПСН приведены на рис. 34.13.

ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК ГМС

Преимущества культуры клеток

В течение последних 10 лет для изучения свойств клеток ГМС многие исследователи использовали клетки, выращиваемые в условиях культуры. Такие препараты особенно интенсивно использовались для исследования метаболизма липидов и других биохимических реакций [75], однако очень немного работ было посвящено изучению электрофизиологических свойств клеток. Большая часть биохимических исследований была проведена на культурах, выращиваемых на искусственной среде. Для получения таких препаратов размельченные фрагменты средней оболочки стенки кровеносного сосуда содержали в среде в течение нескольких недель, позволяя клеткам «прорасти» из эксплантата; образующиеся при этом новые клетки культивировали в нескольких пассажах (подробное описание метода см. Sperelakis [76]). Однако уже через несколько дней такие культивируемые клетки обычно теряют свои сократительные свойства, т. е. происходит их дедифференцировка (например, см. Chamley и Campbell [77]). Исследования электрических свойств проводили на первичной культуре, получаемой путем ферментативного выделения отдельных клеток из гладкой мышцы и содержания их в условиях культуры в течение нескольких дней до начала исследования [39, 41, 78—81]. Была, однако, получена и охарактеризована монослойная культура клеток аорты крысы, обладающая спонтанной активностью; такая культура была получена после нескольких пассажей и сохраняла свои свойства до 3 мес [82].

Изучение культивируемых клеток ГМС имеет ряд преимуществ, включая следующие: а) от таких клеток легче получить

стабильные микроэлектродные отведения в течение длительного времени благодаря полному отсутствию грубой соединительной ткани и очень слабым сокращениям; особенно ценно для микроэлектродных отведений использование реагрегатов культивируемых клеток в виде небольших (диаметром 50—300 мкм) сфер (получаемых вращением культуры в течение 24 ч) (см. обзор Sperelakis [76]); б) можно получить относительно чистые популяции миоцитов, что гарантирует определение биохимических свойств именно в мышечных клетках, а не в клетках других типов, присутствующих в интактной стенке сосуда; в) культивируемые клетки ГМС денервированы, поэтому можно изучать эффекты различных вазоактивных соединений при полной уверенности в отсутствии нейрогенных эффектов; г) исследование влияния различных условий на работу клеток ГМС можно проводить в отсутствие каких бы то ни было системных воздействий, например веществ, циркулирующих в крови; д) можно изучать эффекты длительного воздействия на клетки ГМС различных веществ или измененных условий; е) при использовании монослойной культуры можно проводить изучение ионных потоков, так как в таком препарате отсутствует межклеточное пространство, что упрощает анализ результатов и их интерпретацию.

Культивируемые клетки ГМС куриного эмбриона

McLean и Sperelakis [79] удалось получить культивируемые реагрегаты клеток ГМС, которые способны спонтанно сокращаться. Одиночные клетки, изолированные с помощью трипсина из артерий и вен (крупных сосудов вокруг сердца, а также брыжечных сосудов), выделенных из 10—20-дневных куриных эмбрионов, образовали в условиях культуры сферические реагрегаты (диаметром 100—300 мкм) в результате вращения среды активации. Большинство таких сферических реагрегатов сократилось спонтанно или в ответ на электрическую стимуляцию при помещении в культуру до 6 нед. Если позволить таким реагрегатам приклеиться к стеклу, то клетки покидают сферы и образуют отдельные участки монослоя клеток, продолжающих сокращаться. В большей части клеток при электронной микроскопии удается выявить толстые и тонкие миофиламенты, а также «плотные зоны», характерные для гладкомышечных клеток.

Гладкомышечные клетки в такой первичной культуре характеризуются потенциалом покоя от -40 до -60 мВ, а также высокочастотными ПД с максимальной скоростью нарастания от 4—10 В/с. Кроме того, ПД нечувствительны к тетродотоксину и блокатору быстрых Na^+ -каналов. Эти электрофизиологические свойства характерны для гладкомышечных клеток. Возникновению потенциалов действия в таких клетках предшествует немембранная деполяризация, определяющая развитие спонтанных возбуждений.

Таким образом, перечисленные результаты указывают, что гладкомышечные клетки сосудов можно успешно содержать в ви-

де реагрегатов в первичной культуре в течение нескольких недель и такие клетки сохраняют электрические и механические свойства, присущие гладкомышечным клеткам кровеносных сосудов взрослых животных. Поэтому препарат представляет собой удобную модель для изучения электрофизиологических и фармакологических свойств клеток ГМС.

Опубликованы результаты выращивания спонтанно сокращающейся культуры клеток брыжеечных сосудов куриного эмбриона [78]. Проведены также электрофизиологические исследования на культивируемых реагрегатах гладкомышечных клеток крупных артерий (vas deferens) морской свинки [83].

Культивируемые клетки аорты крысы

В последнее время достигнуты успехи в получении и микроэлектродной регистрации потенциала в культивируемых реагрегатах клеток аорты взрослой крысы [39, 41, 81, 84]. Клетки выделяли путем обработки коллагеназой и эластазой, а затем получали реагрегаты в виде небольших сфер (диаметром 50—200 мкм) либо путем выращивания их на целлофане, либо путем длительного вращения сосуда со средой культивации; полученную таким образом первичную культуру инкубировали в течение 5—14 дней.

В первой работе на таком препарате [39] был зарегистрирован средний потенциал покоя около -55 мВ, а средняя величина входного сопротивления составляла $9,0$ МОм (табл. 34.4). Клетки

Таблица 34.4. Некоторые электрические свойства гладкомышечных клеток, ферментативно выделенных из аорты взрослой крысы и содержащихся в условиях культуры

Условия	V_m , мВ	$\Gamma_{вх}$, МОм
Контроль	$-55 \pm 1,0$	$9,9 \pm 0,6$
Ba^{2+} : 1,0 мМ	$-36 \pm 1,5$	$17,0 \pm 1,0^*$
ТЭА ⁺ : 5,0 мМ	$-52 \pm 1,6$	$10,5 \pm 1,0$
15,0 мМ	$-35 \pm 0,5^*$	$16,3 \pm 0,6^*$
Адреналин: 10^{-7} М	$-46 \pm 1,2^*$	—
10^{-6} М	$-35 \pm 1,2^*$	—

Данные представлены в виде средней ± 1 стандартное отклонение.

* Отличие от контроля статистически достоверно при $p < 0,005$. Из [30], [41].

не обладали ни электрической, ни механической спонтанной активностью, и реакцию часто не удавалось вызвать даже с помощью электрической стимуляции. Однако некоторые клетки все же возбуждались при электрической стимуляции, и в таких случаях ПД состоял из начального спайкообразного компонента, за которым следовало продолжительное плато длительностью около 5 с. В клетках, не реагирующих на электрическую стимуляцию, возбудимость могла быть восстановлена путем добавления в среду ионов Ba^{2+} (1 мМ) или ТЭА⁺ (5—15 мМ), причем возбуждение

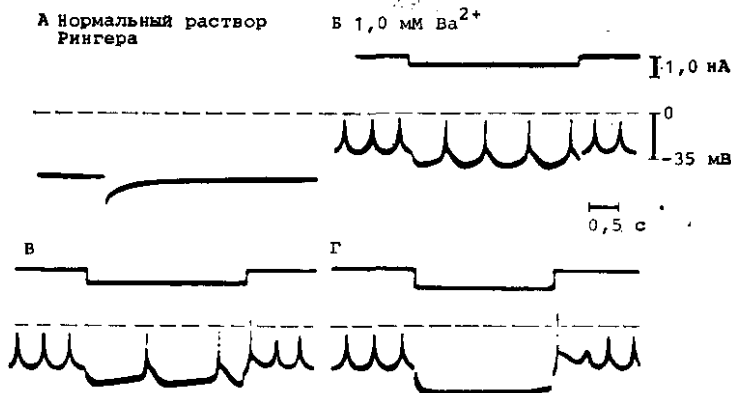


рис. 34.14. Генерация спонтанных потенциалов действия в первичной культуре гладкомышечных клеток аорты крысы под влиянием ионов Ba^{2+} . (А) Контрольная запись, спонтанные ПД и реакция на электрическую стимуляцию отсутствуют (показан один артефакт стимуляции). (Б и В) Записи, позволяющие частично деполаризацию и возникновение спонтанных ПД при введении в среду $1,0 \text{ mM } Ba^{2+}$. Внутриклеточное пропускание гиперполяризующего тока силой $0,5 \text{ nA}$ (Б) и $0,9 \text{ nA}$ (В) вызывает увеличение амплитуды и уменьшение частоты спонтанных ПД. (Г) При силе гиперполяризующего тока $1,2 \text{ nA}$ спонтанная активность исчезает. Обратите внимание, окончание тока на (Б) и (Г) стимулирует появление ПД. Все записи получены от одной и той же клетки. По [39].

сопровождалось сокращением. В этом случае либо удавалось получить ответы на электрическую стимуляцию, либо возникали спонтанные ПД (рис. 34.14). Ионы Ba^{2+} вызывают частичную деполаризацию клеток (например, до -36 mV), а их входное сопротивление возрастает (см. табл. 34.4). На частоту спонтанных возбуждений, возникающих на фоне Ba^{2+} , влияет пропускание гиперполяризующих импульсов тока, что естественно для пейсмейкерной активности (рис. 34.14Б—Г). Повышение концентрации Ba^{2+} в среде увеличивает амплитуду (овершут) ПД и удлиняет фазу плато (рис. 34.15). Такие ПД блокируются верапамилом (10^{-6} M). Реагрегаты состоят из плотно упакованных удлиненных клеток небольшого диаметра, причем в некоторых из них удается выделить толстые и тонкие миофиламенты, а также «плотные тельца» и кавеолы поверхностной мембраны. Результаты, полученные в данной работе, показывают, что реагрегаты гладкомышечных клеток артерий в условиях первичной культуры могут сохранять функциональные и морфологические характеристики интактных мышечных клеток артерий, а следовательно, являются удобными препаратами для изучения функций гладких мышц сосудов и их регуляции³.

В последующих работах [41, 81, 84] было подтверждено, что ПД, вызываемые электрической стимуляцией (в отсутствие таких агонистов, как Ba^{2+} или ТЭА⁺), характеризуются большой длительностью (3—5 с) и состоят из быстрого спайкообразного компонента и фазы плато, а верапамил и Mn^{2+} блокируют оба компонента. Иногда плато возникало без начальной быстрой фазы. Началь-

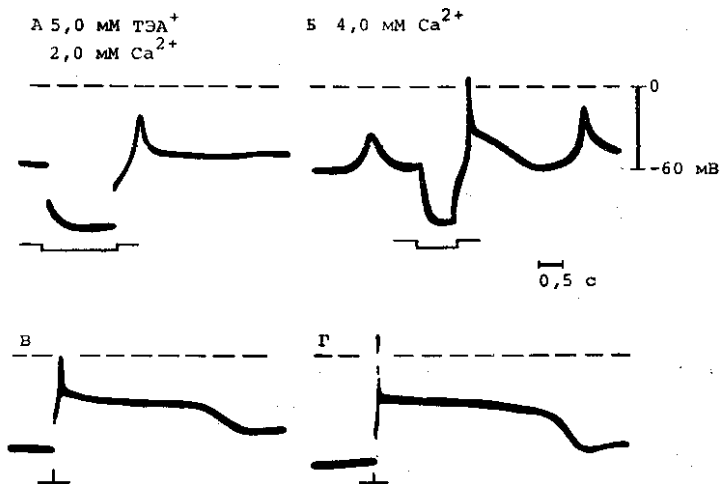


Рис. 34.15. Электрическая активность гладкомышечных клеток, выделенных ферментативно из аорты взрослой крысы и находящихся в условиях культуры. (А) На этой записи показано появление небольшого спайкового потенциала действия при стимуляции анодным размыканием в растворе, содержащем нормальную концентрацию Ca^{2+} и 5 мМ ТЭА⁺. (Б) Регистрации высокоамплитудного ПД с овершутом и выраженной следовой деполяризацией в той же клетке после повышения концентрации Ca^{2+} до 4,0 мМ при стимуляции анодным размыканием. Возникает также спонтанная активность. (В и Г) Записи, полученные от клетки из другого реакрегата, показывающие трансмембранный потенциал в ответ на короткий импульс деполяризующего тока (3 мс) в растворе с 2 мМ Ca^{2+} (В) и 4 мМ Ca^{2+} (Г). Обратите внимание на значительное увеличение амплитуды спайкообразной фазы ПД и увеличение длительности фазы плато при повышении концентрации Ca^{2+} . Моменты нанесения импульсов гиперполяризующего (А и Б) и деполяризующего (В и Г) тока показаны внизу на каждом фрагменте. По [39].

ный спайкообразный компонент имел скорость нарастания ($+V_{\text{макс}}$) около 1–3 В/с, и его амплитуда составляла 30–40 мВ (иногда он почти достигал уровня нулевого потенциала). Если фаза плато возникала изолированно, то ее скорость нарастания была гораздо ниже (0,1–0,3 В/с). Показано, что существует четкий порог развития таких ПД и они постепенно уменьшаются при слишком высокой частоте стимуляции (эффект «усталости»). Добавление в среду антагониста ионов Ca^{2+} бепридила, сходного с верапамилом, также угнетает или полностью блокирует ПД в зависимости от концентрации (10^{-7} – 10^{-5} М). Эти результаты согласуются с данными внеклеточных регистраций, показывающих, что в изолированных полосках стенки аорты крысы возникают ПД с длительным плато [85].

Апиготензин II (АП) в концентрации 10^{-6} М, введенный в культуре, быстро деполяризует культивируемые клетки на 10–30 мВ [81]. Иногда деполяризация, вызванная АП, способствует возникновению ПД (со спайкообразным компонентом и фазой плато) (рис. 34.16). Деполяризацию, обусловленную введением

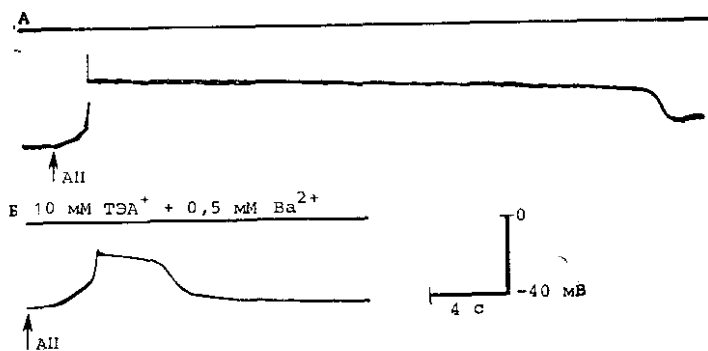


Рис. 34.16. Влияние ангиотензина (АII) на электрическую активность ре-агрегатов гладкомышечных клеток аорты крысы в условиях культуры. (А) Добавление АII в среду 20 мкл раствора концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ М в камеру (объемом 1,0 мл) вызывает быструю деполяризацию мембраны и возникновение потенциала действия с фазой быстрого нарастания и плато. (Б) В присутствии 10 мМ ТЭА и 0,5 мМ Ba^{2+} ангиотензин (в той же концентрации) также деполяризует мембрану и вызывает ПД. По [81].

АII, не удается вызвать в безнатриевой среде, что свидетельствует о связи такой деполяризации с увеличением проводимости ионов Na^+ . Эти эксперименты показывают, что АII оказывает прямое действие на клетки ГМС, вызывая их деполяризацию, и это может быть одним из важнейших механизмов, обуславливающих сокращение клеток ГМС под действием ангиотензина. Это свидетельствует также о существовании рецепторов к ангиотензину в культивируемых клетках.

Культивируемые реагрегаты клеток аорты крысы, выделенные из животных со спонтанной гипертензией (СГК), характеризуются сходными реакциями на АII [81]. Между величинами потенциала покоя клеток СГК ($V_m = -45,6 \pm 0,5$ мВ) и клеток крыс линии Wistar—Kyoto ($V_m = -44,7 \pm 0,5$ мВ) существенных различий не обнаружено, так же как между параметрами потенциалов действия.

При дальнейшем изучении эффектов ангиотензина Johns и Sperelakis [84] обнаружили, что продолжительное воздействие (а не однократное в виде болюса) ангиотензина II на культивируемые клетки ГМС аорты крысы также вызывает деполяризацию порядка 20 мВ, сопровождающуюся ПД со спайкообразным компонентом и плато (длительностью около 20 с). В этих условиях также значительно уменьшается входное сопротивление, что согласуется с увеличением входящего деполяризующего тока под действием ангиотензина. Это позволяет объяснить сильное сосудосуживающее действие ангиотензина.

* * *

Потенциал покоя клеток в мелких и крупных коронарных артериях собаки, верхней брыжеечной артерии морской свинки и культивируемых клетках аорты крысы составляет приблизительно

но -54 мВ. В верхней брыжеечной артерии морской свинки вклад потенциала электрогенного насоса в потенциал покоя равен 8 мВ, т. е. диффузионный потенциал ($E_{\text{дифф}}$) равен -46 мВ. Отношение $R_{\text{Na}}/R_{\text{K}}$, рассчитанное с помощью уравнения постоянного поля Гольдмана, исходя из такой величины $E_{\text{дифф}}$ и предполагая $[\text{K}^+]_i = 160$ мМ и $[\text{Na}^+]_i = 15$ мМ, равно $0,18$ (при $[\text{K}^+]_o = 4$ мМ). Величина $[\text{K}^+]_i$, равная 160 мМ для клеток верхней брыжеечной артерии морской свинки, получена путем экстраполяции кривой зависимости V_m от $\log [\text{K}^+]_o$. В клетках верхней брыжеечной артерии морской свинки ионы Cl^- , по-видимому, распределены пассивно, т. е. их распределение обусловлено только величиной трансмембранного потенциала ($E_{\text{Cl}} = V_m$) и нет никаких электрофизиологических данных в пользу существования Cl^- -насоса. Средняя величина входного сопротивления клеток ГМС равна приблизительно 9 МОм, что при длине клетки 200 мкм и радиусе $2,5$ мкм дает сопротивление мембраны (R_m), равное 283 Ом·см². (Если между клетками имеются низкоомные контакты, реальная величина R_m будет выше.)

Клетки ГМС *in vitro* в составе изолированного препарата стенки артерии обычно электрически невозбудимы (за исключением некоторых клеток аорты крысы в культуре), несмотря на то, что такие клетки, по-видимому, генерируют ПД *in situ* в ответ на суммированные ВПСП, обусловленные высвобождением нейромедиатора. Добавление в среду таких ионов, как Ba^{2+} или TЭА^+ , угнетающих проводимость ионов K^+ в покое и при возбуждении, а значит, и ингибирующих выходящий K^+ -ток, позволяет с помощью электрической стимуляции вызывать в таких клетках высокоамплитудные спайковые ПД с овершутом. Угнетение выходящего тока увеличивает суммарный входящий ток и таким образом облегчает процесс возбуждения.

Максимальная скорость нарастания ($+\dot{V}_{\text{макс}}$) ПД, индуцируемых TЭА^+ , составляет в среднем 5 В/с. Деполяризация, как и ожидается, приводит к уменьшению $+\dot{V}_{\text{макс}}$, а полная инактивация медленных каналов ($+\dot{V}_{\text{макс}} = 0$) происходит при $V_m = -22$ мВ. Овершут ПД часто составляет $+10$ мВ, однако в некоторых случаях максимум ПД не достигает уровня нулевого потенциала. Величина овершута зависит от $[\text{Ca}^{2+}]_o$, при повышении $[\text{Ca}^{2+}]_o$ овершут возрастает. Графики зависимости амплитуды (и $+\dot{V}_{\text{макс}}$) ПД от $\log [\text{Ca}^{2+}]_o$ представляют собой прямые линии (в диапазоне от $0,5$ до $5,0$ мМ), наклон которых близок к 30 мВ при 10 -кратном изменении концентрации. Поскольку такая величина наклона практически совпадает с теоретической, рассчитанной на основании уравнения Нернста для двухвалентных ионов, а изменение $[\text{Na}^+]_o$ почти не влияет на амплитуду и $+\dot{V}_{\text{макс}}$ ПД, считается, что входящий ток, определяющий развитие ПД на фоне TЭА^+ , переносится почти исключительно ионами Ca^{2+} .

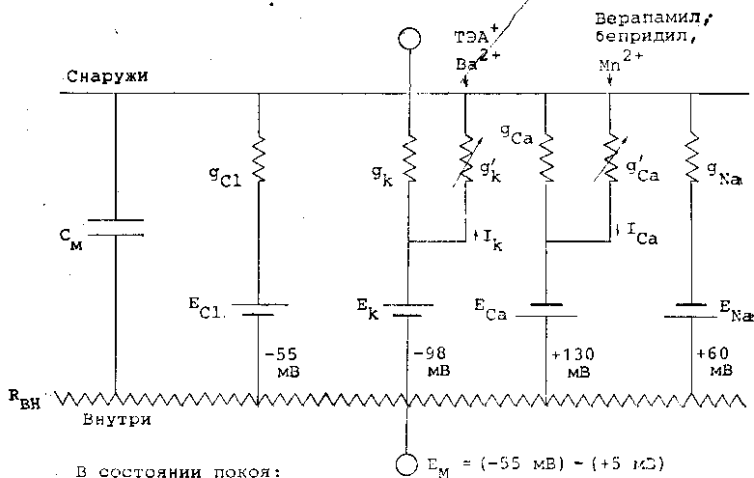
Как и ожидалось, верапамил блокирует Ca^{2+} -зависимые ПД, в то время как ТТХ не влияет на их амплитуду или $+\dot{V}_{\text{макс}}$. Эти результаты указывают, что входящий быстрый Na^+ -ток не вносит

никакого вклада в суммарный входящий ток в клетках ГМС, который является медленным входящим током, переносимым ионами Ca^{2+} через медленные каналы. Таким образом, быстрые Na^+ -каналы либо отсутствуют в клетках ГМС, либо находятся в нефункционирующем состоянии. В этом отношении клетки ГМС взрослых животных очень похожи на миокардиальные клетки эмбрионов, находящихся на очень ранней стадии развития, в поверхностной мембране которых большая плотность медленных каналов, но мало быстрых Na^+ -каналов (трубчатое сердце эмбриона можно рассматривать как пульсирующий кровеносный сосуд) [85].

Ca^{2+} -зависимые потенциалы действия, индуцируемые ТЭА⁺, являются хорошей моделью для оценки действия вазоактивных препаратов на клетки ГМС. Например, верапамил и бепридил, хорошо известные дилататоры коронарных сосудов, угнетают и полностью блокируют ПД, а значит, и вход Ca^{2+} в клетки ГМС во время возбуждения. Именно этот эффект скорее всего обуславливает их сосудорасширяющее действие. Другие антагонисты Ca^{2+} , например ионы Mn^{2+} , также подавляют индуцируемые ТЭА⁺ ПД. Было показано, что аденозин, известный как хороший вазодилататор, способный принимать участие в регуляции локального кровотока [86], также угнетает и блокирует Ca^{2+} -зависимые ПД в мелких коронарных артериях собаки, но не оказывает никакого влияния на крупные сосуды. Другой вазодилататор — нитроглицерин, наоборот, угнетает и блокирует ПД в крупных коронарных артериях и не влияет на мелкие сосуды. Сердечные гликозиды, как известно, обладающие сосудосуживающим действием, увеличивают входящий Ca^{2+} -ток в мелких коронарных артериях собаки. Этот эффект сердечных гликозидов способен объяснить их сосудосуживающее действие и может играть важную роль в развитии токсического действия.

Электрические свойства клеток ГМС, выделенных из артерий и содержащихся в условиях культуры, остаются практически теми же, что и свойства клеток интактных артерий.

Выдвинуто предположение, что свойства клеточной мембраны клеток ГМС можно описать с помощью эквивалентной электрической цепи, показанной на рис. 34.17. В мембране имеются потенциалозависимые медленные каналы, избирательно проницаемые для ионов Ca^{2+} и блокируемые такими антагонистами Ca^{2+} , как верапамил, бепридил и Mn^{2+} . По-видимому, в таких клетках существует лишь один тип потенциалозависимых K^+ -каналов — канал с наружу направленным задержанным выпрямлением, который ответствен за фазу реполяризации ПД. Вещества, подобные Ba^{2+} и ТЭА⁺, влияют на оба имеющихся в клетке типа K^+ -каналов: канал, определяющий проводимость K^+ в покое, и канал с задержанным выпрямлением. Потенциал покоя, или, точнее, $E_{\text{диф}}$, определяется величинами проводимости ионов K^+ и Na^+ в покое (g_{K} и g_{Na}), а также величинами E_{K} и E_{Na} . Вклад потенциала электрогенного насоса ($V_{\text{эн}}$) в потенциал покоя определяется их параллельным соединением, как видно из рис. 34.18. Результаты



В состоянии покоя:

$$E_M = \left(\frac{g_K}{g_K + g_{Na}} \right) E_K + \left(\frac{g_{Na}}{g_K + g_{Na}} \right) E_{Na}$$

на максимуме потенциала действия:

$$E_M = -61 \text{ мВ} \log \frac{[K^+]_i + P_{Na}/P_K [Na^+]_i}{[K^+]_o + P_{Na}/P_K [Na^+]_o}$$

$$E'_M = \left(\frac{g'_{Ca}}{g'_{Ca} + g'_K} \right) E_{Ca} + \left(\frac{g'_K}{g'_{Ca} + g'_K} \right) E_K$$

Рис. 34.17. Эквивалентная электрическая цепь мембраны гладкомышечной клетки стенки артерии. Проводящие пути (каналы) показаны как для покоящейся мембраны (g_K , g_{Na} , g_{Ca} и g_{Cl}), так и для возбужденной мембраны (g'_{Ca} и g'_K). Резисторы со стрелками (для возбужденной мембраны) отмечают тот факт, что эти сопротивления (проводимости) изменяются в зависимости от потенциала и времени, т. е. являются потенциалозависимыми. Равновесные потенциалы для ионов 4 основных видов (E_K , E_{Na} , E_{Ca} и E_{Cl}), рассчитанные с помощью уравнения Нернста для известного распределения ионов, показаны на схеме в виде батарей различной полярности и величины ЭДС. Каналы, обладающие сопротивлением, скорее всего образованы молекулами белков, плавающих в фосфолипидном бислое мембраны, а включенная параллельно им емкость (C_M) обусловлена самим липидным бислоем. Медленные Ca^{2+} -каналы блокируются верапамилом, безпридилом и ионами Mn^{2+} , в то время как $TЭА^+$ и Ba^{2+} блокируют K^+ -каналы в покое (уменьшают g_K) и замедляют кинетику активации g'_K . В данном случае потенциалозависимые K^+ -каналы могут быть лишь одного типа, который легче пропускает ионы K^+ в выходящем направлении (внутри направленное выпрямление или задержанное выпрямление). Скорость нарастания потенциала действия и его овершот определяются медленным входящим током Ca^{2+} , проходящим по медленным каналам. Фаза реполяризации потенциала действия является следствием резкого увеличения g'_K , которое активируется деполяризацией. Когда величина ($g_K + g'_K$) слишком велика, может возникнуть невозбудимость. По [64].

расчетов этой схемы приведены в табл. 34.5, где показано, как сопротивление мембраны (R_M) может влиять на величину вклада $V_{ВН}$ в потенциал покоя.

На рис. 34.19 приведена схема трех состояний медленного Ca^{2+} -канала, построенная аналогично гипотезе Ходжкина—Хаксли для быстрого Na^+ -канала. Некоторые антагонисты Ca^{2+} могут действовать на канал как обычная физическая «затычка», связыва-

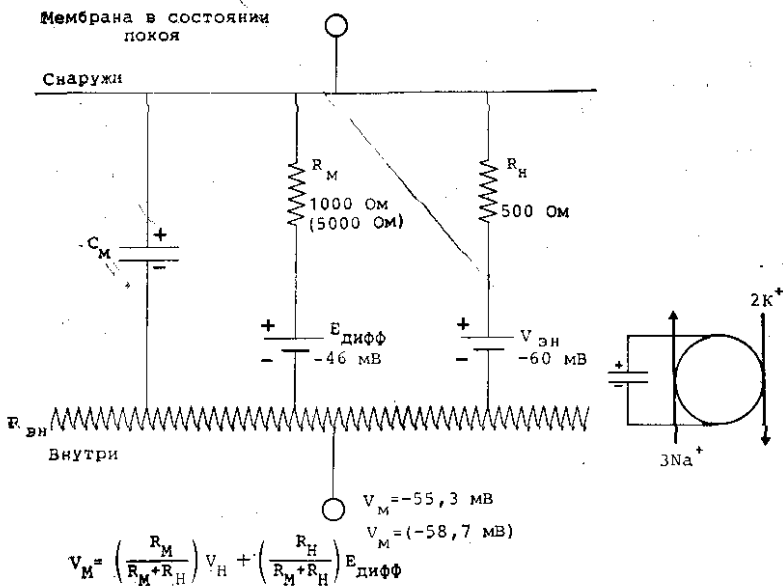


Рис. 34.18. Гипотетическая эквивалентная цепь электрогенного Na^+ -насоса гладкомышечной клетки сосуда. Модель состоит из цепи насоса (R_N), включенной параллельно сопротивлению мембраны (R_M) и емкости мембраны (C_M). Белки (Na^+ , K^+)-АТФазы и ионных проводящих каналов плавают в липидной бислоевой мембране рядом, т. е. являются параллельными элементами. Диффузионный потенциал ($E_{\text{дифф}}$), определяемый ионными равновесными потенциалами и относительными ионными проводимостями, включен в схему последовательно с R_M . Потенциал электрогенного натриевого насоса ($V_{\text{ЭН}}$), определяемый скоростью оборота насоса и коэффициентом сопряжения транспорта Na^+ и K^+ , включен последовательно с сопротивлением насоса (R_N). Предполагается, что величина R_N постоянна и близка к R_M , но не зависит от изменений R_M , если насос работает с постоянной скоростью. В случае остановки насоса R_N становится бесконечно большим (или, что то же самое, очень большим становится внутреннее сопротивление насоса). На вставке справа показано альтернативное представление батареи $V_{\text{ЭН}}$, а именно емкость, включенная параллельно и подзаряжаемая насосом, обменивающим ионы Na^+ на ионы K^+ , который является электрогенным (т. е. коэффициент сопряжения Na^+/K^+ больше 1) и генерирует постоянный выходящий ток $R_{\text{вн}}$. — внутриклеточное сопротивление. По [64].

ваясь с внешним отверстием канала или его внутренней поверхностью. Кроме того, поскольку действие таких веществ зависит от частоты следования ПД, по-видимому, они угнетают и замедляют процесс восстановления возбудимости канала, т. е. его переход из инaktivированного состояния в состояние покоя. Связывание вещества с медленным каналом преимущественно может происходить, когда канал находится в активированном или инактивированном состоянии.

Поскольку некоторые антагонисты Ca^{2+} легко проникают в мышечные клетки, не исключено, что основное или дополнительное место их действия расположено внутри клетки. Например, было показано, что метокси-верапамил блокирует медленные

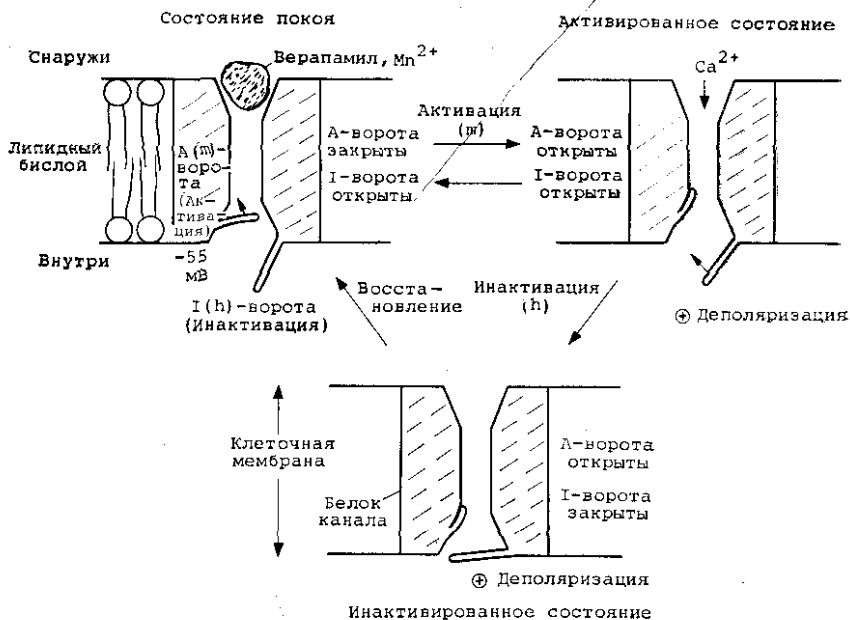


Рис. 34.19. Модель медленного Ca^{2+} -канала мембраны гладкомышечной клетки сосуда. Белок канала проходит через всю толщу клеточной мембраны и плавает в фосфолипидном бислое. Показаны три различных состояния канала. В состоянии покоя активационные (А) ворота закрыты, а инактивационные (I) ворота открыты, поэтому канал не пропускает ионов и не проводит электрический ток. Зависимость проводимости канала от потенциала скорее всего связана с тем, что ворота несут суммарный положительный заряд. При деполяризации до уровня порога канал переходит в активированное (проводящее) состояние, так как А-ворота быстро открываются (вследствие электростатического отталкивания), в то время как I-ворота все еще открыты, т. е. движение А-ворот происходит быстрее, чем I-ворот. Однако при длительной деполяризации I-ворота закрываются, а А-ворота все еще остаются открытыми и канал переходит в инактивированное состояние, в котором он также не проводит электрический ток. После реполяризации мембраны ворота обоих типов могут возвратиться в свое исходное покоеющее положение (процесс восстановления). Основные отличия медленных каналов от быстрых Na^{+} -каналов состоят в том, что: а) кинетика движения их ворот значительно медленнее; б) диапазон потенциалов, при котором происходит открывание и закрывание ворот, смещен в сторону менее отрицательных потенциалов и в) эти каналы блокируются различными веществами: верапамил, ионы Mn^{2+} и им подобные блокируют медленные каналы, в то время как вещества, подобные ТТХ, блокируют быстрые Na^{+} -каналы. Ворота показаны как обычные физические барьеры, но на самом деле они могут отражать конформационные изменения белка канала. I-ворота скорее всего расположены во внутреннем отверстии канала, так как протеолитические ферменты устраняют работу I-ворот, не влияя на А-ворота (в перфузируемом аксоне кальмара). По [64].

каналы, действуя на клеточную мембрану с внутренней поверхности [87, 88]. С этим согласуется проникновение ^3H -бепридила и ^3H -верапамила в гладкомышечные клетки сосудов (аорту кролика) [89, 90] и действие бепридила путем угнетения освобождения

Таблица 34.5. Расчет вклада потенциала электрогенного Na⁺-насоса в потенциал покоя при различных величинах сопротивления мембраны для цепи, показанной на рис. 34.18

R_M , Ом·см ²	$E_{\text{дифф}}$, мВ	$V_{\text{эн}}$, мВ	V_M , мВ	$\Delta V (V_M - E_{\text{дифф}})$, мВ
1000	-46	-60	-55,3	-9,3
5000	-46	-60	-53,7	-12,7
1000	-46	-70	-62,0	-16,0
1000	-46	-45	-46,0	0
1000	-46	0	-46,0	0
1000	-77	-91	-86,3	-9,3
5000	-77	-91	-89,7	-12,7
1000	-77	-85	-82,3	-5,3
5000	-77	-85	-84,3	-7,3

$$V_M = \left(\frac{R_M}{R_M + R_H} \right) \cdot V_{\text{эн}} + \left(\frac{R_H}{R_M + R_H} \right) E_{\text{дифф}}$$

Принято, что сопротивление насоса R_H постоянно (не зависит от R_M) и равно 500 Ом·см², когда насос работает, и бесконечно велико, когда насос остановлен. $E_{\text{дифф}}$ — диффузионный потенциал, определяющийся распределением ионов (равновесными потенциалами) и относительными проницаемостями. $V_{\text{эн}}$ — потенциал электрогенного Na⁺-насоса, создаваемый вследствие генерации насосом выходящего тока (например, 3 иона Na⁺ выводятся из клетки на каждые 2 иона K⁺, поступающие внутрь). V_M — потенциал покоя, рассчитанный на основании приведенного уравнения. ΔV представляет собой разность между V_M и $E_{\text{дифф}}$, равную вкладу $V_{\text{эн}}$ в потенциал покоя. Обратите внимание, что потенциал покоя V_M возрастает при увеличении R_M вследствие повышения вклада $V_{\text{эн}}$; это согласуется с экспериментальными данными. Обратите также внимание на то, что вклад $V_{\text{эн}}$ в V_M не изменяется при увеличении $E_{\text{дифф}}$, если разность между $V_{\text{эн}}$ и $E_{\text{дифф}}$ (14 мВ) сохраняется.

Ca²⁺ из СР [38]. По степени проницаемости клеток ГМС и сердечной мышцы для антагонистов Ca²⁺ последние располагаются в следующем порядке: бепридил > верапамил >> нифедипин > дилтиазем [90]. Этот порядок совпадает с рядом их растворимости в липидах [91]. Кроме того, верапамил и бепридил ингибируют связывание Ca²⁺ с изолированными препаратами сарколеммы клеток сердца морской свинки, причем ингибирующее действие усиливается при повышении концентрации. Из этих двух соединений верапамил оказывает более сильное действие. Нифедипин и дилтиазем такого действия не оказывают [92, 93].

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Как показано Forbes и Sperelakis [94], сарколемма и поверхностные caveолы соединяются с мембраной контактного СР с помощью контактных выступов, или «колонн», которые могут принимать участие в передаче возбуждения от сарколеммы к СР.

2. Ridgway и соавт. [45] показали, что в мышце усонного рака зависимость силы сокращения от [Ca²⁺]_i характеризуется гистерезисом, так что кривая сдвигается влево при уменьшении [Ca²⁺]_i и проходит правее при повышении. Поэтому при данном уровне [Ca²⁺]_i может поддерживаться сила большей величины, чем развиваемая первоначально при повышении.

84. *Johns D. W., Sperelakis N.* Angiotensin-II depolarization of cultured vascular smooth muscle cells [abstr. 845]. — *Circulation (Suppl. 2)*, 1982, vol. 66, p. 11—204.
85. *Biamino E., Kruckenberg P.* Synchronization and conduction of excitation in the rat aorta. — *Amer. J. Physiol.*, 1969, vol. 217, p. 276—282.
86. *Sperelakis N.* Changes in membrane electrical properties during development of the heart. — In: *The slow inward current and cardiac arrhythmias*/Ed. D. P. Zipes, J. C. Bailey, V. Elharrar. The Hague: Martinus Nijhoff, 1980, p. 224—262.
87. *Berne R. M.* Cardiac nucleotides in hypoxia: possible role in regulation of coronary blood flow. — *Annu. J. Physiol.*, 1963, vol. 204, p. 317—322.
88. *Hescheler J., Pelzer D., Trube G., Trautwein W.* Does the organic calcium channel blocker D600 act from inside or outside on the cardiac cell membrane? — *Pflügers Arch.*, 1982, vol. 393, p. 287—294.
89. *Mras S., Sperelakis N.* Comparison of ^3H -bepridil and ^3H -verapamil uptake into rabbit aortic rings. — *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1982, vol. 4, p. 777—783.
90. *Pang D. C., Sperelakis N.* Nifedipine, diltiazem, bepridil and verapamil uptakes into cardiac and smooth muscles. — *Eur. J. Pharmacol.*, 1983, vol. 87, p. 199—207.
91. *Pang D. C., Sperelakis N.* Uptakes of calcium antagonists into muscles as related to their lipid solubilities. — *Biochem. Pharmacol.*, 1983 (in press).
92. *Pang D. C., Sperelakis N.* Inhibitory action of bepridil (CERM-1978) on calcium binding to cardiac sarcolemma of guinea pig. — *Biochem. Pharmacol.*, 1981, vol. 30, p. 2356—2358.
93. *Pang D. C., Sperelakis N.* Differential actions of calcium antagonists on calcium binding to cardiac sarcolemma. — *Eur. J. Pharmacol.*, 1982, vol. 81, p. 403—409.
94. *Forbes M. S., Sperelakis N.* Bridging junctional processes in coupling of skeletal, cardiac, and smooth muscle. — *Muscle, Nerve*, 1982, vol. 5, p. 674—681.
95. *Thakkar J. K., Sperelakis N., Pang D., Franson R. C.* Characterization of phospholipase A_2 activity in rat aorta smooth muscle cells. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1983, vol. 750, p. 134—140.

Глава 35

ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКОЕ И ФАРМАКОМЕХАНИЧЕСКОЕ СОПРЯЖЕНИЕ В ГЛАДКОЙ МЫШЦЕ СОСУДОВ

Г. ДРУГМАНС, Р. КАСТИЛС (G. DROOGMANS, R. CASTEELS)

ВВЕДЕНИЕ

Сократительная реакция гладкомышечных клеток инициируется повышением концентрации свободных ионов Ca^{2+} в цитоплазме. В сканированных гладкомышечных клетках, т. е. в клетках, в которых клеточная мембрана удалена путем обработки детергентом, пороговая концентрация Ca^{2+} , вызывающая сокращение, составляет около 10^{-7} М, а полная активация сократительных белков происходит при концентрации около 10^{-5} М [1—3].

Такое изменение концентрации Ca^{2+} может быть вызвано увеличением поступления ионов Ca^{2+} из внеклеточного пространства или освобождением Ca^{2+} из внутриклеточных запасников. Если препарат гладкой мышцы поместить в бескальциевый раствор или в раствор, содержащий ионы La^{3+} или Mn^{2+} , блокирующие вход Ca^{2+} , деполяризация калием не сопровождается сокращением, а сосудосуживающие вещества вызывают лишь кратковременное сокращение. Повторное воздействие этих веществ в таких условиях уже не приводит к возникновению сократительного ответа [4, 5]. Эти данные показывают, что для поддержания тонического механического напряжения, развиваемого гладкомышечными клетками, необходимо непрерывное поступление ионов Ca^{2+} из внеклеточного пространства. Кроме того, это означает, что в отличие от поперечнополосатой мышцы в гладких мышцах не происходит рециркуляции ионов Ca^{2+} между саркоплазматической сетью и цитоплазмой [6, 7].

Уже первые исследования на деполяризованных калием гладкомышечных клетках, в которых невозможны никакие электрические реакции, но которые тем не менее сокращаются под действием агонистов [8, 9], позволили предположить, что такие вещества могут влиять на состояние сократительной системы благодаря механизму, не связанному с изменением трансмембранного потенциала. Позднее было показано, что в таких деполяризованных калием гладкомышечных клетках сохраняются различия между максимальными величинами сократительных реакций, вызываемых различными агонистами. Эти результаты привели к появлению термина «фармакомеханическое сопряжение» в противоположность «электромеханическому сопряжению» для опре-

деления процесса, приводящего к активации сократительной системы без обязательного изменения потенциала покоя [10].

Подразделение механизмов активации сокращения на фармакомеханическое и электромеханическое сопряжение в конце концов заставило предположить существование двух типов Ca^{2+} -каналов в клеточной мембране гладкомышечных клеток, т. е. потенциалочувствительных Ca^{2+} -каналов, открывающихся при деполаризации клеточной мембраны, и рецепторзависимых Ca^{2+} -каналов, открывающихся при связывании агонистов с соответствующими рецепторами [11].

ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКОЕ СОПРЯЖЕНИЕ И ПОТЕНЦИАЛОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ КАЛЬЦИЕВЫЕ КАНАЛЫ

Потенциал покоя

В нормальных физиологических условиях трансмембранный потенциал покоя гладкомышечных клеток сосудов, измеренный с помощью внутриклеточных микроэлектродов, находится в диапазоне от -50 мВ до -70 мВ. Такая трансмембранная разность потенциалов в основном обусловлена пассивной диффузией. Активные процессы приводят к созданию градиента концентрации относительно клеточной мембраны, а диффузия ионов в направлении их электрохимических градиентов вызывает появление диффузионного электрического потенциала. Его величина определяется внеклеточными и внутриклеточными концентрациями ионов разных видов и относительной проницаемостью мембраны для этих ионов [12, 13]. С таким механизмом хорошо согласуются результаты наблюдений за изменением потенциала покоя при изменении внеклеточной концентрации ионов. Поскольку изменение потенциала покоя при 10-кратном изменении $[\text{K}^+]_o$ меньше 62 мВ, это означает, что мембрана не является селективно проницаемой для ионов K^+ , т. е. определенный вклад в потенциал покоя вносят проницаемость для других ионов и (или) другие механизмы. На основании экспериментально измеренных величин вне- и внутриклеточных концентраций ионов различных видов относительной проницаемости клеточной мембраны была рассчитана теоретическая величина диффузионного потенциала в гладкомышечных клетках стенки легочной артерии кролика, оказавшаяся равной -31 мВ [14], в то время как измеренная величина потенциала покоя составила -57 мВ. Расхождение между этими двумя величинами частично можно объяснить, если предположить, что некоторые процессы активного трансмембранного транспорта ионов являются электрогенными, т. е. суммарный перенос электрических зарядов при работе этих насосов создает дополнительную разность потенциалов на мембране. Показано, что и в гладкомышечных клетках внутренних органов, и в клетках сосудов Na^+/K^+ -насос является электрогенным [15—17]. Распредел

ние ионов Cl^- также может быть пассивным благодаря существованию активного электрогенного транспорта Cl^- внутрь клеток, что должно вносить вклад в величину трансмембранного потенциала. Такое явление было обнаружено в гладкомышечных клетках ленты ободочной кишки морской свинки [20]. Уже это краткое описание механизмов, определяющих трансмембранный потенциал покоя, показывает, что изменение этого потенциала может быть вызвано изменением ионных градиентов или проницаемости мембраны, а также воздействием на активный транспорт ионов. В последнем случае могут измениться и ионные градиенты и (или) влияние электрогенных процессов на потенциал покоя. Такие изменения трансмембранного потенциала могут или прямо действовать на тонус гладких мышц сосудов, или модулировать сокращение, вызванное агонистами.

Потенциалы действия

В ряде препаратов гладкомышечных клеток были зарегистрированы спонтанные потенциалы действия разнообразной формы, в то время как в других препаратах потенциалы действия могли быть вызваны деполяризацией калием, электрической стимуляцией или воздействием веществ [21—25]. Однако в более крупных сосудах возникновение потенциалов действия является скорее исключением, чем правилом, и они могут быть вызваны только в довольно нефизиологических условиях, например в присутствии блокатора калиевых каналов тетраэтиламмония (ТЭА) и прокаина [5, 26—39]. Последующие исследования показали, что экзогенный норадреналин, добавленный к препарату сосуда, и эндогенный норадреналин, высвобождающийся из нервных окончаний, по-разному влияют на трансмембранный потенциал [30, 31]. Периваскулярное высвобождение нейромедиатора приводит к появлению возбуждающих контактных потенциалов, которые могут суммироваться и при достаточно высокой частоте стимуляции нерва достигать порога с появлением потенциала действия. Вместе с тем воздействие экзогенного норадреналина не сопровождается изменением потенциала покоя в этой ткани. Такое различное влияние на гладкомышечные клетки сосудов экзогенного и эндогенного норадреналина было объяснено на основании предположения о существовании двух разных популяций α -адренорецепторов [32, 33]: классических внесинаптических α -рецепторов, активируемых экзогенным норадреналином, и синаптических γ -рецепторов, активируемых эндогенным норадреналином, высвобождающимся из нервных окончаний, недоступных для экзогенного норадреналина, даже если его концентрация достаточна для активации таких рецепторов. Однако в ушной артерии морской свинки [34] и брыжеечной вене [35] не было отмечено различий во влиянии эндогенного и экзогенного норадреналина на потенциал покоя.

Потенциалочувствительные кальциевые каналы

Как обсуждалось в главе 34, входящий ток, обуславливающий фазу нарастания потенциала действия в спонтанно активных тканях сосудов, по-видимому, переносится ионами как Ca^{2+} , так Na^+ . Вклад каждого из катионов зависит преимущественно от ионной селективности канала и может варьировать в зависимости от типа сосуда.

Количество ионов Ca^{2+} , поступающих в клетку в ходе одного потенциала действия, было оценено на основании величины заряда, необходимого для изменения потенциала на мембранной емкости от потенциала покоя до максимума потенциала действия, предположения, что этот заряд целиком переносится ионами Ca^{2+} . Полученная в результате величина на порядок меньше той количества, которое необходимо для активации максимального сокращения. Такое несоответствие можно объяснить тем, что суммарный трансмембранный ток дает заниженную оценку величины входящего Ca^{2+} -тока вследствие существования значительного выходящего K^+ -тока (т. е. суммарный входящий ток меньше входящего Ca^{2+} -тока). Однако экспериментальные данные о степени взаимного наложения входящего и выходящего трансмембранных токов отсутствуют, так как технические ограничения метода фиксации потенциала на многоклеточном препарате гладкой мышцы не позволяют количественно анализировать ионные токи, текущие во время потенциала действия. Тем не менее такое наложение токов позволяет объяснить, почему некоторые гладкие мышцы сосудов в нормальных физиологических условиях способны спонтанно генерировать потенциалы действия, а в других они возникают только после блокирования выходящего K^+ -тока ионами тетраэтиламмония (ТЭА). Другое объяснение несоответствия между количеством кальция, оцениваемым с помощью суммарного ионного тока, и тем, которое необходимо для максимального сокращения, может состоять в том, что небольшое количество ионов Ca^{2+} , поступающих в клетки во время потенциала действия, запускает освобождение ионов кальция из внутриклеточных запасников, аналогично тому как это происходит в процессе электро-механического сопряжения в поперечнополосатой мышце. Однако убедительное доказательство существования второго механизма также отсутствует.

Градualная деполяризация клеточной мембраны, например путем повышения $[\text{K}^+]_o$, стимулирует вход $^{45}\text{Ca}^{2+}$ и вызывает сокращение. Любые экспериментальные условия, в которых блокируются спонтанные или вызванные потенциалы действия и сопрягающие их сократительные ответы, например использование бескальциевых растворов или воздействие таких антагонистов Ca^{2+} , как D-600, Mn^{2+} или La^{3+} , в значительной степени угнетают также стимуляцию входа $^{45}\text{Ca}^{2+}$ и сокращения, вызываемую деполяризацией калием [5]. Следовательно, эти результаты свидетельствуют в пользу гипотезы, что оба механизма активации — потенциалы действия и gradualная деполяризация — зависят

от открывания одного и того же типа Са-каналов. Деполяризация калием не вызывает сократительной реакции в бескальциевой среде; это говорит о том, что деполяризация клеточной мембраны сама по себе не запускает освобождения ионов Ca^{2+} из внутриклеточных запасников. Следовательно, маловероятно, чтобы такое освобождение запускалось фазой деполяризации потенциала действия, но нельзя исключить вызванного ионами Ca^{2+} освобождения Ca^{2+} во время потенциала действия или градуальной деполяризации калием.

ФАРМАКОМЕХАНИЧЕСКОЕ СОПРЯЖЕНИЕ И КАНАЛЫ, УПРАВЛЯЕМЫЕ РЕЦЕПТОРАМИ

Каналы, управляемые рецепторами

В ряде гладкомышечных клеток сосудов изменение трансмембранного потенциала не является первичным триггером сокращения, вызываемого антагонистами, так как оно развивается без каких-либо изменений потенциала покоя [5, 31, 36, 37]. Аналогичные результаты получены для стимуляции сокращения стенки коронарной артерии свиньи под действием ацетилхолина [38]. В коронарной артерии морской свинки [39] и брыжеечной артерии кролика [40] ацетилхолин вызывает сокращение гладкой мышцы, одновременно гиперполяризуя мембрану. Сосудосуживающее действие гистамина на коронарную артерию собаки также сопровождается гиперполяризацией клеток [41]. В базилярной артерии выявлена тесная взаимосвязь между деполяризацией мембраны и сокращением при низкой концентрации норадреналина, но при повышении концентрации агониста увеличение амплитуды сокращения не сопровождается дальнейшей деполяризацией [42]. В других препаратах, таких как легочная артерия кролика [14] или аорта морской свинки [43], норадреналин вызывает сокращение в концентрациях, не влияющих на потенциал покоя. Такая неэлектрическая, или фармакомеханическая, активация гладкомышечных клеток сосудов зависит как от поступления Ca^{2+} из внеклеточной среды через каналы, управляемые рецепторами (КУР), так и от освобождения Ca^{2+} из внутриклеточных запасников [5, 44—47]. Последний процесс обуславливает начальный фазический компонент сократительной реакции, в то время как первый определяет тонический компонент сокращения [48, 49].

На такие управляемые рецепторами каналы не влияют органические антагонисты кальция в концентрациях, при которых они блокируют потенциалозависимые Ca^{2+} -каналы [50—52]. В воротной вене морской свинки было обнаружено, что некоторая часть вызванного норадреналином сокращения нечувствительна к верапамилу в концентрации 10^{-5} М, в то время как той же концентрации было достаточно для полного блокирования спонтанной электрической и механической активности, а также сокращения, вызванного деполяризацией калием [53]. Эти данные недвусмыс-

ленно указывают, что КУР составляют особую популяцию Ca^{2+} -каналов, которые отличаются от потенциалозависимых каналов. С этой гипотезой согласуется также наблюдение о том, что сокращение, вызываемое агонистом, и сокращение, вызываемое деполяризацией калием, имеют различную температурную зависимость [54—57]. Наличие одного типа КУР не противоречит то, что максимальные величины сокращения, вызываемого различными агонистами, существенно отличаются, так как это может быть следствием разной степени сопряжения рецепторов соответствующих типов с такими каналами.

Запасники Ca^{2+} , чувствительные к агонистам

Было показано, что под действием возбуждающих агентов (но не деполяризации мембраны) возникает кратковременное сокращение препаратов гладких мышц в бескальциевом растворе, позволяет предположить, что агонисты могут освобождать кальций их внутриклеточных запасников. Различные агонисты могут действовать на одни и те же внутриклеточные кальциевые запасники, но освобождать различные количества запасенного кальция и вызывать сокращение различной амплитуды в бескальциевом растворе [46, 58, 59]. Это проиллюстрировано на рис. 35.1. И кофеин (10 мМ), и норадреналин (10^{-5} М) вызывают освобождение $^{45}\text{Ca}^{2+}$ из гладкомышечных клеток ушной артерии кролика. Однако после стимулирующего действия норадреналина кофеин уже не способен вызвать освобождение $^{45}\text{Ca}^{2+}$, в то время как после кофеина норадреналин запускает освобождение дополнительного количе-

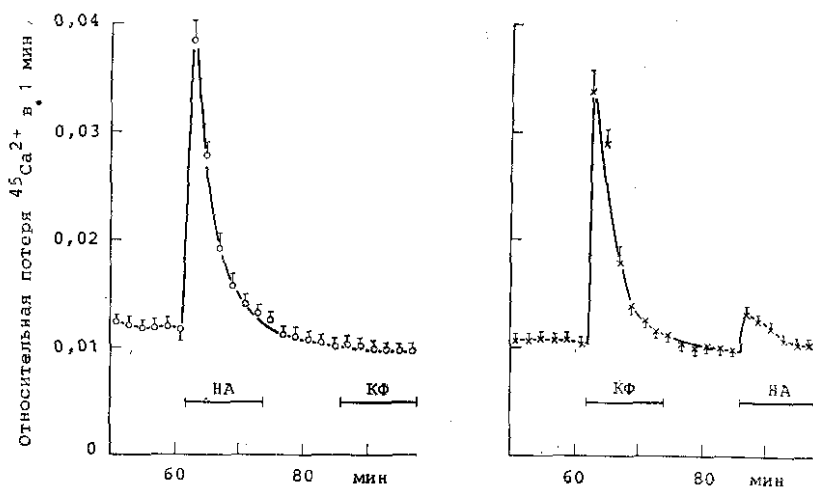


Рис. 35.1. Влияние стимуляции гладкой мышцы ушной артерии кролика при последовательном введении в перфузат норадреналина (НА) в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ М и кофеина (КФ) в концентрации 10 мМ на скорость выхода $^{45}\text{Ca}^{2+}$ из гладкомышечных клеток. Выход измеряли при 20°C , используя бескальциевый раствор. Первые 50 мин после начала отмывания не показаны. Каждая кривая получена усреднением данных для 4 препаратов.

ства $^{45}\text{Ca}^{2+}$. Эти результаты свидетельствуют о том, что оба соединения влияют на один и тот же пул Ca^{2+} , но норадреналин более эффективен в опустошении этого кальциевого запасника, чем кофеин. Такой механизм освобождения Ca^{2+} был описан для большинства гладкомышечных тканей, однако между различными тканями существует значительная вариабельность емкости таких запасников и (или) скорости выхода Ca^{2+} из него при воздействии бескальциевым раствором. Ткань ленты ободочной кишки морской свинки после 3 мин воздействия бескальциевым раствором при 35°C уже неспособна сокращаться в ответ на карбахол, что говорит об истощении внутриклеточных кальциевых запасников, чувствительных к карбахолу [60]. Вместе с тем препараты гладких мышц таких сосудов, как главная легочная артерия кролика [61], ушная артерия морской свинки [62] и аорта кролика [47], сокращаются в ответ на норадреналин даже после 60-минутного содержания в бескальциевом растворе. Сократительная реакция коронарной артерии собаки [63] и базиллярной артерии кролика [64] в ответ на норадреналин быстро исчезает в бескальциевом растворе. Понижение температуры значительно уменьшает скорость потери Ca^{2+} из такого запасника [57, 65].

Сократительная реакция гладкой мышцы в бескальциевой среде кратковременна не потому, что освобожденный Ca^{2+} вновь захватывается запасниками, а скорее вследствие выведения ионов из клетки через клеточную мембрану. Это объясняет, почему активация α -адренергических рецепторов сопровождается кратковременным увеличением скорости выхода $^{45}\text{Ca}^{2+}$, а также почему повторная стимуляция этих тканей в бескальциевой среде не приводит к появлению повторной сократительной реакции или стимуляции выхода $^{45}\text{Ca}^{2+}$ [5, 46, 58].

Естественно возникает вопрос, как в отсутствие механизма рециркуляции Ca^{2+} (имеющегося в скелетной мышце, где ионы Ca^{2+} способны перемещаться из саркоплазматического ретикулаума в цитоплазму и обратно) происходит пополнение кальциевых запасников, чувствительных к агонистам, после того как они были опустошены вследствие стимуляции агонистами в бескальциевом растворе. Такое пополнение запасников при помещении выдержанной в бескальциевом растворе ткани в раствор, содержащий ионы Ca^{2+} , было изучено в аорте кролика [66] и ушной артерии кролика [62]. В последнем случае было обнаружено, что пополнение чувствительных к норадреналину кальциевых запасников происходит значительно быстрее, чем их опустошение в бескальциевом растворе. Кроме того, скорость заполнения и общее количество Ca^{2+} , поступавшего в запасник, чувствительный к агонисту, существенно зависят от внеклеточной концентрации Ca^{2+} , свидетельствуя о том, что $[\text{Ca}^{2+}]_o$ является основным детерминантом количества запасенного кальция, а заполнение запасника может осуществляться по некоторому более прямому пути между внеклеточным и внутриклеточным пространством. Второстепенная роль $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в заполнении запасника была показана с помощью следующего эксперимента (рис. 35.2). Если ткань, в

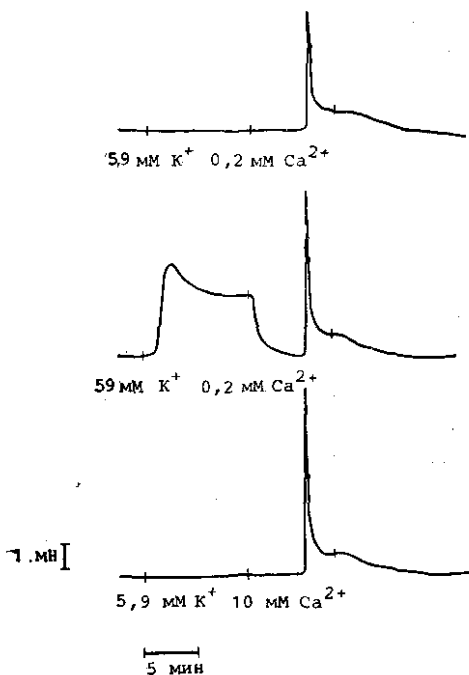


Рис. 35.2. Влияние различных процедур загрузки на кратковременное сокращение гладкой мышцы сосуда, вызванное норэпинефрином в бескальциевом растворе. После вымывания ионов Ca^{2+} ткань на 10 мин помещали в раствор, содержащий 5,9 мМ K^+ и 0,2 мМ Ca^{2+} (вверху); 59 мМ K^+ и 0,2 мМ Ca^{2+} (в середине) или 5,9 мМ K^+ и 10 мМ Ca^{2+} (внизу). После такой процедуры загрузки ткани в течение 5 мин выдерживали в бескальциевом растворе, а затем стимулировали норэпинефрином в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ М.

плазматическим ретикулумом и клеточной мембраной [67]. Участки сопряжения представляют собой специализированные области, где мембрана с СР отделена от клеточной мембраны щелью толщиной 10—12 нм, которую пересекают периодически расположенные электронно-плотные выросты.

Различия в скорости заполнения и опустошения чувствительных к норэпинефрину кальциевых запасников можно объяснить, предположив, что проницаемость этих участков сопряжения для ионов Ca^{2+} зависит либо от направления электрохимического градиента Ca^{2+} , либо от количества Ca^{2+} в запаснике. Существование зависимости степени заполнения запасника от внеклеточной концентрации Ca^{2+} согласуется с первой гипотезой, хотя пока

которой все запасы Ca^{2+} истощены, поместить в раствор, содержащий 5,9 мМ K^+ и 10 мМ Ca^{2+} , то в ней в чувствительные к норэпинефрину кальциевые запасники поступает больше ионов Ca^{2+} (судя по амплитуде транзиторного сокращения, вызываемого норэпинефрином в бескальциевом растворе), чем в ткани, которую выдерживали в растворе, содержащем 59 мМ K^+ и 0,2 мМ Ca^{2+} ; и это несмотря на то что в последнем случае ткань находилась в контрактуре при загрузке запасников ($[\text{Ca}^{2+}]_i$ высока), а в первом она оставалась расслабленной ($[\text{Ca}^{2+}]_i$ низка). Однако при одной и той же концентрации Ca^{2+} в среде запасники захватывают больше кальция при выдерживании ткани в растворе с 59 мМ K^+ , чем при использовании раствора с 5,9 мМ K^+ , что указывает на некоторую роль $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в заполнении этих запасников.

Такой прямой путь перемещения Ca^{2+} из внеклеточного пространства в чувствительные к норэпинефрину кальциевые запасники может быть образован в результате структурного сопряжения между контактными сарко-

еще не получены убедительные данные в пользу какого-либо из этих двух механизмов. Привлекательным расширением этой гипотезы является представление о том, что управляемые рецепторными каналами и чувствительные к агонистам кальциевые запасники можно объединить в единый механизм. Активация рецептора приводит к освобождению Ca^{2+} из запасников и, таким образом, вызывает сокращение. Истощение этого пула кальция приводит к увеличению проницаемости для Ca^{2+} структур, соединяющих запасники с внеклеточным пространством. Возникающий при этом поток ионов Ca^{2+} , проходящих по такому пути с высокой проницаемостью, вызывает тонический компонент сократительной реакции в среде, содержащей Ca^{2+} .

Несмотря на то что способность гладких мышц различных типов сокращаться в бескальциевых растворах коррелирует с объемом их саркоплазматического ретикулума (СР, саркоплазматическая сеть) [67], пока еще не было со всей определенностью доказано, что чувствительные к агонистам кальциевые запасники располагаются в СР. Исследования с использованием метода замораживания со сколом выявили существование в мембранах СР гладкой мышцы частиц, имеющих отношение к транспорту Ca^{2+} , хотя их меньше, чем в скелетной или сердечной мышце [68]. Методом микроанализа электронным пучком было показано, что эти структуры содержат Ca^{2+} [69]. Было также подтверждено АТФ-зависимое накопление Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикулуме сканированных гладкомышечных клеток сосудов [70]. Емкость чувствительных к порадреналину кальциевых запасников в гладкой мышце ушной артерии кролика, согласно оценке, равна приблизительно 60 мкмоль на 1 кг массы ткани [5]. Предположив, что концентрация Ca^{2+} в таком запаснике равна его концентрации во внеклеточной среде, можно рассчитать, что эта структура занимает около 8% клеточного объема, что близко к соответствующей величине для объема СР (2—7,5%), определенного морфометрически. Эти расчеты позволяют считать, что чувствительные к агонистам кальциевые запасники и саркоплазматический ретикулум могут быть одной и той же структурой, хотя освобождение Ca^{2+} из СР гладких мышц *in situ* или из изолированных везикул СР еще не удалось продемонстрировать.

Выведение Ca^{2+} из клеток и его удаление из цитоплазмы

Существование зависимости тонического сокращения от внеклеточной концентрации Ca^{2+} и ограниченная емкость внутриклеточных органелл для захвата Ca^{2+} из цитоплазмы позволяют предположить, что для гладкомышечных клеток сосудов необходим эффективный механизм выведения Ca^{2+} из клеток с целью поддержания среднего содержания Ca^{2+} на постоянном уровне и обеспечения расслабления.

Были предложены два различных механизма выведения Ca^{2+} . В первом случае для выведения ионов Ca^{2+} против их электрохимического градиента используется энергия, получаемая из электрохимического градиента ионов Na^+ ($\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обмен), создаваемого Na^+/K^+ -насосом. Привлекательной чертой этой гипотезы является то, что она не только объясняет выведение ионов Ca^{2+} из клеток и расслабление, но также предсказывает, что снижение электрохимического градиента ионов Na^+ приводит к поступлению в клетку ионов Ca^{2+} и вызывает сокращение [71]. С этой гипотезой согласуются наблюдения о воздействии безнатриевых растворов и угнетении Na^+/K^+ -насоса сердечными гликозидами или удалением ионов K^+ из раствора, приводящих к диссипации электрохимического градиента ионов Na^+ , что вызывает сосудоусуживающую реакцию, а восстановление градиента приводит к расслаблению.

Детальный анализ экспериментальных данных, полученных на ушной артерии кролика [72], выявил некоторую непоследовательность в гипотезе $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обмена. Влияние безнатриевых растворов на сокращение и выход $^{45}\text{Ca}^{2+}$ аналогичны эффектам деполяризации калием, что позволяет предположить общий механизм их действия, а именно открывание потенциалочувствительных кальциевых каналов. Как безнатриевые растворы, так и растворы высоким содержанием K^+ вызывают кратковременное увеличение выхода $^{45}\text{Ca}^{2+}$, если внеклеточный раствор содержит ионы Ca^{2+} . Такая кратковременная стимуляция выхода Ca^{2+} вместе с сопровождающей его сократительной реакцией подавляются ионами La^{3+} , блокирующими потенциалочувствительные кальциевые каналы. При удалении из раствора ионов Na^+ возникает деполяризация величиной 10—20 мВ в зависимости от того, чем заменяют ионы Na^+ в среде. Амплитуда сокращения, сопровождающего такую деполяризацию, может коррелировать с изменением потенциала, но она все же больше амплитуды сокращения, вызванного эквивалентной деполяризацией вследствие повышения $[\text{K}^+]_o$. Это означает, что в безнатриевых растворах развивается сокращение вследствие деполяризации и открывания потенциалочувствительных каналов. В отсутствие ионов Na^+ устраняется конкуренция между ионами Na^+ и Ca^{2+} за прохождение через эти каналы, что может быть причиной большей величины сократительной реакции в безнатриевой среде по сравнению с той, которая развивается при том же мембранном потенциале, когда в растворе присутствуют ионы Na^+ .

Гипотеза $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обмена предсказывает также, что присутствие Na^+ в растворе должно влиять на выведение из клеток ионов Ca^{2+} , которые освобождаются из внутриклеточных запасов при стимулирующем действии агонистов или выходят из митохондрий под действием таких блокаторов окислительного метаболизма, как динитрофенол и FCCP (карбонилдиамид-4-трифторметоксифенилгидразон). Однако выведение Ca^{2+} , оцениваемо

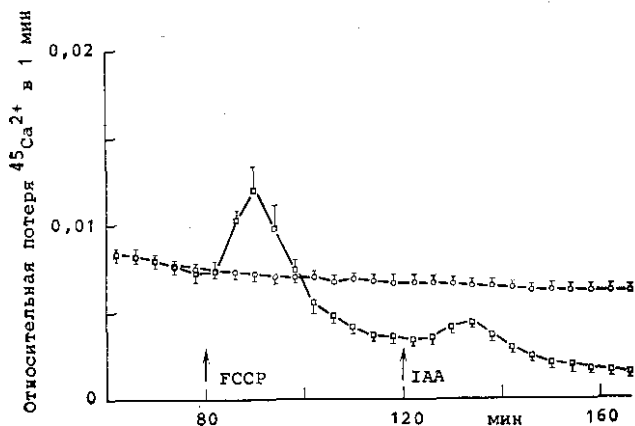


Рис. 35.3. Влияние ингибирования метаболизма на выход $^{45}\text{Ca}^{2+}$ из гладкой мышцы стенки ушной артерии кролика. Выход $^{45}\text{Ca}^{2+}$ измеряли при 20°C в растворе, содержащем $0,5 \text{ мМ Ca}^{2+}$ и 2 мМ ЭГТА ($p\text{Ca}=7$). Кривая выхода $^{45}\text{Ca}^{2+}$ показана квадратами, кружки — контрольное отмывание (первые 60 мин отмывания не показаны). Через 80 мин после начала отмывания в раствор добавляли FCCP (10^{-5} М), а через 120 мин дополнительно вводили IAA (10^{-3} М). Каждая кривая получена усреднением данных для 4 препаратов.

кратковременному увеличению скорости выхода $^{45}\text{Ca}^{2+}$, мало меняется при снижении электрохимического градиента Na^+ за счет уменьшения $[\text{Na}^+]_o$ или вследствие длительного воздействия на ткань бескальциевого раствора [72]. Гипотезе $\text{Na}-\text{Ca}$ -обмена также противоречит влияние безнатриевого раствора на кратковременное сокращение, вызываемое норадреналином в бескальциевом растворе.

Альтернативный механизм — АТФ-зависимый Ca -насос — был описан в эритроцитах человека [73]. Прямая демонстрация работы такого насоса в интактных препаратах гладких мышц сосудов является довольно трудной задачей, так как неизвестны его специфические ингибиторы. Интерпретация влияния угнетения метаболизма на выход $^{45}\text{Ca}^{2+}$ осложняется тем, что любое ухудшение поступления энергии к гладкомышечным клеткам вызывает выброс Ca^{2+} из внутриклеточных структур [58, 72, 74]. На рис. 35.3 показано влияние угнетения метаболизма на скорость выхода $^{45}\text{Ca}^{2+}$ из гладкой мышцы ушной артерии кролика в среде, содержащую $10^{-7} \text{ М Ca}^{2+}$. Внеклеточная концентрация Ca^{2+} снижена потому, что продолжительное воздействие ингибиторов метаболизма на ткань, находящуюся в среде с нормальным содержанием Ca^{2+} , приводит к увеличению проницаемости мембраны [5], что может быть результатом повышения внутриклеточной концентрации Ca^{2+} . Ясно видно, что последовательное воздействие ингибиторов метаболизма (FCCP и IAA, йодоацетатная кислота) после кратковременной стимуляции приводит к значительному уменьшению выхода $^{45}\text{Ca}^{2+}$ ниже контрольных величин. Эти

результаты, а также существенное влияние температуры на скорость выхода $^{45}\text{Ca}^{2+}$ [57] согласуются с механизмом АТФ-зависимого выведения Ca^{2+} , однако вследствие внутриклеточного перераспределения Ca^{2+} в таких условиях их нельзя считать окончательным доказательством существования Ca^{2+} -насоса.

Последующие исследования проводились с целью доказать АТФ-зависимое накопление Ca^{2+} во фракциях микросом, выделенных из гладких мышц [76—78]. Во всех микросомных препаратах удалось обнаружить существование очень эффективного АТФ-зависимого накопления Ca^{2+} , однако вопрос о происхождении и чистоте этих мембранных препаратов остается спорным. В некоторых препаратах [79] небольшой компонент поглощения Ca^{2+} зависел от электрохимического градиента ионов Na^+ , но он имел очень низкое сродство к ионам Ca^{2+} , а также очень невысокую мощность по сравнению с АТФ-зависимым насосом.

Удаление Ca^{2+} из цитоплазмы и расслабление

Выведение ионов Ca^{2+} через клеточную мембрану, по-видимому, представляет собой конечную стадию в процессе расслабления гладкой мышцы сосудов, так как емкость внутриклеточных кальциевых запасников ограничена и в гладкой мышце отсутствует механизм рециркуляции запасенного кальция. Однако это не обязательно означает, что выведение Ca^{2+} через клеточную мембрану вносит прямой вклад в процесс расслабления, так как внутриклеточные органеллы могут служить местами промежуточного хранения Ca^{2+} , прежде чем он будет выведен из клетки. Экспериментальные данные об участии каждого из этих процессов в расслаблении скудны.

В ушной артерии кролика снижение температуры с 35 до 20°C не влияет на количество $^{45}\text{Ca}^{2+}$, выходящего из клетки в бескальциевый раствор под действием норадреналина. Однако амплитуда сокращения, сопровождающего выход $^{45}\text{Ca}^{2+}$, оказывается значительно меньше при 35°C, так как при такой температуре скорость выведения Ca^{2+} через мембрану значительно выше и поэтому освобождающийся Ca^{2+} вызывает существенно меньшее повышение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ [57]. Этот результат позволяет предположить, что трансмембранное выведение Ca^{2+} может вносить непосредственный вклад в процесс расслабления.

Было получено экспериментальное доказательство существования АТФ-зависимого поглощения Ca^{2+} саркоплазматическим ретикуломом сканированных гладкомышечных клеток сосудов [70]. С гипотезой о функции СР как промежуточного запасника согласуется также наблюдение о том, что чувствительные к норадреналину кальциевые запасники накапливают больше Ca^{2+} при повышении его внутриклеточной концентрации, как в случае деполаризации калием. Увеличение накопления Ca^{2+} в чувствительных к агонистам кальциевых запасниках под действием β -агонистов также объясняется в рамках этой гипотезы [43, 60]. В брыжеечной артерии морской свинки изопреналин вызывает

расслабление, сопровождающееся повышением внутриклеточной концентрации цАМФ. Вместе с тем было обнаружено, что добавление цАМФ и протеинкиназы к скапнированным препаратам такой ткани увеличивает поступление ионов Ca^{2+} во внутриклеточные запасы [80].

Изолированные митохондрии способны накопить большое количество Ca^{2+} [81, 82]. В интактных препаратах вещества, нарушающие процесс окислительного фосфорилирования (динитрофенол и FCCP), вызывают освобождение $^{45}\text{Ca}^{2+}$ из митохондрий. На основании этих данных можно предположить, что митохондрии могут служить дополнительным местом запасаения Ca^{2+} . Однако методом микроанализа электронным пучком были выявлены гранулы Ca^{2+} в митохондриях поврежденных гладкомышечных клеток, в то время как в нормальных клетках они отсутствовали [69]. Следовательно, представляется маловероятным, что митохондрии способны играть важную роль в процессе электромеханического сопряжения.

Было также выдвинуто предположение, что запасником Ca^{2+} может служить внутренняя поверхность клеточной мембраны. Ионы Ca^{2+} могут освобождаться из этого запасаика при стимуляции, а пополнение может осуществляться непосредственно из межклеточного пространства [47]. Ионы Ca^{2+} или прямо активируют сократительные белки, или же служат в качестве триггера, выпускающего освобождение Ca^{2+} из других внутриклеточных запасаиков (вызванное Ca^{2+} освобождение Ca^{2+}). Гистохимические исследования выявили электронно-плотный осадок солей кальция вблизи клеточной мембраны, а также его перемещение при стимуляции [83—87]. Вследствие низкой разрешающей способности этого метода невозможно определить, где именно расположены эти отложения солей кальция: соответствуют ли они Ca^{2+} , связанному с клеточной мембраной, или же это Ca^{2+} в везикулах контактного CP. Поскольку эти данные не удается подтвердить методом микроанализа электронным пучком, а фракция связанного с мембраной Ca^{2+} не выявляется в доступных типах клеток, маловероятно, чтобы этот пул Ca^{2+} был способен играть существенную роль в электромеханическом сопряжении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Endo M., Kitazawa T., Yagi S. et al.* Some properties of chemically skinned smooth muscle fibers. — In: Excitation-contraction coupling in smooth muscle/Ed. R. Casteels, T. Goodfriend, J. C. Ruegg. Amsterdam: North Holland, 1977, p. 199—209.
- *Gordon A. R.* Contraction of detergent-treated smooth muscle. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1978, vol. 75, p. 3527—3530.
- *Saida K., Nonomura Y.* Characteristics of Ca^{++} and Mg^{++} -induced tension development in chemically skinned smooth muscle cells. — J. Gen. Physiol., 1978, vol. 72, p. 1—14.
- *Van Breemen C., Farinas B. R., Gerba P., McNaughton E. D.* Excitation-contraction coupling in rabbit aorta studied by the lanthanum method for measuring calcium influx. — Circulat. Res., 1972, vol. 30, p. 33—54.
- *Droogmans G., Raeymaekers L., Casteels R.* Electro- and pharmacomecha-

тензивные препараты способны снизить артериальное давление до нормального уровня путем прямой вазодилатации. Более того, у молодых животных повышение чувствительности к сосудосуживающим препаратам предшествует как увеличению артериального давления, так и утолщению средней оболочки [16]. Несомненно, наиболее важный подход к выяснению причин и последствий гипертензии состоит в разграничении изменений, предшествующих повышению артериального давления и являющихся его следствием.

Одним из изменений в цепи событий, приводящих к развитию гипертензии, является нарушение системы активного транспорта ионов Na^+ и K^+ . Jones и соавт. [17] показали, что при гипертензии, вызванной дезоксикортикоальдостероном и избытком соли, в ходе развития которой на каждой стадии существует корреляция между повышением артериального давления и изменением характеристик транспорта ионов Na^+ и K^+ в препаратах стенки аорты, изменение потоков ионов скорее предшествует развитию гипертензии, чем следует за повышением давления. Более того, имеются убедительные доказательства изменений ионного транспорта в гладкомышечных клетках сосудов при гипертензии, причем, по крайней мере частично, они связаны с действием гуморального агента (эндогенного вещества в крови), который может быть аналогичен препаратам наперстянки [18].

Влияние изменения ионного транспорта на функцию мембраны гладкомышечных клеток сосудов, по-видимому, проявляется в усилении стимулирующего действия норадреналина, по крайней мере при той форме гипертензии, которая наблюдается у СГК. В результате изменения регуляции ионных потоков в гладкомышечных клетках СГК снижается концентрация K^+ и повышается концентрация Na^+ , что в итоге приводит к увеличению активности электрогенного Na^+ -насоса (возможно, коэффициент сопряжения $\text{Na}^+:\text{K}^+$ возрастает до 3:1), значение которого для V_m мышечных клеток сосудов увеличивается [11]. Путем рассмотрения всех возможных механизмов, приводящих к повышению чувствительности вследствие изменения свойств мембраны, показано [11], что основной причиной этого является изменение ионного транспорта. Клеточные механизмы, определяющие мембранный потенциал, суммированы на рис. 36.1. На этой схеме рассмотрены клетки сосудов СГК и КВК в состоянии покоя и при стимуляции норадреналином. Основные характеристики клеток сосудов СГК в состоянии покоя: пониженная внутриклеточная концентрация K^+ , равная 150 мМ, повышенная концентрация Na^+ , равная 20 мМ, и увеличенный вклад в трансмембранный потенциал (V_m) потенциала электрогенного насоса ($V_{эн} = -12$ мВ). Несмотря на то что реальная величина V_m в обоих случаях равна -54 мВ, пути движения ионов, определяющих величины V_m , при этом различны. Такие различия усиливаются при стимулирующем действии норадреналина, когда потенциал, создаваемый при повышенной активности транспорта ионов электрогенным насосом у СГК, оказывается практически полностью шунтирован вследствие

увеличения пассивной проницаемости для ионов на фоне действия норадrenalина. Во время стимуляции значения V_m зависят от усилившихся потоков ионов Ca^{2+} , K^+ и Cl^- , определяемых соответствующими электрохимическими градиентами (пассивно), несмотря на то что Na^+/K^+ -насос не снижает своей активности. При увеличении проницаемости мембраны ионные градиенты становятся доминирующими факторами, полностью определяющими V_m , поэтому более слабый градиент ионов K^+ у СГК является причиной менее отрицательного V_m . Таким образом, при действии норадrenalина в умеренных концентрациях гладкомышечные клетки СГК деполяризуются в большей степени, чем клетки КВК, а так как V_m играет решающую роль в возникновении сокращения гладких мышц сосудов, то и сила сокращения, развиваемая клетками СГК, оказывается больше.

Такой механизм повышения чувствительности гладких мышц сосудов к норадrenalину был установлен при измерении V_m в кандалных артериях глаза СГК и КВК, выделенных из организма и помещенных либо в изотонический раствор хлорида натрия, либо в раствор, угнетающий работу электрогенного Na^+ -насоса [49]. Такие изменения электрогенеза V_m в гладкомышечных клетках СГК по сравнению с КВК не были выявлены в кардиомиоцитах или клетках вен [20]. Величина V_m в клетках брыжеечной вены наркотизированных СГК *in situ* отличалась от соответствующей величины для КВК только при сохранении активности симпатических нервов; после их блокирования с помощью тетродотоксина (ТТХ) различий величин V_m не наблюдалось, т. е. мышечные клетки вен СГК и КВК скорее всего одинаковы [21]. Нормальный электрогенез V_m в кардиомиоцитах и мышечных клетках воротной вены у СГК, по-видимому, свидетельствует о том, что наблюдавшиеся изменения специфичны для мембран мышечных клеток артерий и позволяют объяснить повышенное периферическое сопротивление, обнаруженное при гипертензии.

Недавно было показано, что в сокращении гладких мышц фармакохимическое сопряжение играет более важную роль, чем изменения V_m [22], поэтому представляется уместным рассмотреть здесь дополнительные данные о регуляции сокращения гладких мышц трансмембранным потенциалом. Несмотря на то что вполне возможно увеличение проницаемости мембраны гладкомышечных клеток для Ca^{2+} , вызывающее сокращение, с одновременным и точно компенсирующим соответствующие изменения V_m увеличением проницаемости мембраны для K^+ или Cl^- , данные, подтверждающие такое явление, удалось получить лишь в нефизиологических условиях [23]. Опубликовано несколько обзоров, в которых суммированы аргументы в пользу доминирующей роли механизма регуляции сокращения потенциалов в гладких мышцах сосудов [24, 25]. Таким образом, изменения напряжения без соответствующих изменений V_m полностью исключить нельзя, хотя наиболее важный с практической точки зрения случай, а именно сужение коронарных артерий под действием ацетилхолина [26, 27], пока еще не изучен; в то же время нет еще убедительных до-

Глава 36

ИЗМЕНЕНИЯ СВОЙСТВ МЕМБРАНЫ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК СОСУДОВ ПРИ ГИПЕРТЕНЗИИ

К. ХЕРМСМЕЙЕР (К. HERMSMEYER)

ВВЕДЕНИЕ

Несомненно, было бы интересно обсудить вопрос о том, как изменяется коронарное кровообращение при гипертензии на клеточном уровне, однако практически нет данных о сравнении свойств мембран гладкомышечных клеток коронарных артерий у животных с гипертензией и без таковой. Считается, что причиной патологии миокарда и коронарных сосудов при гипертензии является повышение периферического сосудистого сопротивления. Поэтому данная глава посвящена изменениям, происходящим в гладких мышцах сосудов при повышении периферического сопротивления, что вызывает увеличение нагрузки на сердце. Можно полагать, что свойства коронарных сосудов существенно отличаются от свойств периферических сосудов, поэтому новые антигипертензивные препараты (например, такие селективные Ca^{2+} -антагонисты, как нитрендипин) будут расслаблять периферические сосуды, не уменьшая регуляторных возможностей коронарной сети кровообращения. В любом случае необходимо проведение специальных сравнительных исследований гладкомышечных клеток коронарных сосудов животных с гипертензией и без таковой.

Для выяснения механизмов развития гипертензии разработано несколько моделей на экспериментальных животных. Одной из наиболее хорошо изученных форм генетически обусловленной гипертензии у животных является спонтанная гипертензия крыс линии Okamoto—Aoki (СГК), в качестве контроля при этом используются крысы генетически близкой линии с нормальным давлением (обе линии получены от общих предков), получившие название Wistar—Kyoto (КВК). На стадии развития гипертензии величины сократимости миокарда у СГК и КВК не отличаются друг от друга, но работа сердца СГК зависит от чрезмерного β -адренергического влияния, которое, однако, несущественно для возникновения гипертензии, так как его фармакологическое блокирование не предотвращает развития гипертензии у СГК [1]. Тем не менее у взрослых СГК развивается гипертрофия миокарда желудочков и эффективность работы сердца ухудшается [2]. Гипертрофия миокарда СГК сопровождается снижением числа митохондрий на единицу объема клетки [3, 4]. Даже после устранения

перегрузки давлением, являющейся причиной гипертрофии миокарда, масса сердца не всегда возвращается к норме. Например, гидралазин (апрессин) снижает артериальное давление, не вызывая уменьшения массы левого желудочка [5]. Более того, введение α -метилдофа нормализует отношение числа митохондрий к числу миофибрилл, даже если препарат вводить в концентрации, недостаточной для снижения артериального давления, но только если его введение начинать не позднее 1 мес после рождения [6]. Это, по-видимому, означает, что существует селективное влияние α -метилдофа на изменения, происходящие в кардиомиоцитах, независимо от артериального давления.

Ясно, что гипертензия является причиной гипертрофии левого желудочка и в конечном итоге застойной сердечной недостаточности [7]. Даже у детей с ранней стадией развития гипертензии наблюдается существенная гипертрофия миокарда и возникают симптомы заболевания сердца [8]. Были проведены исследования с целью выяснить, приведет ли снижение систолического артериального давления и, следовательно, нагрузки на сердце к улучшению коронарного кровообращения или же еще более ухудшит поступление крови к миокарду (вызывая недостаточность коронарных сосудов). Результаты показывают, что во всех случаях снижение нагрузки давлением и уменьшение чрезмерной потребности миокарда в кислороде улучшают работу сердца при условии, что сосудорасширяющая терапия адекватна и артериальное давление не упало до слишком низкого уровня [7]. Поэтому уже на ранней стадии гипертензии начинается развитие сердечной недостаточности, если вовремя не нормализовать артериальное давление.

Изменения функции гладких мышц сосудов при гипертензии

В нескольких обзорах [например, 9, 10] приведены четкие доказательства разнообразных изменений работы гладких мышц сосудов при гипертензии, поэтому здесь мы рассмотрим только основные из них и обсудим механизмы, предложенные для объяснения таких изменений. Основной характерной чертой гипертензии, обусловленной генетическими факторами, является повышение чувствительности сосудов к норадреналину [11], серотонину [12] и увеличение внеклеточного количества Ca^{2+} , необходимого для сокращения [13, 14]. Другая характерная черта заключается в нарушении способности мышцы расслабляться под действием таких мощных сосудорасширяющих средств, как папаверин [9]. Folkow и соавт. [15] установили, что существенную роль в повышении периферического сопротивления играют гипертрофия и утолщение стенки сосудов. Установлена и общепризнана гипертрофия средней оболочки сосудов у больных с гипертензией и экспериментальных животных [9]. Однако такое изменение строения стенки позволяет объяснить увеличение периферического сопротивления лишь частично, так как антигипер-

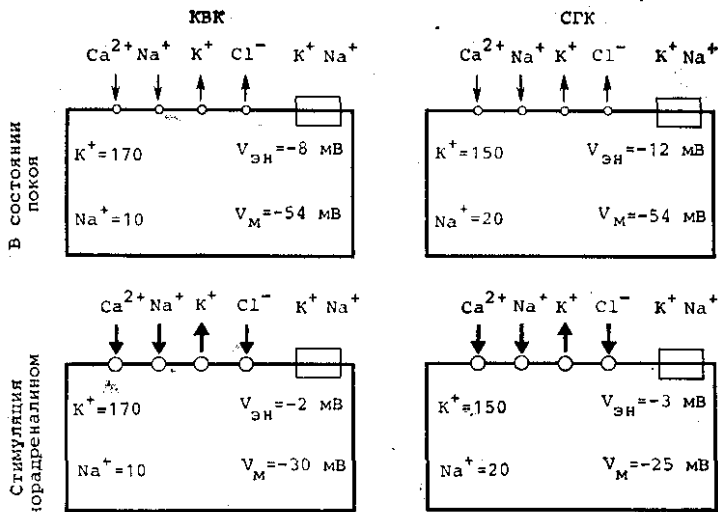


Рис. 36.1. Различия величин ионных градиентов и потенциалов, создаваемых при электрогенном транспорте ионов (потенциал электрогенного насоса $V_{ЭН}$), приводящие к развитию гиперчувствительности гладких мышц каудальной артерии крысы со спонтанной гипертензией (СГК) к норадреналину (НА), по сравнению с крысами с нормальным давлением линии Vistar-Kyoto (КВК). Часть данных получена экспериментально, другая часть рассчитана теоретически. Как видно, внутриклеточные концентрации свободных ионов K^+ и Na^+ у СГК и КВК отличаются, потому различны и трансмембранные градиенты этих ионов. Более высокая концентрация Na^+ в клетках СГК может привести к увеличению степени электрогенности насоса вследствие перехода от сопряжения $3Na^+ : 2K^+$ к сопряжению $3Na^+ : 1K^+$, увеличивая вклад $V_{ЭН}$ в трансмембранный потенциал при снижении транспорта K^+ . В покое меньшая величина градиента K^+ у СГК компенсируется более высокой величиной $V_{ЭН}$ (прямоугольники в верхнем правом углу каждой клетки), поэтому в покое трансмембранный потенциал (V_M) гладкомышечных клеток СГК и КВК одинаков. При стимулирующем действии норадреналина увеличивается проводимость мембраны для ионов Ca^{2+} , Na^+ , K^+ и Cl^- (большие кружки и толстые стрелки) и клетки деполяризуются вследствие движения ионов по градиенту концентраций, значительно превышающего транспорт ионов при работе насоса. Это позволяет проявиться различию градиентов концентраций ионов между СГК и КВК [19]. При стимулирующем действии норадреналина величина V_M преимущественно определяется балансом повышенной проводимости ионов 4 типов, причем особенно важен градиент ионов K^+ , так как только этот градиент направлен наружу и способен вызвать гиперполяризацию (более высокая внутриклеточная концентрация K^+ означает больший отрицательный заряд на внутренней поверхности мембраны). Ионы Ca^{2+} и Na^+ всегда создают деполяризующие силы (градиент направлен внутрь), а потенциал, создаваемый ионами Cl^- , по-видимому, меняется от деполяризующего в покое до гиперполяризующего при стимулирующем действии норадреналина (однако эксперименты с заменой ионов Cl^- другими анионами показали, что роль ионов Cl^- в генерации суммарного потенциала мембраны незначительна). Вследствие увеличения мембранной проводимости, вызванного норадреналином, вклад $V_{ЭН}$ в потенциал мембраны не может превышать 3 или 2 мВ, так как при том же потоке ионов создаваемая разность потенциалов уменьшается при уменьшении сопротивления (закон Ома). Оценки величин концентрации Na^+ основаны на предположении о том, что около 33% общего содержания Na^+ присутствует в растворе в виде свободных ионов, а также на измерениях методом микроанализа электронным пучком, проведенных в нашей лаборатории (неопубликованные данные). Более высокая внутри-

казательств для утверждения, что регуляция сокращения гладких мышц периферических сосудов может в норме осуществляться независимо от V_m .

Изменение электрогенеза V_m , обнаруженное у СГК, по-видимому, не является общим механизмом для других форм гипертензии, исследованных к настоящему времени. При гипертензии, вызванной дезоксикортикоальдостероном и избытком соли, как и при генетически обусловленных формах гипертензии Дала, не наблюдается каких-либо отклонений внутриклеточных концентраций Na^+ или K^+ , а также активности электрогенного Na^+/K^+ -насоса от нормы [28]. При гипертензии, вызванной дезоксикортикоальдостероном и избытком соли, более вероятно, что изменения транспорта ионов в гладких мышцах изолированных периферических артерий являются лишь вторичными по отношению к первичным аномалиям, связанным с гуморальными факторами или механизмами нейрогуморальной регуляции. В случае гипертензии Дала изменения нейрогенных механизмов, по-видимому, полностью объясняют нарушения реактивности.

Прямым следствием гипотезы о том, что в клетках периферических артерий СГК понижена концентрация K^+ и повышена концентрация Na^+ , а значит, увеличен уровень активности электрогенного Na^+/K^+ -насоса, является предположение, что кратковременная стимуляция электрогенного насоса должна приводить к развитию значительно более сильных эффектов у животных с гипертензией, чем без таковой. Оно подтверждается экспериментально с помощью так называемого «расслабления в ответ на возврат K^+ ». Эксперимент осуществляется при использовании следующего протокола: сегмент артерии, лишенный адренергических нервных окончаний, помещают, по крайней мере на несколько минут, в раствор, лишенный ионов K^+ и содержащий норадrenalин, что вызывает сокращение препарата: затем концентрацию K^+ в растворе восстанавливают (все еще в присутствии норадrenalина). Этот протокол использовался в оригинальных работах [19, 24, 25] для прямой демонстрации усиления электрогенного транспорта ионов. Такое усиление электрогенного транспорта ионов, приводящее к гиперполяризации, своим сократительным коррелятом должно иметь расслабление артериального препарата

клеточная концентрация Na^+ в клетках СГК, по-видимому, приводит к увеличению вклада V_{en} , создаваемого при транспорте ионов в V_m , причем V_{en} случайно оказался достаточным, чтобы в покое V_m клеток СГК оказался равным V_m клеток КВК. Наиболее важным отличительным признаком клеток СГК, объясняющим их гиперчувствительность к норадrenalину, является более низкая концентрация K^+ в таких клетках, так как при повышении ионной проводимости вследствие стимулирующего действия НА V_m определяется в основном ионными градиентами. Величины внутриклеточной концентрации K^+ и V_{en} взяты из работы [19]. Оценки внутриклеточной концентрации Na^+ основаны на измерениях методом микроанализа электронным пучком и на требованиях изотоничности [25].

у СГК, что и было обнаружено [19, 29]. Была продемонстрирована прямая корреляция (тот же ход развития во времени) между V_m и сокращением [23—25], что также говорит в пользу гипотезы о доминирующем значении V_m в регуляции сокращения, вызванного порадrenalином, и расслабления в ответ на возврат K^+ . Таким образом, эти эксперименты свидетельствуют о важной роли Na^+/K^+ -насоса в повышении реактивности сосудов, наблюдаемом при гипертензии, и позволяют понять, как происходит переход увеличенной внутриклеточной концентрации Na^+ в повышенную чувствительность к порадrenalину.

Мембранные механизмы увеличения периферического сопротивления

После выяснения изменений, происходящих в гладких мышцах сосудов при гипертензии, на следующем этапе было бы важно определить, какие механизмы являются причиной этих изменений. В моей лаборатории для изучения этого вопроса вначале были проведены эксперименты с целью установить, являются ли эти изменения исходно присущими гладким мышцам артерий СГК или же они возникают в результате нейрогенных или гуморальных воздействий. Мы осуществили эксперименты по перекрестной трансплантации, используя каудальную артерию СГК — наиболее часто исследуемую нами артерию, подходящую к передней камере глаза крысы, где минимальны иммунологические реакции при наличии сети кровеносных сосудов и нервов, идущих к радужке. В передней камере глаза плотная сеть адренергических волокон прорастает в артериальный трансплантат в течение нескольких недель; наблюдаемая при этом картина очень напоминает обнаруженную в каудальной артерии *in situ* [30]. При изучении 4 возможных комбинаций хозяина и донора (внутри линии и перекрестная трансплантация между СГК и КВК) было установлено, что гладкие мышцы артерии всегда приобретают характеристики организма-хозяина; т. е. каудальные артерии СГК проявляют тот же тип электрогенеза V_m и ту же чувствительность к порадrenalину, что и артерии КВК организма-хозяина, в то время как в каудальных артериях КВК наблюдается обратное превращение при пересадке их СГК; при пересадке внутри одной и той же линии никаких превращений свойств не наблюдается [30].

Однако такое изменение свойств клеточной мембраны происходит только в том случае, если донорская ткань взята у животного не старше 2 нед, и не происходит, если возраст животного донора равен 12 нед. Поскольку адренергическая иннервация в норме завершается к 3—4-й неделе после рождения, можно предположить, что симпатическая нервная система выделяет некоторое трофическое вещество, вызывающее дальнейшее изменение характеристик мембраны гладкомышечных клеток артерии по мере развития крысы [30].

Получив данные в пользу существования нейрогенного или гуморального фактора, вызывающего появление аномальных свойств мембраны гладкомышечных клеток сосудов СГК, далее необходимо было уточнить, какой из этих двух факторов играет решающую роль в развитии изменений; принадлежит ли он симпатической нервной системе, как предполагается, исходя из большого количества данных об изменении функции симпатической нервной системы при гипертензии [10], или же является гуморальным, в пользу существования которого также получено множество данных [31]. Схема эксперимента была аналогичной описанной в экспериментах с перекрестной трансплантацией, за исключением того что у половины животных симпатическая иннервация радужки была прервана путем удаления верхнего шейного ганглия до осуществления трансплантации. Результаты этого эксперимента, в котором изучали уже 8 категорий артерий, приведены на рис. 36.2. Электрогенез V_m и чувствительность к норадреналину клеток трансплантата будут соответствовать таковым организма-хозяина, если сохранена возможность развития симпатической иннервации. Эти эксперименты, несомненно, свидетельствуют о важной роли симпатической нервной системы, которая, как мы полагаем, состоит в выделении некоторого трофического вещества, приводящего к возникновению у СГК более высокой, чем в норме, внутриклеточной концентрации ионов Na^+ и более низкой — ионов K^+ с последующим увеличением активности электрогенного Na^+/K^+ -насоса и повышением чувствительности к норадреналину, что и вызывает повышение периферического сопротивления. Таким образом, последовательность событий начинается у СГК с выделения необычного трофического вещества симпатической нервной системой, что приводит к изменению электрогенеза V_m и чувствительности к норадреналину.

Однако пока нельзя исключить вероятность того, что не наличие необычного трофического вещества у СГК, а относительный избыток или дефицит его вызывает наблюдаемые изменения. Единственный вывод, который может быть сделан, состоит в том, что симпатическая нервная система СГК оказывает аномальное трофическое влияние на гладкомышечные клетки сосудов, которое способно превратить исходно нормальные клетки артерий КВК в клетки СГК с аномальными характеристиками. Для точного установления момента появления симпатического трофического влияния у СГК и КВК и для выяснения того, что же может изменять этот механизм, а также с целью возможной идентификации химической природы трофического вещества необходимы дальнейшие исследования. В результате решения этих проблем может появиться возможность лекарственной терапии или даже предотвращения развития гипертензии вследствие этой причины.

Несомненно, изменение электрогенеза V_m в гладких мышцах артерий не является единственным механизмом, приводящим к гипертензии. В ряде обзоров приведены данные относительно факторов, действующих прямо и немедленно на систему перифе-

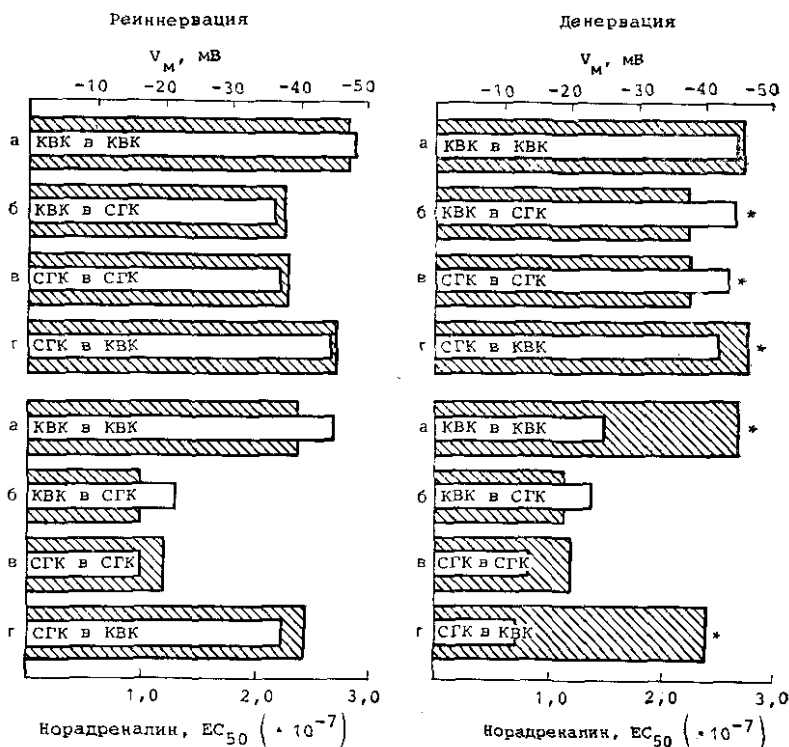


Рис. 36.2. Изменение свойств клеточной мембраны трансплантатов каудальной артерии в случае реиннервации трансплантируемого участка (слева) и отсутствие изменений в случае, когда реиннервация предотвращена удалением верхнего шейного ганглия (справа). Результаты свидетельствуют о важной роли трофического влияния симпатической нервной системы (по [33]). При реиннервации происходят соответствующие изменения V_m , измеренного при 16°C (вверху), и чувствительности клеток трансплантата к норадреналину (внизу).

рических сосудов [10, 31]. Ясно, что в развитии гипертензии определенную роль играет центральная нервная система. Например, Brody и соавт. идентифицировали участок на переднебоковой поверхности третьего желудочка мозга, который необычайно важен для поддержания нормального гомеостаза жидкости в организме и нормальных реакций сердечно-сосудистой системы на центральные стимулы, влияющие на водно-солевой баланс и артериальное давление [32]. До некоторой степени изменение свойств гладких мышц сосудов может быть обусловлено веществами, циркулирующими в крови (например, антидиуретический гормон, эндогенное вещество, подобное препаратам наперстянки, конвертирующий фермент), что позволяет предложить еще один класс механизмов возникновения повышенного артериального давления. Кроме того, определенную роль в долговременном поддержании повышенного артериального давления должны играть сердечно-сосудистые реф-

лексы, которые в норме являются мощными регуляторами артериального давления [10]. Данные, приведенные в этой главе, почти полностью получены в экспериментах на кровеносных сосудах, изолированных из организма, лишенных адренергических нервных окончаний с помощью 6-гидроксидофамина (вещества, быстро разрушающего адренергические нервные окончания) или аналогичных процедур, и отмытых от каких бы то ни было веществ, растворенных в крови. Обнаружение аномально высокой чувствительности к норадреналину в таких условиях является веским аргументом в пользу того, что гладкомышечные клетки стенки артерий принимают участие в возникновении повышенного периферического сопротивления.

* * *

В этой главе рассмотрен специфический механизм, позволяющий предположить, что изменение свойств мембраны гладкомышечных клеток артерий при гипертензии скорее всего является следствием аномального трофического влияния симпатической нервной системы, а не свойством самих мышечных клеток. Показано также, что важный вклад в повышение периферического сопротивления могут вносить гуморальные и нейрогенные факторы. Большинство результатов изучения клеточных механизмов гипертензии были в основном получены на модели гипертензии, развивающейся у крыс либо в результате генетической селекции, либо вследствие хирургического вмешательства или лекарственного воздействия. Возникает, естественно, вопрос о применимости результатов, полученных в экспериментах на крысах, к тем формам гипертензии, которые развиваются у человека. Следует четко осознавать, что ни одна из моделей на животных не соответствует в точности гипертензии человека, поэтому нельзя ожидать, что может быть создана некая модель, изучение которой дало бы ответы на все вопросы, решение которых необходимо для понимания природы гипертензии человека и ее последующего лечения. Эта группа заболеваний неизвестной этиологии, объединяемых под названием «эссенциальная гипертензия человека», обладает такими характерными особенностями, что может и должна изучаться на различных экспериментальных моделях гипертензии животных.

Особую важность при этом приобретает проблема выявления и всестороннего изучения механизмов, определяющих гипертензию у экспериментальных животных. Очень вероятно, что некоторые механизмы изменений физиологической регуляции, обнаруженные у экспериментальных животных, могут пролить свет на механизмы эссенциальной гипертензии человека. Следовательно, правильной постановкой вопроса будет не «какая из экспериментальных моделей ближе всего к эссенциальной гипертензии человека», а «какие механизмы регуляции артериального давления, изменение которых выявлено у экспериментальных животных, могут иметь отношение к гипертензии человека».

Глава 37

МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА, СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ И РЕГУЛЯЦИЯ СОКРАЩЕНИЯ ГЛАДКИХ МЫШЦ СОСУДОВ

С. П. ДРИСКА (S. P. DRISKA)

ВВЕДЕНИЕ

Понимание механизма сокращения гладкой мышцы сосудов важно и для врачей-кардиологов и для исследователей сердца, так как в конечном итоге именно гладкие мышцы сосудов определяют работу, которую должно выполнить сердце (вследствие изменения общего периферического сопротивления), и количество кислорода и субстратов, поступающих к миокарду для выполнения этой работы (путем регуляции коронарного кровотока). Учитывая это, в данной главе представлен современный уровень наших знаний о процессе сокращения гладкой мышцы сосудов, являющегося результатом биохимических, биофизических и физиологических исследований. Поскольку ультраструктура, электрофизиология, энергетика и метаболизм гладких мышц сосудов подробно описаны в других главах этой книги, мы не будем здесь останавливаться на этих вопросах.

Механические реакции гладких мышц сосудов и соответствующие регуляторные процессы изучались на множестве различных препаратов, от интактных артерий до спиральных или кольцевых полосок средней оболочки. На субклеточном уровне изучают различные белковые препараты, изолированные из гладких мышц, однако при этом способность мышцы укорачиваться или развивать силу оказывается утраченной, и обычно в качестве меры активности-миозинового взаимодействия, ответственного за сокращение мышцы, в этих условиях принимают $MgATФ$ азную активность или реакцию суперпреципитации (см. ниже). Между этими двумя крайними подходами находится использование «сканированных» препаратов. В таких препаратах клеточная мембрана разрушается с помощью механических методов, детергентов, бактериальных токсинов или замораживанием, а структура миофибрилл остается при этом интактной, так как препараты сохраняют способность активно развивать измеримую силу, если их поместить в соответствующий раствор. Такие «сканированные» препараты имеют определенные преимущества и недостатки, как и белковые препараты или изолированные фрагменты ткани, но главное, что они заполняют разрыв между исследованием биохимии изолированных белков и изучением физиологии интактной мышцы. На

этих препаратах удается показать применимость результатов биохимических исследований к более высокоорганизованным системам, способным превращать химическую энергию в механическую работу. Хотя основное внимание в этой главе уделено гладким мышцам сосудов, большая часть наших знаний о гладких мышцах, особенно о биохимии гладких мышц, была получена в исследованиях гладких мышц не кровеносных сосудов, а других внутренних органов, в частности мускульного желудка цыпленка. При ясном понимании того, что возможны видовые и тканевые различия свойств гладких мышц, можно использовать результаты исследования гладких мышц других органов для описания свойств гладких мышц сосудов.

МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

В этом разделе описаны свойства препаратов, наиболее широко используемых для изучения механических свойств гладкой мышцы сосудов (ГМС), основные допущения о том, какие свойства препаратов нужно измерять, а какие — рассчитывать, а также приемлемость каждого из таких препаратов для исследования различных аспектов сосудистой функции. Результаты, полученные на каждом из таких препаратов, коротко суммируются. Препараты представлены в ряду от наиболее физиологических до наименее физиологических.

Изолированные артерии *in vitro*

Исследования артерий, выделенных из организма, в условиях *in vitro* важны для выяснения того, как работает гладкая мышца, когда она составляет часть стенки трубки, находящейся под давлением. В таких исследованиях артерию удаляют из организма, изолируют с обоих концов, растягивают до длины *in vivo* и помещают в соответствующий раствор. Таким образом, продольный (осевой) размер артерии фиксирован, и можно измерять силу, развиваемую вдоль оси сосуда. Давление внутри кровеносного сосуда повышают, подавая в него либо газ, либо физиологический раствор, который может проходить через сосуд или заполнять его статически. Давление внутри сосуда измеряется, причем с внешней стороны давление равно нормальному атмосферному. Реально измеряется разность давлений, или трансмуральное давление.) Аппаратура позволяет устанавливать давление на любом уровне, поэтому давление является независимой переменной. Зависимой переменной при этом будет диаметр сосуда, который измеряется либо прямыми механическими, либо оптическими методами (внешний диаметр) или же рентгенологическими методами (внутренний диаметр). Если известна толщина стенки при некоторой длине сосуда и его диаметре, то толщину стенки можно рассчитать для любой длины и диаметра, так как показано, что ткань стенки артерий практически несжимаема [1]. Это позволяет затем рассчитать внутренний диаметр на основании

измерения внешнего, и наоборот. Следует отметить, что диаметр сосуда невозможно установить на заданном уровне, подобно тому, как задают длину мышцы при изучении ее сократимости в одном эксперименте. Для достижения заданного диаметра сосуда необходимо изменять давление внутри него или (и) уровень активации мышцы стенки, и если диаметр необходимо поддерживать на постоянном уровне, то нужно использовать систему для изменения давления с обратной связью. Обычно считают, что гладкомышечные клетки ориентированы в стенке таких препаратов по окружности; это означает, что диаметр, радиус и длина окружности приблизительно пропорциональны средней длине гладкомышечной клетки. Дополнительные усложнения вносят конечная толщина стенки и ее влияние на однородность распределения клеток по длине; этот вопрос будет обсуждаться ниже [2].

Силу растяжения стенки сосуда, направленную по окружности, в расчете на единицу длины артерии можно оценить, используя закон Лапласа для цилиндров ($T = P \cdot r$). В данном случае T есть сила на единицу длины, P — трансмуральное давление и r — внутренний радиус. Эта характеристика (T) не зависит от толщины стенки и имеет размерность: сила, деленная на длину, обычно выражаемая в дин/см или Н/м. Часто желательно оценить механическое напряжение стенки, возникающее вследствие внутрисосудистого давления, которое стремится растянуть гладкомышечные клетки, ориентированные по окружности стенки. Такое напряжение называется тангенциальным и имеет размерность: сила, деленная на площадь поперечного сечения (дин/см² или Н/м²). Эту величину полезно сравнить с механическим напряжением, развиваемым полосками гладкой мышцы сосудов. Среднюю величину тангенциального напряжения можно оценить, предположив, что стенка состоит из однородного материала, изотропна по всем направлениям и может считаться пренебрежимо тонкой по сравнению с радиусом сосуда. В этом случае тангенциальное напряжение можно вычислить по формуле: $S = P \cdot r/h$, где S — напряжение, а h — толщина стенки. Поскольку такие допущения обычно приближительны, особенно предположение о пренебрежимо малой толщине стенки, необходимо использовать более точный подход, позволяющий рассчитать зависимость тангенциального напряжения от радиуса во всех точках стенки [3]. В этом случае среднее напряжение рассчитывается по формуле

$$S = P(1 + r_0^2/r^2) / (r_0/r_i)^2 - 1$$

где r_i и r_0 — внутренний и внешний радиусы сосуда соответственно. Эта формула использовалась для расчета тангенциального напряжения как функции радиуса и сравнения его со средней величиной напряжения (рис. 37.1). Такой подход полезен для демонстрации распределения напряжения внутри стенки, но и он основывается на предположении об однородности и изотропности материала стенки, а также о линейности ее эластических свойств. Doyle и Dobrin [4] получили аналогичный результат,

используя теорию конечных деформаций. Они предположили, что большее количество эластических мембран, выявленных ими во внутренних слоях сонной артерии по сравнению с внешними, можно объяснить повышенным тангенциальным напряжением в этих внутренних слоях, согласно проведенным расчетам. Стенка артерий образована различными структурами (преимущественно эндотелиальными клетками, гладкомышечными клетками, эластином и коллагеном), отличающимися по упругости и положению в стенке, и кроме того, хаотично ориентированы, поэтому аналитический подход, проиллюстрированный на рис. 37.1, является слишком упрощенным. Ясно, что более полная математическая модель стенки артерии должна учитывать нелинейную упругость каждого из элементов, их ориентацию и расстояния от центра сосуда, на котором они расположены в стенке.

При исследовании интактных артерий, выделенных из организма, обычный подход состоит в измерении их диаметра в широком диапазоне трансмурального давления, и многократном повторении измерений при разных уровнях давления гладких мышц. Изменения диаметра и длины артерии

обычно выражают в терминах деформации, под которой понимают изменение длины, деленное на некоторую исходную длину. На основе результатов множества таких измерений можно рассчитать модуль модулей упругости в продольном и тангенциальном направлении. (Модуль упругости равен приращению механического напряжения, деленному на приращение деформации). Модуль Юнга для тангенциальной деформации равен:

$$E = \frac{\Delta P_i 2d_e d_i^2 (1 - \sigma^2)}{\Delta d_e (d_e^2 - d_i^2)}$$

где d_e и d_i — внешний и внутренний диаметр соответственно, ΔP_i — изменение давления, а Δd_e — изменение внешнего диаметра. Сигма (σ) представляет собой коэффициент Пуассона, который равен 0,5 для несжимаемого изотропного вещества при

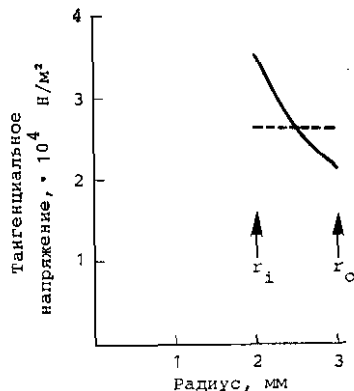


Рис. 37.1. Тангенциальное механическое напряжение в стенке артерии, находящейся под давлением, в зависимости от расстояния от ее оси. Механическое напряжение (S) рассчитывали по формуле $S = P (1 + r_o^2/r_i^2) / [r_o/r_i]^2 - 1$ для относительного толстостенного сосуда с внутренним радиусом $r_i = 2$ мм и внешним радиусом $r_o = 3$ мм. При расчетах трансмуральное давление P принимали равным $1,33 \cdot 10^4$ Н/м² (100 мм рт. ст.). Пунктиром отмечено среднее тангенциальное напряжение в стенке, рассчитанное как $S = P \cdot r_i/h$, где h — толщина стенки (1 мм). Механическое напряжение максимально вблизи просвета и уменьшается к внешней поверхности сосуда. Для тонкостенного сосуда зависимость тангенциального механического напряжения в стенке от расстояния от центра сосуда не такая крутая.

малых деформациях. Коэффициент Пуассона связывает величины деформаций во взаимно перпендикулярных направлениях в случае деформации трехмерного твердого тела. Это уравнение часто использовалось Bergel [5], и оно применимо, когда длина кровеносного сосуда фиксирована. При проведении таких исследований выяснено, что с повышением давления модуль упругости (E) обычно увеличивается; это означает, что стенка сосуда становится более жесткой, т. е. менее растяжимой. Согласно принятой точке зрения, такое явление есть следствие того, что при растяжении все большая часть нагрузки приходится на коллаген — самый жесткий элемент стенки. Один из наиболее интересных результатов этих исследований состоит в том, что сокращение гладкой мышцы сосуда приводит к уменьшению модуля упругости, если модули упругости стенки активированной и покоящейся артерий определять при одном и том же давлении. Это связано с тем, что при сокращении гладкой мышцы артерии меньшая часть нагрузки приходится на жесткий коллаген. Однако, если сравнение проводили при одном и том же диаметре, а не давлении (т. е. при одной и той же степени деформации), то артерии с активированными ГМС были более жесткими [6].

Dobrin и Rovick [6] рассчитали зависимость тангенциального напряжения от диаметра артерии как для покоящегося, так и для стимулированного норадреналином сосуда. Разность между величинами напряжения в этих двух случаях была принята в качестве меры активного тангенциального напряжения. Они получили максимальное значение этой величины для всей стенки в целом равным $0,88 \cdot 10^5$ Н/м² или для гладкомышечного компонента (оценка) — $2,73 \cdot 10^5$ Н/м². Эта величина хорошо согласуется с величиной активного напряжения, развиваемого большинством препаратов ГМС в форме полосок (данные обобщены Murphy [21]), если учесть, что гладкомышечные клетки составляют лишь небольшую часть стенки сонной артерии собаки [7]. Эти результаты позволяют получить представление о нагрузках, действующих на гладкие мышцы стенки артерий, в сравнении с нагрузками, прикладываемыми к полоскам ГМС. Обнаружено, что максимальное активное напряжение развивается при диаметре сосуда с расслабленными гладкими мышцами под давлением 150 мм рт. ст. [8]. Максимальное укорочение обычно наблюдают при стимуляции артерии под давлением в диапазоне от 50 до 175 мм рт. ст. (данные обобщены Dobrin [9]). Возбуждение гладких мышц чрезмерно перерастянутых артерий приводит к уменьшению активно развиваемого напряжения [9], аналогично тому, что наблюдается в случае перерастяжения изолированных препаратов гладких мышц. После удаления из организма артерии обычно укорачиваются приблизительно на 30% [9], что указывает на действие продольного (аксиального) напряжения *in situ*. Взаимодействие продольного и тангенциального напряжений затрудняет выявление аналитической связи между величинами напряжения и деформации в различных направлениях. Стенки артерий не является изотропной, т. е. ее свойства, например,

жесткость, в разных направлениях различны, что повышает значение взаимодействия напряжений вдоль различных осей. Dobrin и Doyle [10] проанализировали ошибки, вытекающие из предположения об изотропности механических свойств, и пришли к выводу на основании данных, полученных ими для сонной артерии собаки, что такие ошибки в расчете тангенциального модуля упругости малы в диапазоне давлений от 75 до 135 мм рт. ст. и возрастают при более высоком или более низком давлении. С помощью метода синусоидального изменения объема жидкости, выполняющей сосуд, были исследованы также динамические упругие свойства, и в общем случае величины динамического модуля упругости приблизительно в 1,5—2 раза превышают статические величины для той же самой артерии (обобщено Dobrin [9]).

Изучение механических свойств артерий в трехмерной модели, а также их изменений при старении или гипертензии позволяет еще с одной стороны посмотреть на развитие этих процессов. Cox [11] обнаружил, что величина пассивного модуля упругости при конечных приращениях больше в сонной артерии старых крыс, если сравнивать сосуды с одной и той же степенью деформации. У крыс с гипертензией, вызванной дезоксикортикостероном [12], с гипертензией Гольдблатта [12] и со спонтанной гипертензией [13] максимальные величины активного напряжения и активного сужения сосуда оказались больше, чем у соответствующих контрольных животных.

Исследования на изолированных артериях внесли существенный вклад в понимание функционирования сосудов. Основное преимущество метода состоит в том, что он позволяет в качестве независимой переменной использовать внутренний диаметр сосуда, измеряемый непосредственно, и изучать его изменения под действием физиологических сил (например, растягивающего сосуд давления). В этом смысле такой препарат является наилучшим для исследования работы артерий. Однако этот метод имеет ряд ограничений. Например, всегда предполагается, что внешнее давление равно нулю или атмосферному давлению, что во многих ситуациях не справедливо, особенно для артерий, проходящих в стенке желудочков. Кроме того, иногда предполагают, что ГМС ориентированы по окружности и тангенциальное напряжение можно приравнять механическому напряжению, приложенному к ГМС. В большинстве случаев считается, что стенка артерий изотропна, т. е. модуль упругости одинаков во всех направлениях, что в действительности неверно. Недавно удалось теоретически описать анизотропию, что позволило более точно рассчитать модуль упругости в тангенциальном направлении [14]. Но даже при чисто анизотропии стенка сосуда считается однородной в радиальном направлении (несмотря на то что давно известна ее слоистая структура). В расчетах часто необходимо использовать коэффициент Пуассона, который равен 0,5 для изотропного вещества при малых деформациях. Однако во многих экспериментах деформация не мала, и коэффициент Пуассона будет меньше 0,5 даже для изотропного вещества. Большая часть этих проблем

связана с применением классических физических методов для изучения мягких биологических тканей, подвергающихся значительно более сильной деформации, чем стальная проволока или трубка, на изучении которых основана классическая теория. Известно несколько попыток использования для этих целей теории конечных деформаций; полученные результаты ободряют, так как эта теория значительно лучше применима для случаев, когда деформации имеют величину, наблюдаемую в кровеносных сосудах [15]. И последнее ограничение связано с тем, что в большинстве исследований используется статическое давление. Однако стенка артерий обладает не только упругостью, но и вязкостью, поэтому на зависимость диаметра сосуда от давления влияют также скорость изменения давления и его направление.

Исследователи обычно до тех пор продолжают поднимать и снижать давление в артерии, пока не удастся получить воспроизводимые результаты, но для полного физиологического описания необходимо выяснение динамической связи диаметра артерии с пульсовым давлением. Несмотря на эти ограничения, исследования на изолированных артериях внесли основной вклад в выяснение механизмов работы сосудов. Последние методические разработки позволили распространить такой подход на резистивные сосуды и конечные артериолы [16, 103], а не только изучать крупные сосуды. Механические свойства артерий были недавно обобщены в исчерпывающем обзоре [9].

Кольцевые препараты и полоски

Обычным препаратом для изучения гладких мышц сосудов является полоска гладкой мышцы, вырезанная из стенки артерии. Выделяемая полоска ориентирована в стенке по окружности или (особенно в мелких сосудах) по спирали. При работе со спиральными полосками необходимо соблюдать особую осторожность, так как диаметр артерии, ширина полоски и угол спирали взаимосвязаны друг с другом. Herlihy [17] отметил, что использование спиралей с различным углом может затруднить сравнение артерий разного диаметра даже при одной и той же ширине полоски, так как развиваемое полоской напряжение является функцией угла спирали. У таких препаратов иногда удаляют наружную и внутреннюю оболочки, а в других случаях оставляют стенку интактной. Наличие или отсутствие эндотелиальных клеток также является основным фактором, определяющим чувствительность препарата к фармакологическим воздействиям [18]. При использовании таких препаратов изменения длины и развиваемая им сила измеряются только в одном направлении, которое, по мнению исследователей, совпадает с осью гладкомышечных клеток. Много общего с такими препаратами в форме полоски имеют кольцевые препараты, которые существенно отличаются от интактных изолированных артерий, так как в этом случае, как и в случае полосок, изменения силы и длины прикладываются и измеряются только в одном направлении. Кольцевые препараты

обычно выворачивают наизнанку, так что изнутри оказывается адвентиция, а доступ агонистов, питательных веществ и O_2 к гладкомышечным клеткам облегчается.

В отличие от исследований на интактных артериях, диаметр которых (а значит, и длина гладкомышечных клеток) зависит от трансмурального давления и степени активации мышцы, при использовании гладкомышечных полосок или колец длина препарата является независимой переменной. По аналогии с исследованиями поперечнополосатой мышцы наиболее обычными показателями, измеряемыми на таких препаратах гладкой мышцы, являются зависимость силы сокращения от длины препарата в изометрических условиях и взаимосвязь между силой и скоростью укорочения. Этот подход оказался чрезвычайно плодотворным для понимания основных принципов работы гладкой мышцы, но он значительно меньше говорит о функционировании артерии в целом. С точки зрения физиологии сердечно-сосудистой системы наиболее важно было бы узнать, какова конечная длина мышцы после ее укорочения в условиях переменной нагрузки. Это было бы аналогично определению внутреннего диаметра артерии после ее стимуляции на фоне некоторого давления. Изучению этого вопроса был посвящен ряд работ на гладких мышцах несосудистой природы, т. е. было изучено, совпадает ли кривая зависимости силы от длины в изометрических условиях с кривой зависимости силы от длины, полученной путем измерения конечной величины длины после сокращения при постоянной нагрузке. Было показано, что кривые зависимости силы от длины практически не зависят от используемого метода вплоть до $0,8 L_0$, где L_0 — оптимальная длина препарата, при которой развиваемая им сила максимальна. При больших значениях длины было обнаружено неполное укорочение, т. е. мышца укорачивается несколько в меньшей степени, чем ожидается на основании кривой зависимости силы от длины в изометрических условиях [19].

Кривая зависимости силы от длины

В гладкой мышце отсутствует та элегантная корреляция механической активности и морфологических данных, которая служила основой модели скользящих миофиламентов для сокращения поперечнополосатой мышцы [20]. Однако и для гладкой мышцы считается приемлемой модель скользящих миофиламентов, несмотря на то что точная длина саркомера в гладкой мышце неизвестна. Толстые филаменты в гладкой мышце немного длиннее, чем в поперечнополосатой (2,2 мкм по сравнению с 1,5 мкм) [21]. Длина тонких филаментов в гладкой мышце неизвестна вследствие технических трудностей при проведении таких измерений. Подсчет миофиламентов на электронных микрофотографиях поперечного сечения гладкой мышцы выявил очень высокое отношение числа тонких филаментов к толстым (от 12:1 до 18:1), что существенно больше, чем в поперечнополосатой мышце. Такой результат подсчета миофиламентов

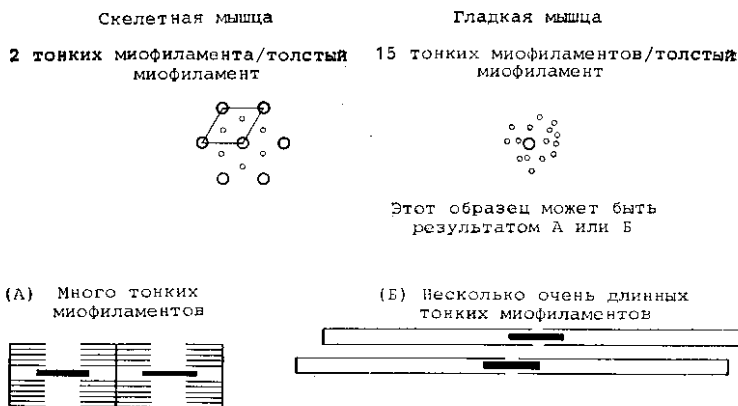


Рис. 37.2. Возможное объяснение результатов подсчета толстых и тонких миофиламентов в поперечном срезе гладкой мышцы при электронной микроскопии. В зоне перекрывания филаментов в скелетной мышце позвоночных (слева) область, ограниченная параллелограммом, содержит два тонких миофиламента. В гладкой мышце отсутствует такая упорядоченность (справа), и в общем случае в ней на один толстый миофиламент приходится 12—18 тонких. Толстые филаменты в гладкой мышце не образуют точно прилегающих в продольном направлении структур, поэтому плоскость среза может в одном саркомере проходить через зону перекрывания толстых и тонких миофиламентов, а в соседнем — лишь через тонкие миофиламенты. Значит в каждом срезе саркомеры будут пересекаться на произвольном уровне случайным образом. Выявление большого числа тонких миофиламентов может быть объяснено либо большим числом тонких миофиламентов по сравнению с толстыми (А, внизу слева), либо небольшим числом тонких миофиламентов очень большой длины (Б, внизу справа). Обе модели описывают крайние случаи, согласующиеся с отношением числа миофиламентов 15 : 1 при равных количествах миозина и актина в клетке. В зоне Б при длине тонких миофиламентов 8,25 мкм длина саркомера до 16,5 мкм; в зоне А длина саркомера — 2,9 мкм. В обеих моделях длина толстого миофиламента предполагается равной 2,2 мкм.

соответствует количеству и отношению миозина и актина в гладкой мышце [22], однако так как толстые филаменты не расположены в виде правильных параллельных структур, процесс подсчета числа миофиламентов на срезах рассматривается как процесс случайной выборки. Поэтому полученные данные согласуются с различными моделями саркомера гладкой мышцы: от утверждающей, что относительная длина толстых и тонких миофиламентов в гладкой мышце та же, что и в скелетной, но с толстым филаментом может взаимодействовать большее число тонких, до противоположного утверждения, что с каждым концом толстого миофиламента взаимодействуют лишь 2 тонких, но относительная длина тонких филаментов в гладкой мышце значительно больше, чем в поперечнополосатой. Оба этих крайних случая показаны на рис. 37.2. Выдвинуто предположение, что большая длина тонких миофиламентов позволяет объяснить развитие гладкой мышцей силы большей величины, а также экономичность [21, 23]. Расчеты возможной длины тонкого ми-

филамента (для отношения 15 : 1) показали, что она может достигать 8,25 мкм (от ее конца до эквивалента z-линии), что дает длину саркомера 16,5 мкм. Если бы белки скелетной мышцы образовывали саркомер такой длины, то для этого потребовалось только 18% миозина. Мышца была бы способна создавать силу величиной на 47% больше, чем в случае обычного саркомера, но скорость укорочения составляла бы лишь 12% от таковой в скелетной мышце. Хотя истинная ситуация может характеризоваться параметрами внутри отмеченного диапазона, модель, в которой предполагается большая длина саркомера, кажется более привлекательной для объяснения экспериментальных данных, и в этом случае доля толстых миофиламентов, параллельно развивающих силу сокращения, будет максимальна. В настоящее время при интерпретации механических свойств гладкой мышцы нельзя исключать ни одну из моделей.

Выше было указано на невозможность описать точную величину длины саркомера в гладкой мышце, тем не менее возможность сравнивать кривые зависимости силы от длины для скелетной и гладкой мышц сохраняется, если длину мышцы выражать в относительных единицах по отношению к оптимальной длине L_0 . (В скелетной мышце L_0 соответствует длине саркомера порядка 2,0—2,2 мкм.) При растяжении в мышцах всех типов развивается некоторое пассивное напряжение (обусловленное эластической и соединительной тканью). Такое пассивное напряжение наиболее выражено в гладкой мышце сосудов, и для получения величины активно развиваемого напряжения из величины общего напряжения стимулируемой мышцы необходимо вычесть пассивное напряжение. Возникновение активного напряжения связано с генерацией силы при образовании поперечных миозиновых мостиков, и точность его измерения зависит от возможности измерять и точно вычитать величину пассивного напряжения. Кривые зависимости пассивного напряжения от длины обычно получают в результате расслабления ткани с помощью фармакологических соединений или хелаторов кальция; их также можно получить путем подачи на мышцу ряда последовательных быстрых циклов укорочения и расслабления, которые разрушают поперечные мостики, и таким образом, устраняют вклад развиваемого ими активного напряжения, выявляя пассивное напряжение, обусловленное эластическими структурами при изменении длины мышцы.

Для кривой зависимости активного напряжения от длины препарата гладкой мышцы сосудов (рис. 37.3) характерна определенная оптимальная длина, так что сила, развиваемая при длине препарата больше или меньше оптимальной, меньше максимума. Обычно получают гладкую кривую; резкие изломы (подобно получаемым на одиночных скелетных волокнах) не выявляются, но это и не удивительно ввиду сложности большинства гладкомышечных препаратов по сравнению с одиночными волокнами, которые изучают с использованием системы обратной связи для слежения за некоторой точкой волокна [20]. Лишь в одной работе было обнаружено плато кривой зависимости силы

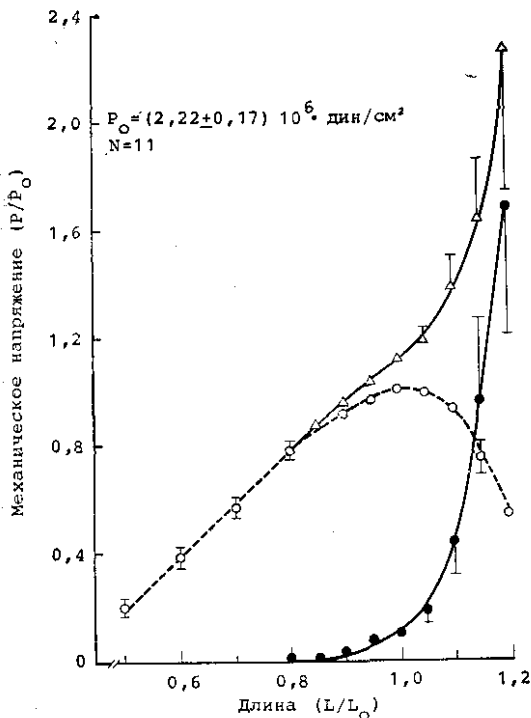


Рис. 37.3. Кривая зависимости механического напряжения от длины полоски стенки сонной артерии кабана. Длина мышцы выражена в долях L_0 — оптимальной длины, при которой развивается максимальная сила. Механическое напряжение выражено в долях P_0 — максимальной силы, развиваемой полоской при активации. Темные кружки: пассивное механическое напряжение, оцениваемое путем быстрого расслабления мышцы, растянутой до большой длины. Треугольники: сила, развиваемая мышцей в изометрическом режиме при стимуляции ионами K^+ . Светлые кружки: активное напряжение (т. е. полная развиваемая мышцей сила во время стимуляции минус пассивное механическое напряжение при данной длине). По вертикали указано стандартное отклонение ± 1 . По [104].

от длины для гладкой мышцы [24], но оно было получено на гладкой мышце беспозвоночного: передней втягивающей мышце *Mytilus edulis*. Мало данных относительно развития силы в перерастянутой ГМС, так как при чрезмерном растяжении ткань часто разрушается, а высокая величина пассивного напряжения не позволяет точно измерить на его фоне активное напряжение. Тем не менее известно, что снижение активного напряжения резко при увеличении длины свыше L_0 , чем при снижении длины. При малой длине гладкая мышца в большей степени сохраняет способность к генерации силы, чем скелетная. Общепринятое представление о том, что гладкая мышца способна укорачиваться сильнее, чем скелетная, по-видимому, является преувеличением. Murphy [25] отметил (рис. 37.4), что опубликованные кривые зависимости силы от длины для сканированных скелетных волокон аналогичны таковым для гладкой мышцы, имея в виду, что ограниченные возможности скелетной мышцы скорее являются следствием характерной для нее зависимости степени активации от длины, чем геометрии миофибрилл.

Если сравнить величины F_0 (максимальная активная сила на единицу площади поперечного сечения), полученные в скелетной мышце и в гладкой мышце сосудов, то оказывается, что гладкая мышца способна развить такую же или большую силу. Это удивительно, поскольку содержание миозина в гладкой мышце составляет лишь $1/5$ от того, что имеется в скелетной [22]. Способ

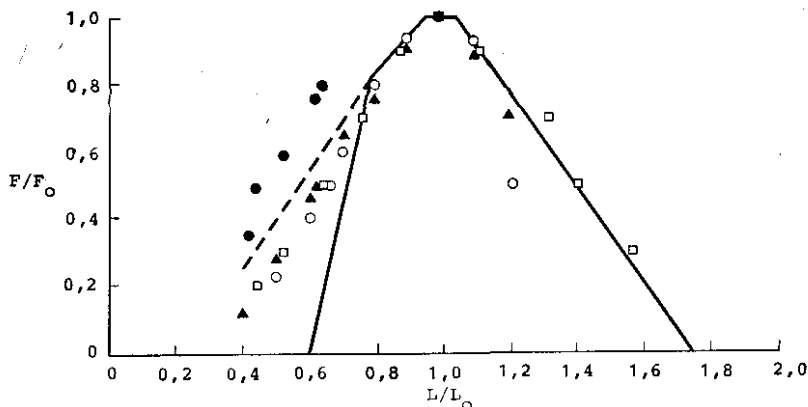


Рис. 37.4. Сравнение кривых зависимости активной силы (F/F_0) от длины (L/L_0) гладкой и скелетной мышц. Амплитуду силы нормировали на максимальную величину силы, развиваемую каждым препаратом, а длина нормирована на оптимальную для каждого препарата длину, соответствующую длине саркомера скелетной мышцы 2,1 мкм. Сплошная линия: одиночное мышечное волокно скелетной мышцы (данные из работы [20]); пунктирная линия и темные кружки: скинированные волокна скелетной мышцы, непосредственно активируемые ионами Ca^{2+} ; светлые кружки: круговая мышца двенадцатиперстной кишки; треугольник: гладкая мышца трахеи собаки. Обратите внимание, что развитие силы в гладкой мышце начинается при меньшей длине препарата, чем в интактной скелетной мышце, но скинированные скелетные волокна способны развивать при малой длине силу большей величины, чем интактная гладкая мышца. По [2].

ность гладкой мышцы развивать такую значительную силу является свойством клеток, а не результатом сложного строения ткани, которое могло бы обеспечивать клеткам особо выгодные условия для механической активности [26—28]. Таким образом, кривая зависимости силы сокращения от длины и высокий уровень силы, развиваемой гладкой мышцей сосудов, свойственны отдельным клеткам. Этот результат получил непосредственное подтверждение в исследованиях необычайно крупных гладкомышечных клеток желудка земноводных. Сила, развиваемая одиночной клеткой этой ткани, если выразить ее на единицу площади поперечного сечения, столь же велика, как и сила, развиваемая в полосках гладкой мышцы [29].

Довольно сложно применить кривые зависимости силы сокращения от длины, полученные на полосках гладкой мышцы, к интактным артериям. В качестве первого приближения среднюю длину окружности (среднее между внутренней и внешней окружностью) можно приравнять к длине мышечного препарата. Однако при сокращении мышцы стенки в большей степени сокращается внутренний слой, так как из-за утолщения стенки ее масса смещается в сторону просвета. Например, если отношение r_1/r_0 равно 0,7, сокращение приведет к уменьшению r_0 до 80%, а r_1 до 52% от исходной величины. Длина окружности, естес-

венно, пропорциональна радиусу. Это означает, что отдельные слои должны при этом скользить друг относительно друга. Кстати, следует отметить, что способность гладкой мышцы сосудов к укорочению достаточна для того, чтобы вызвать значительное сужение артерии, но при этом невозможно точно определить эквивалентную длину гладкомышечной клетки или «длину фрагмента стенки» при данном радиусе сосуда. Даже если бы при некотором значении радиуса все мышечные клетки артерии имели одну и ту же длину, при другом радиусе обязательно проявилась бы негомогенность размеров клеток [2].

Кривая зависимости между силой и скоростью укорочения

Взаимосвязь между силой и скоростью укорочения в гладкой мышце сосудов качественно близка к таковой в скелетной мышце, так как обе довольно хорошо аппроксимируются гиперболическим уравнением Хилла: $(F+a)(\dot{V}+b) = (F_0+a)b$. Величина максимальной скорости укорочения ($\dot{V}_{\text{макс}}$) может быть получена из линеаризованного уравнения путем экстраполяции и выражаться в длине мышцы в секунду. При 37 °C эта величина значительно меньше в гладкой мышце (0,02—0,7 L_0/c), чем в скелетной (обычно 1—10 L_0/c). Однако недавно были выявлены определенные трудности в точном измерении $\dot{V}_{\text{макс}}$ в гладкой мышце. Наиболее существенная из трудностей связана с тем, что скорость укорочения при заданной нагрузке зависит от времени, т. е. от того, как долго мышцу стимулировали в изометрическом режиме прежде чем позволить ей начать изотонически сокращаться [30—34]. В этих экспериментах мышцу стимулировали в изометрическом режиме и наблюдали увеличение силы, а затем мышцу быстро освобождали, чтобы позволить ей укорачиваться против определенной постоянной нагрузки. Удивительно, что наиболее высокие значения $\dot{V}_{\text{макс}}$ (скорость укорочения без нагрузки) наблюдали тогда, когда мышцу освобождали до того, как она развивала максимальную силу в изометрическом режиме. Это явление будет обсуждаться ниже, но оно позволяет предположить, что приводимые в литературе величины $\dot{V}_{\text{макс}}$ являются заниженными. Другая проблема, возникающая при измерении $\dot{V}_{\text{макс}}$ с помощью метода быстрого перехода к изотоническим условиям, состоит в том, что после быстрого освобождения мышцы короткое время наблюдается очень высокая скорость укорочения. Неясно, следствие ли это особых характеристик кинетики поперечных мостиков [34] или же результат срабатывания последовательного упругого компонента [35]. В любом случае начальная скорость оказывается приблизительно в 6 раз больше, чем установившаяся скорость укорочения, что может приводить к завышению истинной величины $\dot{V}_{\text{макс}}$. В условиях изотонического сокращения с постнагрузкой нагрузка (сила) является независимой переменной, а скорость укорочения — зависимой. Иногда ис-

пользуется противоположный подход, когда скорость является независимой переменной, что достигается приложением извне постоянной скорости укорочения, и измеряется сила, создаваемая мышцей в этих условиях.

Максимальную скорость укорочения можно также оценить с помощью процедуры, известной под названием метода оценки «слабины», когда стимулированную мышцу быстро укорачивают до новой длины, так что сила натяжения равна нулю и мышца слегка провисает: в этих условиях мышца продолжает активно сокращаться, и регистрируемое изменение длины мышцы до момента превышения нулевого напряжения делят на соответствующий интервал времени, вычисляя таким образом скорость укорочения в отсутствие нагрузки.

Последовательный упругий элемент

Сократительный элемент (СЭ) мышцы ведет себя таким образом, как будто развиваемая им сила передается внешней нагрузке через некоторую пружину — последовательный упругий элемент (ПУЭ). При построении первых эквивалентных моделей мышцы еще не были известны анатомические структуры, ответственные за ПУЭ, и считали, что ПУЭ определяется чем-то независимым от миофибрилл, составляющих сократительный элемент. Последующие исследования скелетной мышцы привели к точке зрения, что основная часть ПУЭ сосредоточена в миофиновых поперечных мостиках. Один из способов измерения ПУЭ состоит в быстром укорочении мышцы на максимум ее изометрического тетануса, так что сила, развиваемая мышцей, уменьшается до нуля. При очень жестком ПУЭ для этого достаточно небольшого укорочения. График, связывающий длину и силу в ходе такой процедуры, позволяет определить характеристики ПУЭ. В случае скелетной мышцы полное исчезновение силы происходит уже при быстром укорочении на 3% [36], а при более быстром изменении длины одиночных волокон достаточно оказывается укорочения менее 1% [37, 38]. Взаимосвязь укорочения и силы не является линейной при низких значениях силы, поэтому часто используют линейную экстраполяцию до уровня нулевой силы. Получаемая при такой экстраполяции точка пересечения с осью укорочений соответствует укорочению одиночных волокон на 0,5% [37, 38] и всей мышцы на 1,5% [36]. Если таким способом исследовать полосу гладкой мышцы сосудов, то для полного исчезновения силы оказывается необходимо укорочение на 2—3%, и линейная экстраполяция дает точку пересечения порядка 1,5% [39]. К сожалению, точность оценки последовательной упругости зависит от качества измерений и скорости, с которой осуществляется расслабление; ранее сообщалось, что последовательная упругость составляет 5—10% от длины мышцы. Таким образом, гладкая мышца, сокращающаяся в изометрических условиях, имеет практически ту же жесткость, что и скелетная мышца. Последовательный упругий элемент оказывает существенное влияние на

измерение скорости изотонического укорочения, так как было показано, что именно он ответствен за кратковременное резкое увеличение скорости сразу после освобождения концов мышцы [35]. Такого нежелательного влияния ПУЭ на скорость укорочения можно избежать, если использовать метод изотонического сокращения с постнагрузкой, однако в этом случае укорочение при различных изотонических нагрузках начинается в различные моменты времени после стимуляции мышцы, что является существенным недостатком метода, так как скорость укорочения, как отмечено выше, зависит от продолжительности стимуляции в изометрическом режиме [32, 33].

Оценка механических свойств отдельных клеток в многоклеточном препарате

Малый размер гладкомышечных клеток сосудов не позволяет использовать для исследований механических свойств одиночные клетки, хотя такие исследования и выполняются на значительно более крупных клетках желудка земноводных [29]. Это означает, что свойства отдельных клеток гладких мышц сосудов приходится определять, исходя из данных о механических свойствах сложных многоклеточных тканей, поэтому чрезвычайно важно установить, приобретают ли клетки какие-либо особые преимущества, будучи включенными в состав ткани. Необходимость изучения такой возможности возникла в связи с тем, что гладкая мышца сосудов оказалась способна развивать очень высокую силу, несмотря на низкое содержание в ней миозина [22], а также вследствие многократных утверждений, что гладкомышечные клетки в составе ткани стенки артерий приобретают некоторые преимущества [28]. Особые преимущества для проявления механической активности гладкомышечных клеток в составе ткани было опровергнуто двумя способами. Во-первых, оказалось, что сила, развиваемая полоской гладкой мышцы, не зависит от исходной длины препарата, в котором измеряют силу, т. е. не зависит от числа клеток, расположенных вдоль препарата [26]. Второй способ основан на измерении изменения длины отдельных клеток или расстояния между некоторыми опорными точками внутри клеток, входящих в состав ткани, при заданном изменении длины препарата. В отсутствие преимуществ для механической активности укорочение препарата на 10% должно привести к уменьшению средней длины клеток или расстояния между опорными точками также на 10%.

Уменьшение средней длины клеток на 20% означало бы, что нахождение клеток в составе структуры ткани дает механический выигрыш (преимущество) 2:1. Такие исследования были проведены на полосках стенки сонной артерии кабана [27, 28], ленте толстой кишки морской свинки [40] и мочевом пузыре кролика [49], а также на кольцевых препаратах мелких артерий [41]. Результаты показали, что, клетки, находясь в ткани, не приобре-

тают никаких особых преимуществ и оценки скорости укорочения и активной силы отдельной клетки, полученные путем соответствующей нормировки результатов измерений на целой ткани, являются справедливыми.

Механические свойства одиночных гладкомышечных клеток

Одиночные клетки можно выделить из гладкой мышцы сосудов и измерить определенные механические параметры, как то степень и скорость укорочения без нагрузки. Однако для изучения развиваемой клетками силы или их укорочения при определенной нагрузке необходимо прикрепить к ним датчик силы, но этого пока никому сделать не удалось. Тем не менее достигнут существенный прогресс в изучении мышечных клеток желудка жабы *Bufo marinus*, и несмотря на то что это не клетки сосудов и не клетки млекопитающего, полученные в этих исследованиях результаты имеют непосредственное отношение к ткани сосудов. Большой размер таких клеток позволяет привязать их к микродатчику, при этом часть клетки остается интактной и способна развивать силу. Выводы, сделанные в предыдущем разделе, получили подтверждение благодаря факту, что сила, активно развиваемая одиночными клетками *Bufo*, имеет ту же величину, что получена при измерениях на ткани гладкой мышцы сосудов [29]. Эти клетки сохраняют свои холинэргические рецепторы и являются ценной моделью для изучения действия фармакологических средств и электрофизиологических свойств гладких мышц. Другой интересный результат состоит в том, что после прямой электрической стимуляции наблюдается некоторый латентный период до начала развития силы [29] — обнаружение этого в препарате, где отсутствует диффузионная задержка, говорит о том, что это свойство является естественной характеристикой гладкомышечных клеток, которую должна учитывать любая теория электромеханического сопряжения.

Механические свойства «сканированных» препаратов

Для уменьшения или устранения барьера проницаемости, создаваемого клеточной мембраной гладких мышц сосудов, что позволило бы осуществлять прямую активацию сократительного механизма ионами Ca^{2+} , были разработаны несколько методов. На таких препаратах не удастся проводить сложных исследований механических свойств, так как развиваемая ими сила обычно уменьшается с каждым последующим циклом сокращения — расслабления, а для получения кривой, описывающей связь между силой и скоростью сокращения, необходимо осуществить множество таких циклов. Обычно в качестве измеряемой реакции используют силу, развиваемую в изометрическом режиме, и в некоторых случаях измеряют активность АТФазы. Главное значение таких препаратов состоит в том, что они служат связующим звеном между биохимией мышечных белков и механикой мышцы.

Вследствие небольших размеров клеток ГМС истинное механическое сканирование сарколеммы затруднено, поэтому обычно проницаемость мембраны достигается путем растворения ее детергентами [42] или глицерином [43], путем мягкой механической обработки [44] или с помощью глицеринизации с замораживанием [45], а также путем воздействия на мембрану таких специфических соединений, как стафилококковый α -токсип [46] или ионофор А 23 187 [47]. Неионные детергенты, подобные Тритону X-100, оказывают действие на мембраны всех типов, а обработка сапонином, согласно опубликованным данным, разрушает только клеточную мембрану, но не затрагивает мембрану саркоплазматического ретикулула [48]. Считается, что глицеринизация с замораживанием приводит скорее к растрескиванию, а не к растворению мембраны [45]. По данным Saida [47], для обратимого «сканирования» гладкомышечных клеток может быть использован ионофор двухвалентных катионов А 23 187, под действием которого из клетки выходят такие анионы, как АТФ, а после удаления ионофора мембрана восстанавливает свою избирательную проницаемость. Два основных критерия успешного сканирования: активное развитие силы и внеклеточное пространство, характеризующееся распределением небольших молекул. Идеальный сканируемый препарат способен развивать силу той же величины, что и интактный препарат, а небольшие молекулы свободно распределяются во всем объеме ткани.

Результаты, полученные на «сканированных» препаратах. «Сканированные» препараты гладкой мышцы использовали, чтобы показать зависимость силы, развиваемой мышцей [42—48], активности АТФазы [45] и фосфорилирования легкой цепи миозина [44, 46] от концентрации Ca^{2+} . Особенно интенсивно сканированные препараты использовали Kerrick и соавт. для изучения роли фосфорилирования легкой цепи миозина в регуляции сокращения. Они обнаружили, что при необратимом тиофосфорилировании легкой цепи миозина с помощью АТФ- γ -S развиваемая мышцей сила не зависит от концентрации Ca^{2+} [44]. Это согласуется с результатами биохимических исследований, в которых показано, что АТФ- γ -S оказывает аналогичное действие на активность MgATP азы в актомиозине [49]. Сканированные препараты использовали также для определения зависимости силы сокращения от концентрации Mg^{2+} [43, 48]. Расслабление мышцы, вызываемое ванадатом, наступает сразу после стадии фосфорилирования легкой цепи [45]. Практический недостаток сканированных препаратов состоит в том, что цикл сокращения — расслабления происходит слишком медленно, но обнаружено, что скорость расслабления можно увеличить, добавляя в среду неорганический фосфат [50]. При помощи сканированных препаратов удалось также показать релаксирующее действие цАМФ-зависимой протеинкиназы [51]. Этот фермент катализирует фосфорилирование многих субстратов, но в данном случае он скорее всего действует

путем фосфорилирования киназы легкой цепи миозина, что приводит к уменьшению ее активности, вызывая снижение уровня фосфорилирования легкой цепи и расслабление мышцы.

БИОХИМИЯ СОКРАТИТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ

При биохимическом изучении сократительных белков, выделенных из ткани, невозможно измерять развиваемую ими силу или укорочение, так как исчезает упорядоченная структура, образуемая этими белками в клетке. Биохимическим аналогом сокращения, который чаще всего используется в таких исследованиях, является активность MgATФазы, зависящая от Ca^{2+} . В данном случае субстратом является MgATФ (обычно присутствующий в миллимолярной концентрации), однако для полной активации реакции необходимы ионы Ca^{2+} в низкой концентрации (10^{-5} М). Когда $[\text{Ca}^{2+}]$ очень низка (10^{-8} М), активность MgATФазы в хороших препаратах ингибирована до уровня, составляющего менее 10% от такового при $[\text{Ca}^{2+}] = 10^{-5}$ М. Другим часто используемым коррелятом сокращения в биохимических исследованиях является так называемая суперпреципитация, состоящая в увеличении интенсивности рассеянного света, зависящем от АТФ, что является следствием сокращения агрегатов молекул актина и миозина. Суперпреципитацию невозможно столь же точно описать количественно, как повышение активности АТФазы, зато на этот метод не влияют другие АТФазы, содержащиеся в препарате, и очень полезен в качестве дополнения к методу измерения активности АТФазы.

В биохимических исследованиях используются различные по сложности виды белковых препаратов, начиная от неочищенных миофибрилл до актомиозина и очищенных белков. Термин «миофибриллы гладкой мышцы» относится к нерастворимому веществу, получаемому после гомогенизации ткани в растворе с низкой ионной силой для удаления белков цитоплазмы. Обычно такие препараты отмывают неионными детергентами от загрязняющей активности АТФазы мембран. Миофибриллы не являются простой системой, но препарат миофибрилл легко получить, а актин и миозин присутствуют в нем, скорее всего, в виде нативных миофиламентов. Актомиозин представляет собой смесь актина, миозина, тропомиозина и других белков, которые путем солиubilизации экстрагированы из гомогенизированной мышечной ткани и вновь осаждены. В процессе солиubilизации, по-видимому, толстые миофиламенты разрываются и затем восстанавливаются при осаждении, так что, несмотря на более простой белковый состав актомиозина по сравнению с миофибриллами, часть естественной структуры оказывается утраченной. Наконец, из ткани можно выделить и отдельно очистить белки, составляющие миофибриллы (актин, миозин и т. д.), а затем рекомбинировать их в известном стехиометрическом соотношении. Такой подход требует больших затрат времени, но дает наиболее точные результаты.

Состав сократительных белков гладкой мышцы

Подобно скелетной мышце, гладкая мышца содержит такие структурные белки, как миозин, актин и тропомиозин. В ней также содержатся в небольшом, но выявляемом количестве и другие структурные белки (α -актинин, десмин или виментин, винкулин и филамин), причем некоторые из них присутствуют и в скелетной мышце. Основное качественное отличие гладкой мышцы от скелетной состоит в том, что стехиометрическое содержание регуляторного белка тропонина в ней невелико [52—54]. Опубликованы данные, что в тонких филаментах гладкой мышцы содержится регуляторный белок другого типа, названный лейотонином [55, 56], но его значение как регуляторного белка в настоящее время не общепризнано. Во всех мышцах позвоночных содержатся также ферменты, известные как киназа легкой цепи миозина (КЛЦМ) и фосфатаза легкой цепи миозина (ФЛЦМ), по-видимому, играющие важную роль в регуляции сокращения гладких мышц.

Стехиометрия. Прежде чем перейти к рассмотрению специфических свойств очищенных белков, целесообразно обсудить вопрос о количестве белков разных типов, присутствующих в клетке. Наиболее характерной отличительной чертой количественного состава белков гладкой мышцы является высокое содержание актина и низкое содержание миозина по сравнению со скелетной мышцей [22]. Отношение актина к миозину по массе в гладкой мышце приблизительно в 10 раз больше, чем в скелетной мышце, что свидетельствует о низком содержании миозина и высоком содержании актина [22]. Эти данные хорошо согласуются с результатами морфологических исследований методом электронной микроскопии. Довольно высокое содержание тропомиозина в гладкой мышце, послужившее причиной некоторого недоумения, высказанного в ранних биохимических работах, как было показано впоследствии, хорошо согласуется с высоким содержанием актина, так что структура тонких филаментов в гладкой мышце подобна таковой в скелетной— на одну молекулу тропомиозина приходится 7 мономеров актина. Сравнение состава сократительных белков в гладких мышцах млекопитающих нескольких видов выявило две группы тканей: в первой содержание актина очень велико, а во второй оно существенно меньше (но все же значительно больше, чем в скелетной мышце) [57]. Ткани, входящие в первую группу (артерии), способны развивать силу большей величины, чем те, которые относятся ко второй (вены и гладкие мышцы других органов), хотя и обнаружены некоторые исключения. Более высокое содержание актина в гладкой мышце проявляется и в препаратах миофибрилл или актомиозина, поэтому из этой ткани труднее выделить очищенный препарат миозина, чем из скелетной мышцы.

Отдельные белки

Миозин. Миозин является основным белком толстых миофиламентов и обладает АТФазной активностью, которая преобразует химическую энергию, высвобождаемую при гидролизе АТФ, в механическую работу. Нативный миозин имеет молекулярную массу приблизительно 470 000 дальтон и состоит из двух тяжелых цепей массой 200 000 дальтон каждая и 2 видов легких цепей массой 20 000 и 17 000 дальтон. Легкая цепь массой 20 000 дальтон может быть фосфорилирована киназой легкой цепи миозина, что будет обсуждаться в следующем разделе. Подобно миозину мышц других типов, миозин гладкой мышцы связывает Ca^{2+} , что может играть некоторую роль в регуляции сокращения. Содержание миозина в гладкой мышце равно приблизительно 16 мг/г клеточной массы (или около 10 мг/г ткани в препарате, где клетки составляют 60% всей ткани) [22]. Этот белок отличается от миозина скелетной мышцы по своему аминокислотному составу, растворимости, характеристикам агрегации и ферментативным свойствам АТФазы (АТФазная активность фермента гладких мышц ниже, и обычно она не столь сильно стимулируется актином). В следующем разделе более подробно обсуждается роль MgАТФазы миозина в регуляторных механизмах. Из последних наиболее полных обзоров о миозине и других сократительных белках гладкой мышцы можно порекомендовать работу Hartshorne и Gorecka [58].

Актин. Актин является глобулярным белком с молекулярной массой около 42 000 дальтон, состоящим из одной полипептидной цепи. Мономеры актина в клетке полимеризуются с образованием вытянутой структуры в виде двойной спирали, известной под названием F-актин, которая составляет основу тонких миофиламентов. Актин стимулирует активность MgАТФазы миозина *in vitro*, и именно этот процесс лежит в основе увеличения расхода энергии при сокращении мышцы. В гладкой мышце содержание актина (по массе) выше содержания любого другого белка, составляя в сонной артерии кабана приблизительно 30 мг/г ткани [22]. Актин практически одинаков во всех типах мышц, но все же не идентичен. Методом изоэлектрического фокусирования было выявлено существование трех вариантов актина гладких мышц с различными изоэлектрическими точками, которые обозначаются α , β , и γ [59]. Для актина скелетных мышц наиболее характерен α -актин, однако роль и значение этих изоэлектрических вариантов актина пока еще окончательно не установлены, так как их очень трудно отделить друг от друга без денатурации.

Тропомиозин. Тропомиозин представляет собой белок, имеющий форму стержня, вторичная структура которого почти исключительно представлена α -спиралью. Он состоит из двух субъединиц: α -субъединицы с молекулярной массой около 34 000 дальтон и β -субъединицы массой около 36 000 дальтон. В поперечнополосатой мышце в зависимости от типа волокна относительное

содержание этих двух субъединиц может быть разным. Соответствующие субъединицы тропомиозина гладкой мышцы, по-видимому, имеют несколько большую массу: 36 000 и 39 000 дальтон в мускульном желудке цыпленка [53], однако значение этого факта остается неясным. Считается, что в поперечнополосатой мышце длинные молекулы тропомиозина, которые связаны с регуляторным белком тропонином, находятся в капавках, образованных с обеих сторон двойной спираль F-актина, и служат для блокирования 6—7 мономеров актина, которое устраняется перемещением тропомиозина глубже в эти канавки при связывании Ca^{2+} с тропонином. Отсутствие тропонина в гладких мышцах позвоночных означает, что тропомиозин в этой ткани не может играть той же роли, что в скелетных мышцах, и часто считают, что он служит структурным элементом, поддерживающим жесткость тонких нитей. В биохимических исследованиях было показано, что тропомиозин является активатором АТФазы актомиозина в системе, содержащей очищенную киназу и фосфатазу легкой цепи миозина [60], однако механизм такой активации неизвестен. Тропомиозин, по-видимому, не принимает участия в регуляции активности гладкой мышцы, так как не является необходимым компонентом системы Ca^{2+} — чувствительной Mg АТФазы миозина гладкой мышцы, активируемой актином. Нативным тропомиозином называется грубая смесь различных белков, среди которых преобладает тропомиозин. В поперечнополосатой мышце нативные препараты тропомиозина содержат тропонин и поэтому обеспечивают чувствительность к Ca^{2+} смеси миозина и актина скелетной мышцы. Термин «нативный тропомиозин» используется также для обозначения грубой смеси соответствующих белков гладкой мышцы, но в этом случае активирующим фактором является не тропонин, а либо киназа и фосфатаза легкой цепи миозина [61] либо лейотонин [56].

Тропонин. Тропонин не был обнаружен ни в Ca^{2+} -чувствительных препаратах актомиозина гладкой мышцы [53, 54], ни в препаратах тонких миофиламентов [53]; его не удается выделить из гладкой мышцы, используя методы, разработанные для скелетной мышцы. Большинство исследователей считают, что он вовсе отсутствует, несмотря на два [62, 63] сообщения о выделении тропонина или тропониноподобного компонента из гладкой мышцы. Концепция регуляции работы тонких миофиламентов была расширена в результате работ по выяснению фосфорилирования их компонентов [64]. Эти результаты будут более широко признаны после очистки и описания свойств активных компонентов этой системы. Термин «тропонин» использовался в ранних работах ряда исследователей [55], которые в настоящее время (с 1977 г.) считают активным компонентом системы регуляции работы тонких миофиламентов лейотонин, отличный от тропонина скелетной мышцы.

Лейотонин. Ebashi и соавт. сообщили, что за регуляцию работы тонких миофиламентов ответствен белок, который они назвали лейотонином. Этот белок образован двумя субъединицами с моле-

кулярной массой около 80 000 (лейотонин А) и 18 000 (лейотонин С) дальтон [65]. Авторы полагают, что субъединица С связывает Ca^{2+} , но не является кальмодулином или тропонином С, и очищенный белок в отличие от грубого препарата не обладает активностью киназы легкой цепи миозина [55]. Согласно оценкам, содержание лейотонина в гладкой мышце очень низко, составляя не более $\frac{1}{5}$ количества тропомиозина [55]. Поскольку предполагается, что лейотонин связывается с актином, трудно представить себе его роль в регуляции при условии, что это структурный белок, подобный тропонину, а не фермент, катализирующий некоторую реакцию.

Киназа легкой цепи миозина (КЛЦМ). Киназа легкой цепи миозина присутствует в мышцах всех типов, где она катализирует АТФ-зависимое фосфорилирование некоторой сериновой группы одной из легких цепей. Гладкая мышца является мышцей такого типа, для которой это фосфорилирование играет наиболее важную роль: оно позволяет актину стимулировать MgATP азную активность миозина [66]. Этот фермент состоит из каталитической субъединицы с молекулярной массой 100 000—140 000 дальтон и кальмодулина, многофункционального Ca^{2+} -связывающего белка с массой 17 000 дальтон [67, 68], являющегося регуляторной субъединицей. Согласно данным Adelstein и Klee [69], стехиометрия КЛЦМ такова, что на одну каталитическую субъединицу приходится один кальмодулин. Активация фермента происходит в результате связывания комплекса Ca^{2+} — кальмодулин с каталитической субъединицей. Каталитическая субъединица сама может быть фосфорилирована с помощью хорошо известной цАМФ-зависимой протеинкиназы, что снижает активность КЛЦМ при неизменном уровне Ca^{2+} -кальмодулина [70]. Это должно способствовать расслаблению гладкой мышцы, в связи с чем такой механизм привлек к себе пристальное внимание исследователей как одно из возможных объяснений β -адренергической релаксации. Однако фосфорилирование КЛЦМ в участке, который ответствен за снижение активности КЛЦМ, не происходит, если комплекс Ca^{2+} -кальмодулин связан с каталитической субъединицей (что соответствует сокращающейся мышце) [70]. Следовательно, такой механизм, по-видимому, снижает реактивность сосуда в расслабленном состоянии, но не способен объяснить расслабление суженного кровеносного сосуда. Каталитическая субъединица КЛЦМ подвержена протеолизу, теряя сначала свою способность ингибироваться при фосфорилировании, затем зависимость активности от Ca^{2+} и, наконец, полностью утрачивая свою активность. Этим, возможно, объясняется то, что первые препараты КЛЦМ имели заниженную молекулярную массу фермента (83 000), и его активность не зависела от Ca^{2+} [71].

Фосфатаза легкой цепи миозина (ФЛЦМ). Фосфатазу легкой цепи миозина мышц довольно трудно выделить в очищенном виде без денатурации, поэтому о ферменте известно относительно немного. Этот фермент отщепляет фосфатную группу от фосфорилированной легкой цепи массой 20 000 дальтон. Динамический

баланс реакций, катализируемых КЛЦМ и ФЛЦМ, определяет долю легких цепей миозина, находящихся в фосфорилированном состоянии, поэтому информация об этом ферменте столь же важна, как и информация о киназе. В ткани мускульного желудка индюка были выявлены два различных типа этого фермента [72]. По-видимому, ни один из них не является Ca^{2+} -зависимым, однако есть данные, что активность фосфатазы модулируется ионами Mg^{2+} [73]. Фермент одного типа, фосфатаза I, состоит из эквимольных количеств трех субъединиц (60 000, 55 000 и 38 000 дальтон, для проявления ее активности ионы Mg^{2+} не нужны, и она приблизительно одинаково активна как при дефосфорилировании легкой цепи миозина, так и при дефосфорилировании КЛЦМ. Другой фермент, фосфатаза II, состоит из одной субъединицы, массой 43 000 дальтон, для его активности необходимы ионы Mg^{2+} , и он относительно более специфичен к фосфорилированной легкой цепи миозина, чем к фосфорилированной КЛЦМ [72].

α -Актинин. Остальные идентифицированные в гладкой мышце белки являются структурными белками. α -Актинин имеет молекулярную массу порядка 110 000 дальтон и обнаружен в плотных телах цитоплазмы и в плотных участках клеточной мембраны гладких мышц [74]. Считается, что этот белок принимает участие в прикреплении тонких миофиламентов к плотным участкам клеточной мембраны и к цитоплазматическим плотным телам, т. е. структурам, которые считаются аналогами Z-линий поперечно-полосатой мышцы.

Винкулин. Винкулин является белком, молекулярная масса субъединицы которого равна 130 000 дальтон. Он обнаружен в щеточной кайме эпителиальных клеток, а также в гладкомышечных клетках. Считается, что он также служит для прикрепления тонких миофиламентов к клеточной мембране, но в отличие от α -актинина он не выявляется в цитоплазматических плотных телах. С помощью иммуноморфологического анализа методом электронной микроскопии показано, что винкулин располагается ближе к клеточной мембране, чем α -актинин [75]. Винкулин связывается с актином *in vitro*, заставляя последний образовывать пучки [76].

Десмин и виментин. В гладких мышцах содержатся миофиламенты другого класса, известные как промежуточные волокна, так как их диаметр (10 нм) является средним между диаметром тонких нитей активных миофиламентов (6—8 нм) и диаметром толстых миозиновых филаментов (12—15 нм). Промежуточные волокна очень устойчивы к солюбилизации растворами, используемыми для экстракции актомиозина. Сооке [77] показал, что субъединица белка, составляющего эти волокна, имеет молекулярную массу порядка 55 000 дальтон. Этот белок был последовательно назван двумя группами исследователей десмином [78] и скелетином [79], в настоящее время более широко используется термин «десмин». В немышечных клетках был охарактеризован в качестве белка, образующего промежуточные волокна, очень близкий к десмину белок, названный виментином, который также

был выявлен в гладкой мышце. Десмин и виментин довольно похожи по своей общей структуре, причем виментин немного больше (58 000 дальтон) и имеет более низкую изоэлектрическую точку. Согласно данным Gabbiani и соавт. [80], гладкая мышца сосудов отличается от других видов гладких мышц тем, что основным белком промежуточных волокон является виментин, а не десмин. Однако, по данным других авторов, в стенке некоторых кровеносных сосудов присутствуют оба эти белка [81]. Было проведено предварительное исследование с целью идентификации природы гладкомышечных клеток, накапливающихся в интима стенки аорты крысы после повреждения эндотелия, которое основывалось на присутствии в гладких мышцах виментина или десмина [82]. В настоящее время неизвестна роль промежуточных волокон в гладких мышцах, и наиболее признано предположение, что эти волокна образуют цитоскелет [77]. Недавно был опубликован исчерпывающий обзор ультраструктуры гладкой мышцы, включая промежуточные волокна [83].

Филамин. Молекулярная масса субъединицы филамина равна 250 000 дальтон. Он в довольно большом количестве присутствует в мускульном желудке цыпленка ($\frac{1}{3}$ от миозина по массе [84]). Считается, что этот крупный белок служит для образования поперечных связей между актиновыми миофиламенами [85], и он сходен (но не идентичен) с белком, связывающимся с актином, выделенным из макрофагов кроликов [86]. Роль филамина в гладкой мышце неизвестна, но на основании его присутствия в клетках гладкой мышцы и в других немышечных клетках в больших количествах выдвинуто предположение о том, что он может принимать участие в сокращении.

В настоящее время интенсивно исследуется структура цитоплазмы как в гладкомышечных, так и в немышечных клетках. Более подробно о свойствах α -актинина, винкулина, десмина, виментина и филамина читатель может узнать из книги, в которой опубликован обзор Brinkely [87].

РЕГУЛЯЦИЯ СИСТЕМЫ СОКРАЩЕНИЯ ИОНАМИ Ca^{2+}

Введение

Одним из наиболее важных вопросов в изучении гладкой мышцы является вопрос о природе регуляторных систем, управляющих сокращением. Отсутствие тропонина [52—54] означает, что в гладкой мышце должна существовать некоторая другая система, и возможной альтернативой может быть система, связанная с миозином, которая обнаружена у моллюсков. (В мышцах моллюсков отсутствует тропонин, и повышение концентрации Ca^{2+} вызывает сокращение вследствие связывания Ca^{2+} с миозином.) Однако в ГМС регуляторная система значительно сложнее, хотя и ней также может использоваться связывание Ca^{2+} с миозином. Большинство исследователей считают, что фосфорилирование лег-

кой цепи миозина представляет собой по крайней мере часть этой системы. Возможность регуляции активности АТФазы актомиозина с помощью фосфорилирования легкой цепи миозина была впервые обнаружена в сократительных белках тромбоцитов крови [88], а затем в гладкой мышце [60, 61, 89]. Несмотря на то что теория фосфорилирования, несомненно, наиболее популярна в настоящее время, она не является единственной. Предложено несколько различных регуляторных механизмов, и ниже дана оценка их приемлемости в настоящее время.

Обзор гипотетических механизмов

Тропонин. Ранние работы, в которых было показано присутствие тропонина в гладкой мышце [62, 90], не получили широкого признания, и обычно считается, что тропонин представляет собой методический артефакт выделения препарата. Концепция регуляторной системы через тонкие миофиламенты недавно вновь появилась [63], но пока еще не получила достаточного обоснования.

Системы, связанные с миозином. В 1974 г. было опубликовано сообщение о существовании в гладкой мышце позвоночных системы регуляции, связанной с миозином [52], которая подобна аналогичной системе в мышцах моллюсков. В мышцах моллюсков отсутствует тропонин, и связывание Ca^{2+} с миозином инициирует сокращение. В настоящее время известно, что регуляторная система у позвоночных значительно более сложна, тем не менее можно рассматривать механизм фосфорилирования как связанный с миозином. Более того, связывание Ca^{2+} с миозином может играть определенную физиологическую роль.

Лейотонин. Ученые нескольких известных исследовательских групп, преимущественно японских, считают, что регуляция сокращения гладкой мышцы осуществляется с помощью одного из белков тонких миофиламентов, который отличается от тропонина и известен как лейотонин [55]. Подобно фосфорилированию, этот белок обеспечивает чувствительность системы к Ca^{2+} в результате активирования в присутствии Ca^{2+} (а не ингибируя АТФазу в отсутствие Ca^{2+} , подобно тропонину системы скелетных мышц). Таким образом, он является истинным активатором. Трудность выделения этого белка явилась препятствием, мешающим широкому признанию этой теории в других странах.

Фосфорилирование тонких миофиламентов. Имеются данные о том, что белки тонких миофиламентов некоторых (но не всех) гладких мышц фосфорилируются в присутствии Ca^{2+} , поэтому активация миозила скелетных мышц в таких препаратах оказывается зависящей от Ca^{2+} [64]. Фосфорилирующийся компонент тонкого миофиламента имеет молекулярную массу 21 000 дальтон, но считается, что это не легкая цепь миозина. Более широкое признание этой точки зрения зависит от успехов выделения, очистки и описания свойств этого активного компонента.

Фосфорилирование легкой цепи миозина. Широкое признание этой теории оправдывает более подробное изложение ее развития и основ. Впервые фосфорилирование цепи миозина скелетной мышцы было обнаружено Peggie и соавт. [91], но они не заметили никакого существенного изменения активности АТФазы при фосфорилировании. Затем исследователи из группы Adelstein [88] сообщили, что при использовании миозина, выделенного из тромбоцитов крови, фосфорилирование вызывает увеличение активности MgАТФазы. Вскоре после этого в нескольких лабораториях была показана зависимость уровня фосфорилирования легкой цепи миозина гладкой мышцы от концентрации Ca^{2+} , и эта зависимость практически совпадала с зависимостью от концентрации Ca^{2+} активности MgАТФазы миозина [60, 61, 68]. Впоследствии удалось показать, что фосфорилирование миозина гладкой мышцы необходимо для того, чтобы актин был способен заметно активировать MgАТФазу миозина [66]. В результате серии биохимических экспериментов была сформулирована гипотеза о том, что сокращение гладкой мышцы регулируется ионами Ca^{2+} только благодаря зависимости от Ca^{2+} стадии фосфорилирования [49]. Эта гипотеза предсказывает, что если миозин постоянно поддерживать в фосфорилированном состоянии, то активация АТФазы миозина актином уже не будет зависеть от Ca^{2+} . При помощи различных методов и на различных тканях было показано, что полностью фосфорилированный миозин крупных артерий (*vas deferens*) морской свинки активируется актином в отсутствие Ca^{2+} , но при добавлении Ca^{2+} наблюдается дополнительная активация [60]; однако миозин ткани мускульного желудка цыпленка после необратимого тиофосфорилирования одинаково активируется актином как в присутствии Ca^{2+} , так и в его отсутствие [49]. Результаты, полученные на мускульном желудке цыпленка, согласуются с гипотезой о том, что Ca^{2+} регулирует сокращение только благодаря активации киназы миозина, а фосфорилирование является необходимым и достаточным условием для полной активации. Результаты [60] указывают на необходимость (но не достаточность) фосфорилирования для полной активации, что свидетельствует о существовании второго места действия Ca^{2+} на сократительные белки. Несмотря на то что это может быть результатом различия систем регуляции между тканями или видами животных, не исключено, что в процессе выделения белкового препарата некоторые компоненты Ca^{2+} -регуляторного механизма оказываются утраченными или, наоборот, могут быть искусственно созданы.

Последние работы показывают, что связь между фосфорилированием миозина и активностью АТФазы не может быть столь простой, как предполагалось ранее. Поскольку миозин является гексамером, состоящим из 2 тяжелых цепей массой 200 000 дальтон и 2 пар легких цепей массой 17 000 и 20 000 дальтон, в данной молекуле миозина могут быть фосфорилированы 0, 1 или 2 легкие цепи массой 20 000 дальтон (ЛЦ20). Каждая из тяжелых цепей имеет по одному участку, обладающему АТФазной

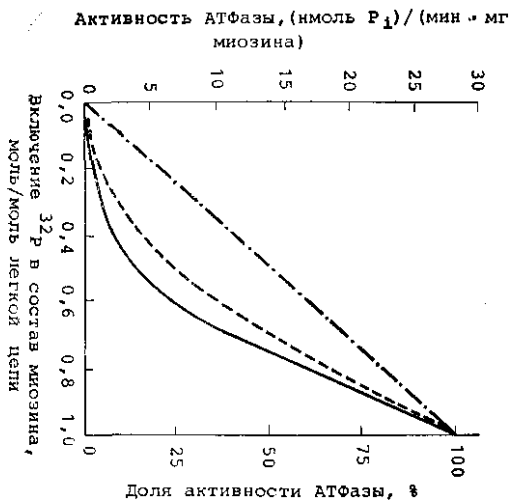


Рис. 37.5. Зависимость активности Mg-АТФазы миозина, активируемой актином, от степени фосфорилирования легкой цепи (ЛЦ20) миозина гладкой мышцы. Сплошная линия описывает экспериментальные данные. Прерывистая линия из точек и штрихов соответствует случаю, когда два центра АТФазы работают независимо и активируются только при фосфорилировании соответствующих легких цепей. Пунктирная линия показывает результат, ожидаемый, если фосфорилирование происходит случайным образом и обе легкие цепи должны быть фосфорилированы до активации любого из центров АТФазы. Если фосфорилирование представляет собой упорядоченный процесс и для проявления активности АТФазы необходимо фосфорилирование обеих легких цепей, то график будет прямой линией, соединяющей точку нулевой активности АТФазы при 0,5 (ммоль Р)/(моль ЛЦ20) и точку, соответствующую максимальной активности АТФазы при полном фосфорилировании. По [92].

фосфорилируется одна из легких цепей, что приводит к активации миозина лишь на 10% от активации при фосфорилировании обеих легких цепей. Добавление второй фосфатной группы должно в таком случае приводить к значительному увеличению активности АТФазы, так как при этом оба АТФазных участка оказываются максимально активированы.

В биохимических исследованиях сократительных белков *in vitro* значительную роль играют небольшие изменения структуры белков или белкового состава, не так-то просто обнаруживаемые, но сильно отражающиеся на их ферментативных свойствах.

активностью, поэтому возникает вопрос, происходит ли активация АТФазы тяжелой цепи лишь при фосфорилировании соответствующей легкой цепи или же для активации любого АТФазного участка необходимо фосфорилирование обеих легких цепей. Persechini и Hartshorne [92] недавно получили данные (рис. 37.5), которые, как они считают, подтверждают второе предположение, т. е. они убеждены, что участки АТФазной активности не способны работать независимо. Поэтому график зависимости активности MgАТФазы от доли фосфорилированных ЛЦ20 [(моль Р₁)/(моль ЛЦ20)] не является прямой линией, проходящей через начало координат (как было бы, если бы участки АТФазной активности были независимы), представляет собой кривую, выпуклую вниз. Авторы полагают, что их результаты согласуются с представлением об упорядоченном фосфорилировании, причем преимущественно фо-

В определенных условиях при использовании некоторых препаратов миозина фосфорилирование его с помощью одной лишь очищенной КЛЦМ недостаточно для полной активации АТФазы, и, по видимому, для этого необходимы другие факторы (присутствующие в грубых препаратах КЛЦМ) [93]. Это удивительно, поскольку в другой работе той же лаборатории показано, что такого фосфорилирования вполне достаточно для максимального увеличения активности АТФазы [92]. Это скорее всего означает, что препараты миозина очень чувствительны к условиям выделения, и именно этим объясняется расхождение между защитниками гипотезы лейтонина и адептами различных других механизмов, основанных на фосфорилировании. Если причина расхождения в этом, то ближайшей задачей должно быть выяснение, какой из указанных механизмов наиболее важен *in vivo*. В этом направлении были достигнуты значительные успехи при исследовании фосфорилирования как регуляторного механизма в интактных препаратах гладкой мышцы, что будет обсуждено в следующем разделе.

В настоящее время неизвестно, происходит ли повышение активности MgАТФазы актомиозина за счет увеличения количества связей между актином и миозином или в результате увеличения $\dot{V}_{\text{макс}}$, максимальной скорости АТФазной реакции в присутствии насыщающей концентрации актина либо существуют оба механизма. Это было бы очень важно выяснить, так как считается, что в интактной ткани фосфорилирование увеличивает максимальную скорость укорочения [32, 33], что определяет повышение $\dot{V}_{\text{макс}}$ АТФазной реакции *in vitro*. Надеемся, что ответ на этот вопрос скоро будет получен.

Исследования роли фосфорилирования легкой цепи миозина в регуляции сокращения интактной гладкой мышцы

Гипотеза регуляции сокращения гладкой мышцы исключительно фосфорилированием легкой цепи (ФЛЦ) миозина предполагает существование нескольких экспериментально проверяемых явлений: (а) при стимуляции или расслаблении мышцы изменения ФЛЦ должны предшествовать механическому ответу или совпадать с ним по времени; (б) в покоящейся мышце уровень фосфорилирования ЛЦ20 должен быть низким; и (в) величина механической реакции, будь то сила, скорость укорочения или изменение жесткости, должна быть пропорциональна степени фосфорилирования, хотя такая пропорциональность не обязательно должна быть линейной. Многими авторами показано, что при стимуляции интактной гладкой мышцы такое фосфорилирование действительно происходит [94—98] и оно совпадает по времени или предшествует механической реакции. Полученные данные подтверждают гипотезу о том, что фосфорилирование является одной из стадий процесса регуляции сокращения *in vivo*. Однако

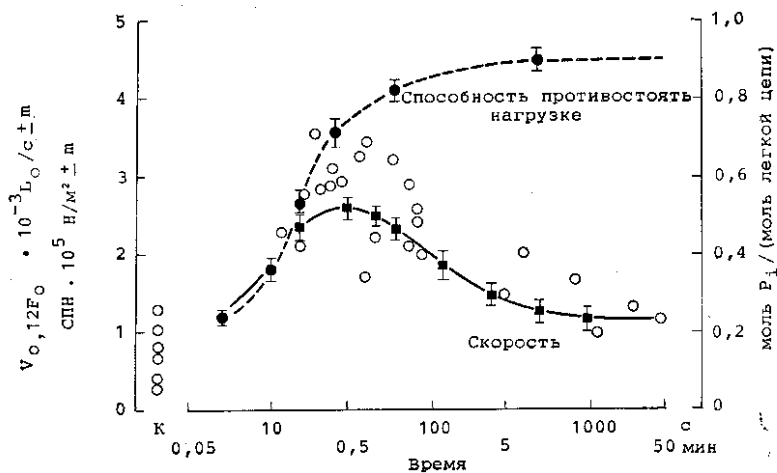


Рис. 37.6. Фосфорилирование легкой цепи (ЛЦ20) миозина скорость укорочения (V) и способность противостоять нагрузке (СПН) при стимуляции ионами K^+ полоски стенки сонной артерии кабана. Светлые кружки: фосфорилирование ЛЦ20; темные квадраты: скорость укорочения при нагрузке соответствующей 12% максимальной величины активной силы, развивающейся в изометрических условиях; темные кружки: способность противостоять нагрузке. За способность противостоять нагрузке принята максимальная величина силы, измеряемая при быстром растяжении мышцы в $0,025 L_o$ со скоростью $0,1 L_o/c$. Эта величина дает лучшую оценку числа образованных поперечных мостиков, чем величина силы, измеряемая в изометрическом режиме. По вертикали указана ± 1 стандартная ошибка средней. Экспериментальные данные о фосфорилировании представляют собой отдельные измерения без усреднения. К — контроль в нестимулированной мышце. Обратите внимание, что время дано в логарифмическом масштабе. По [32].

уровень фосфорилирования не всегда изменяется при сокращении полосок стенки аорты свиньи [98], и фосфорилирование не способно полностью объяснить наблюдаемые механические ответы так как оно достигает максимума до момента максимального развития силы в изометрическом режиме, а по мере дальнейшего роста силы до максимума уровень фосфорилирования уже снижается [32, 33, 95, 99, 100]. При длительной стимуляции предрата сонной артерии кабана сила сокращения поддерживается на постоянном уровне, в то время как уровень фосфорилирования падает практически до величин, наблюдаемых в покое [32, 33, 99]. Это означает, что пропорциональность между силой и фосфорилированием должна описываться коэффициентом, зависящим от времени. При измерении скорости укорочения после периода стимуляции в изометрическом режиме различной длительности было обнаружено, что скорость укорочения изменяется во времени так же, как уровень фосфорилирования легкой цепи [32, 33], что видно из рис. 37.6. Это приводит к предположению, что фосфорилирование легкой цепи управляет скоростью укорочения, а не силой сокращения в изометрическом режиме. Для объяснения уменьшения скорости укорочения при длительной стимуляции

было выдвинуто предположение о том, что длительность цикла фосфорилированного поперечного мостика миозина очень мала, однако если вновь образованный прикрепившийся к актину мостик дефосфорилируется, образуя так называемый защелкнутый мостик, то длительность цикла резко увеличивается, если такой мостик вообще способен к циклическому образованию и распаду [32]. Такие защелкнутые мостики могут быть аналогичны образованным, но не способным к дальнейшим циклам, поперечным мостикам в других гладких мышцах [101]. Предполагается, что защелкнутые мостики позволяют очень экономично поддерживать силу, но создают внутреннюю нагрузку, снижающую скорость укорочения, развивающегося вследствие циклического образования фосфорилированных поперечных мостиков. Считается, что количество образованных в данный момент поперечных мостиков регулируется некоторым другим Ca^{2+} -зависимым механизмом. Частичное подтверждение гипотезы образования защелкнутых мостиков было получено в исследованиях, показавших, что скорость потребления мышцей энергии при сокращении в изометрическом режиме снижается со временем [100]. Эта гипотеза защелкнутых мостиков привлекла большое внимание, но в настоящее время она основана лишь на косвенных данных. Если механизм защелкнутых мостиков действительно справедлив, то гладкая мышца способна быстро сокращаться при стимуляции, но затем скорость цикла образования и распада поперечных мостиков будет снижаться, уменьшая расход энергии на поддержание силы. Это объяснение хорошо подходит для роли гладкой мышцы сосудов, позволяя ей в течение длительного времени экономно поддерживать необходимый диаметр кровеносного сосуда.

Исследования регуляции сокращения «скиннированных» препаратов с помощью фосфорилирования легкой цепи миозина

Один из наиболее сильных аргументов в пользу гипотезы о том, что сокращение регулируется исключительно фосфорилированием, был получен в исследованиях на «скиннированных» препаратах гладкой мышцы. Аналог АТФ — АТФ- γ -S — является субстратом киназы легкой цепи, но тиофосфорилированная легкая цепь служит плохим субстратом для фосфатазы. После выдерживания скиннированного препарата в растворе с АТФ- γ -S для развития силы больше не требуются ионы Ca^{2+} [44]. Неопределенность, возникающая в связи с тем, работает ли тиофосфорилированная легкая цепь точно так же, как и фосфорилированная, была разрешена путем подтверждения, что фосфорилирование в использовании АТФ и модифицированной КЛЦМ, которая не требует Ca^{2+} для проявления своей активности, также устраняет зависимость силы сокращения от Ca^{2+} [102]. По-видимому, это является важным доказательством главной роли фосфорилирования в регуляции сокращения такого скиннированного препарата. К сожалению, механические реакции скиннированных препаратов изу-

ченые хуже, чем интактных препаратов. Исследования реакций на скиннированных препаратах [44, 46, 102] часто критикуют, так как количество фосфата, включаемого в состав легких цепей из АТФ, не столь велико, как ожидалось, возрастая от 0,01 (моль Р)/(моль ЛЦ20) до 0,20 (моль Р)/(моль ЛЦ20) при повышении $[Ca^{2+}]$ от 10^{-8} М до $1,6 \cdot 10^{-4}$ М в препарате мускульного желудка. В препарате подвздошной кишки кролика это увеличение выражено еще слабее: от 0,00 до 0,05 [46]. Однако если эти препараты инкубировали с АТФ- γ -S, то включение тиофосфата)/(моль ЛЦ20) в случае мускульного желудка и с 0,04 до 0,75 для подвздошной кишки в том же диапазоне концентраций Ca^{2+} . В обоих случаях развиваемая препаратами сила одинакова, несмотря на то что при тиофосфорилировании включение фосфата гораздо выше, чем при фосфорилировании. Если принять величины как таковые, то полученные данные довольно трудно согласовать с моделью прямой зависимости силы сокращения от уровня фосфорилирования. Расхождение между этими работами и работами, подтверждающими гипотезу защелкнутых мостиков и постулирующими наличие второго места действия Ca^{2+} , может быть просто связано с различием между тканями или видами животных. Кроме того, при разрушении мембраны могут быть утрачены некоторые аспекты регуляторного механизма интактной мышцы.

Регуляторные механизмы: резюме

В настоящее время нет общепринятой точки зрения на механизмы, регулирующие сокращение гладкой мышцы. Практически все исследователи согласны с тем, что такая регуляторная система отличается от системы скелетной мышцы, основным звеном которой является тропонин, но на этом согласии исчерпывается. Большинство ученых считает, что по крайней мере частью этой системы является фосфорилирование легкой цепи миозина. В некоторых препаратах изолированных белковых систем и в «скиннированных» препаратах фосфорилирование легкой цепи, по-видимому, является единственным механизмом, но в других изолированных белковых системах и в интактной ткани скорее всего существуют и другие механизмы. Ученые ряда известных лабораторий отрицают значение фосфорилирования легкой цепи миозина и утверждают, что регуляция определяется белком тонких миофиламентов, называемым лейотонином. К другим предложенным гипотетическим механизмам относятся связывание Ca^{2+} с миозином и фосфорилирование белков тонких миофиламентов.

Обзор, подобный этому, нацелен на то, чтобы дать читателю некоторые основы, позволяющие, несмотря на все расхождения взглядов, получить единую точку зрения на регуляторные механизмы гладкой мышцы. Один из подходов состоит в допущении, что не все типы гладких мышц идентичны друг другу в отношении регуляторных механизмов, как они не идентичны во многих других аспектах. Очень часто подчеркивается большое разнообра-

ние типов гладких мышц, и вовсе не обязательно, чтобы гладкомышечные клетки мускульного желудка цыпленка имели ту же систему регуляции, что и клетки аорты коровы. Другое возможное объяснение состоит в том, что в различных экспериментальных условиях проявляются или, наоборот, оказываются скрытыми различные механизмы, так что стадиями, лимитирующими активность АТФазы, могут становиться различные этапы цикла почечных мостиков. Это может быть следствием утраты или даже артефактного возникновения регуляторных механизмов в процессе приготовления препарата, используемого в данной модели. Если допустить справедливость этого предположения, то в результате мы приходим к выводу, что наиболее подходящим для исследования препаратом будет наиболее физиологичный. Поскольку фосфорилирование легкой цепи миозина можно подтвердить при стимуляции полосок интактной гладкой мышцы, сам факт фосфорилирования в физиологических условиях можно считать установленным [94—97, 100], а в биохимических исследованиях было показано, что оно может играть регуляторную роль [49, 60, 66, 102]. Однако так как более тщательные исследования механики мышцы показали, что фосфорилирование принимает участие в регуляции скорости укорочения, а не силы сокращения [32, 33], для объяснения регуляции силы сокращения в интактной ткани необходим некоторый другой подход [32, 33, 95, 99]. Для этой цели могут служить другие регуляторные механизмы (лейотонин, связывание Ca^{2+} с миозином или фосфорилирование белков тонких миофиламентов), которые, по-видимому, регулируют активность АТФазы в других условиях. Проблема регуляции сокращения гладкой мышцы очень активно изучается, и проводящиеся в настоящее время исследования вскоре ответят на вопрос, справедливо ли такое умозрительное объяснение множества противоречивых данных. Более полное понимание механизмов регуляции сокращения гладкой мышцы сосудов имеет исключительно важное значение, поэтому результаты настоящих и будущих исследований должны быть очень интересны.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Carew T. E., Vaishnav R. N., Patel D. J. Compressibility of the arterial wall. — *Circulat. Res.*, 1968, vol. 23, p. 61—68.
2. Murphy R. A. Mechanics of vascular smooth muscle. — In: *Handbook of physiology*, Sect. 2: The cardiovascular system, Vol. 2: Vascular smooth muscle/Ed. D. F. Bohr, A. P. Somlyo, H. V. Sparks, S. R. Geiger. Bethesda M.D.: American Physiological Society, 1980, p. 325—351.
3. Middleman S. *Transport phenomena in the cardiovascular system*. New York: Wiley-Interscience, 1972.
4. Doyle J. M., Dobrin P. B. Stress gradients in the walls of large arteries. — *J. Biomech.*, 1973, vol. 16, p. 631—639.
5. Bergel D. H. The static elastic properties of the arterial wall. — *J. Physiol.*, 1961, vol. 156, p. 445—457.
6. Dobrin P. B., Rovick A. A. Influence of vascular smooth muscle on contractile mechanics and elasticity of arteries. — *Amer. J. Physiol.*, 1969, vol. 217, p. 1644—1651.

сокращения, развиваемой в изометрическом режиме, при различных концентрациях трех фармакологических агентов: адреналина, норадреналина и гистамина (см. также рис. 38.3).

При сравнении гладких мышц различных сосудов животных разных видов было показано, что для поддержания максимальной величины силы в изометрическом режиме скорость потребления O_2 должна превышать базальный уровень на 50—100 нмоль O_2 /(мин·г ткани) [1—7]. Обычно наблюдают хорошую корреляцию между величиной силы, поддерживаемой в изометрическом режиме, и превышением скорости аэробного метаболизма над базальным уровнем, поэтому считается, что гидролизующийся актомиозином гладкой мышцы АТФ быстро ресинтезируется преимущественно благодаря аэробному метаболизму.

АЭРОБНЫЙ ГЛИКОЛИЗ

В покоящихся скелетных мышцах млекопитающих при хорошей оксигенации установившийся уровень образования лактата очень низок, составляя, согласно данным литературы, 5—50 нмоль/(мин·г ткани) [22—24], по сравнению со скоростью потребления O_2 в покое, равной 150—300 нмоль/(мин·г ткани). Обычно вклад аэробного гликолиза в суммарную скорость синтеза АТФ в покоящейся мышце не превышает 5%, и большая часть глюкозы или гликогена метаболизируется в окислительных реакциях, протекающих в митохондриях. В самом начале развития сократительной активности скелетной мышцы еще до включения механизмов восстановления уровня макроэргических фосфатов образование лактата в клетках может существенно повышаться. Однако при длительном тетанусе или при усреднении по всему периоду восстановительного метаболизма (несколько минут), образование лактата увеличивается по сравнению с базальным уровнем всего в 2—4 раза. Вместе с тем скорость потребления O_2 возрастает обычно в 20—100 раз, так что в установившихся условиях при поддержании заданного уровня механической активности скелетных мышц млекопитающих, а также при восстановлении запасов макроэргических фосфатов после окончания сократительной активности энергетический метаболизм практически полностью определяется окислительными процессами в митохондриях.

В гладкой мышце сосудов ситуация несколько иная. Одно время считалось, что даже в хорошо оксигенированных *in vitro* препаратах гладкой мышцы сосудов образуется чрезвычайно много лактата [15]. Предполагали, что это отражение некоторой формы «повреждения ткани», однако позднее, когда удалось создать условия, сохраняющие интактность препаратов гладкой мышцы сосудов *in vitro*, в них был зарегистрирован столь же высокий уровень аэробного гликолиза, причем эти данные неоднократно подтверждались (см. обзор Lundholm и соавт. [34]). Довольно высокая скорость аэробного гликолиза была обнаружена

в гладких мышцах многих типов, включая гладкие мышцы матки, кишечника и трахеи [1—7, 34, 35].

Для ткани сосудов с базальной скоростью потребления O_2 в диапазоне 50—200 нмоль/(мин·г) скорость аэробного образования лактата в покое составляет 100—250 нмоль/(мин·г), причем обычно в установившихся условиях на 1—2 моля образующегося лактата приходится 1 моль использованного O_2 . Что касается возможных путей использования углеводов, то такой путь является одним из наименее эффективных, так как молярное отношение 1:2 означает, что 75—85% используемых в этом процессе эквивалентов глюкозы метаболизируются только до молочной кислоты. Оставшиеся 15—25% глюкозы окисляются полностью, и именно таким путем синтезируется основная часть АТФ (70—80%), так как окислительное фосфорилирование обеспечивает значительно больший выход АТФ на одну молекулу глюкозы.

В одной из ранних работ, посвященных подробному изучению роли аэробного гликолиза в поддержании механической активности гладкой мышцы сосудов, Peterson и Paul [23] обнаружили, что и скорость потребления O_2 , и скорость образования молочной кислоты линейно возрастают в ответ на увеличение силы, развиваемой в изометрическом режиме, и активности тканевой АТФазы. Соотношение количества АТФ, синтезируемого в ходе окислительного фосфорилирования и образующегося во время гликолиза, независимо от уровня механической активности остается практически постоянным (т. е. 25—30% всего АТФ синтезируется за счет образования лактата). Более того, оказалось, что это справедливо независимо от того, как изменяется, оказывается, изометрического напряжения — с помощью варьирования интенсивности фармакологического воздействия или путем изменения длины мышцы на фоне постоянной супрамаксимальной фармакологической активации.

Эти наблюдения позволили сформулировать относительно простую модель, согласно которой молекулы АТФ, синтезируемые в ходе окислительного фосфорилирования и гликолиза, непрерывно поступают в пул, где хранятся запасы АТФ, и этот пул интруклеточными АТФазами. В этом случае выявленное в экспериментах постоянное стехиометрическое соотношение между АТФ, образующимся при окислительном фосфорилировании и в ходе гликолиза, предположительно обусловлено некоторым неизученным пока регуляторным механизмом [34]. Однако более поздние работы, начиная с Gluck и Paul [30], показывают, что такая упрощенная модель, скорее всего, неверна. В частности, получены данные о том, что образование молочной кислоты в ГМС является свойством метаболизма, по-видимому, специфически связанным с поддержанием определенных видов активности клетки. Какие это виды активности и что влияет на такую связь, в настоящее время является предметом научной дискуссии, и эти вопросы более подробно будут освещены в следующем разделе.

- during spontaneous-contraction of smooth muscle. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1980, vol. 96, p. 265—270.
95. *Driska S. P., Aksoy M. O., Murphy R. A.* Myosin light chain phosphorylation associated with contraction in arterial smooth muscle. — *Amer. J. Physiol.*, 1981, vol. 240, p. C222—C233.
 96. *Barron J. T., Barany M., Barany K.* Phosphorylation of the 20 000 dalton light chain of myosin of intact arterial smooth muscle in rest and in contraction. — *J. Biol. Chem.*, 1979, vol. 254, p. 4954—4956.
 97. *DeLanerolle P., Stull J. T.* Myosin phosphorylation during contraction and relaxation of tracheal smooth muscle. — *J. Biol. Chem.*, 1980, vol. 255, p. 9993—10000.
 98. *Murray K. J., England P. J.* Contraction in intact pig aortic strips is not always associated with phosphorylation of myosin light chains. — *Biochem. J.*, 1980, vol. 192, p. 967—970.
 99. *Aksoy M. O., Murphy R. A., Kamm K. E.* Role of Ca^{2+} and myosin light chain phosphorylation in regulation of smooth muscle. — *Amer. J. Physiol.*, 1982, vol. 242, p. C109—C116.
 100. *Butler T. M., Siegman M. J.* Chemical energetics of contraction in mammalian smooth muscle. — *Fed. Proc.*, 1982, vol. 41, p. 204—208.
 101. *Siegman M. J., Butler T. M., Mooers S. U., Davies R. E.* Calcium-dependent resistance to stretch and stress relaxation in resting smooth muscles. — *Amer. J. Physiol.*, 1976, vol. 231, p. 1501—1508.
 102. *Bridenbaugh R. L., Walsh P. M., Kerrick W. G. L., Hartshorne D. J.* Phosphorylation-dependent activated tension in skinned gizzard muscle fibers in the absence of Ca^{2+} . — *Biophys. J.*, 1982, vol. 37, p. 121a.
 103. *Halpern W., Mongeon S. A., Root D. T.* Stress, tension and myogenic aspects of small isolated extraparenchymal rat arteries. — In: *Smooth muscle contraction*/Ed. N. L. Stephens. New York: Dekker, 1984 (in press).
 104. *Herlihy J. T., Murphy R. A.* Length-tension relationship of smooth muscle of the dog carotid artery. — *Circulat. Res.*, 1973, vol. 33, p. 275—283.

Глава 38

МЕТАБОЛИЗМ И ЭНЕРГЕТИКА ГЛАДКОЙ МЫШЦЫ СОСУДОВ

ДЖ. В. ПЕТЕРСОН (J. W. PETERSON)

ВВЕДЕНИЕ

Метаболизм и энергетика сокращения гладкой мышцы сосудов были всесторонне рассмотрены в последние несколько лет [1—8]. Поэтому в предлагаемом здесь кратком обзоре я лишь суммирую твердо установленные факты относительно энергетического метаболизма гладкой мышцы сосудов, а также требования, которые предъявляет к метаболизму сократительная активность. В последней части я постараюсь сформулировать проблемы, не решенные в настоящее время или решенные не полностью.

Для скелетных мышц и гладких мышц сосудов характерны два крайне различных способа поступления химической энергии в виде терминальной фосфатной связи аденозинтрифосфата (АТФ) к сократительным белкам мышцы для обеспечения необходимой энергией ее сокращения (см. схему в работе Kushnertick [9]). Во время сокращения при 0°C скелетная мышца земноводных использует АТФ приблизительно в 100 раз быстрее, чем АТФ ресинтезируется в ходе аэробного метаболизма. Поэтому даже при кратковременном изометрическом тетанусе внутриклеточные запасы макроэргических фосфатов быстро истощаются, что ограничивает способность мышцы поддерживать развиваемую силу. Через некоторое время происходит активация аэробного ресинтеза АТФ, и исходное содержание макроэргических фосфатов постепенно восстанавливается, хотя для этого и требуется намного больше времени, чем продолжался период активного сокращения. Чтобы поддерживать столь интенсивный гидролиз АТФ при сокращении хотя бы короткое время до начала активации аэробного метаболизма, в скелетной мышце имеются большие запасы макроэргических фосфатов, порядка 15—25 мкмоль на 1 г сырой массы ткани. При этом АТФ (субстрат, непосредственно используемый сократительными белками) присутствует в клетках в невысокой концентрации, а АДФ, образующийся в ходе АТФазной реакции, катализируемой актомиозином, немедленно фосфорилируется до АТФ путем переноса фосфата от фосфокреатина (ФК), содержание которого в клетке относительно высоко.

Гладкая мышца сосудов (ГМС) работает совершенно иначе. Возникновение сократительной активности практически не сопровождается заметным снижением содержания АТФ + ФК в клет-

ке [10], так как скорость использования АТФ сократительным аппаратом и скорость аэробного ресинтеза АТФ близки по величине. Уменьшение тканевого содержания АТФ и ФК можно наблюдать лишь после блокирования и аэробного метаболизма и гликолиза. В связи с этим существуют два различных подхода к изучению энергетики сокращения гладкой мышцы сосудов, причем оба они используются исследователями.

Первый метод основан на измерении установившейся скорости метаболических реакций (точнее, скорости ресинтеза АТФ) в состоянии покоя и на фоне сократительной активности с тем, чтобы оценить скорость использования АТФ. При этом исходят из предположения (в большинстве случаев проверяемого), что в течение всего периода измерения внутриклеточное содержание АТФ+ФК остается на постоянном уровне, а использование и синтез АТФ постоянно сбалансированы. Возможности метода, естественно, ограничены, так как эта закономерность может быть несправедлива при малых интервалах времени. Другой метод состоит в том, чтобы полностью заблокировать ресинтез АТФ (используя растворы, лишенные субстратов и кислорода, а также метаболические яды) и непосредственно измерять уменьшение внутриклеточного содержания АТФ+ФК в покое и во время сокращения. Для этого метода также свойственны некоторые ограничения. При использовании метаболических ядов возникает проблема, насколько наблюдаемые процессы соответствуют тому, что происходит в нормальной ткани [11]. Кроме того, так как метод определения тканевого содержания АТФ в принципе является деструктивным, на одном препарате можно получить только одну экспериментальную точку, и последующее сравнение данных, полученных на большом количестве разных препаратов, дает результаты, статистически менее надежные. Преимущество этого метода в том, что не предполагается наличие установившихся условий, и в принципе он применим для любого сколь угодно короткого периода времени. Ограничения временного разрешения метода накладываются, однако, исключительно низкой скоростью АТФазной реакции в гладкой мышце сосудов даже с учетом небольшого объема запасов макроэргических фосфатов. Для изучения энергетики гладкой мышцы используются оба метода, и в большинстве случаев полученные данные хорошо дополняют друг друга, так что методические ограничения, по-видимому, сами по себе не столь важны для получения реальных результатов.

Описанные здесь две стратегии обеспечения сокращения мышцы энергией сформировались в процессе эволюции, по-видимому, чтобы удовлетворить специфические энергетические потребности мышц различных типов. Роль гладкой мышцы сосудов *in situ* состоит в поддержании тонуса кровеносных сосудов в течение длительного времени и градуальной регуляции тонуса при изменении состояния сердечно-сосудистой системы. Для достижения наибольшей экономичности актомиозин гладких мышц обладает исключительно низкой фоновой активностью АТФазы, и, несмотря на это, гладкие мышцы способны развивать и поддержи-

вать механическое напряжение, сравнимое по величине с напряжением скелетных мышц. Paul [4] оценил, что только 3—5% базального метаболизма в организме человека расходуется на тонус сосудов, и лишь $\frac{1}{3}$ этого количества идет на поддержание регуляции кровообращения. Несмотря на то что масса сосудов, распределяющих поток крови в организме и имеющих исключительно важное значение для динамических свойств сердечно-сосудистой системы, приблизительно в 10 раз больше, чем масса сердца, для выполнения своей роли сосудам требуется лишь 50% энергии, необходимой сердцу.

СОДЕРЖАНИЕ МАКРОЭРГИЧЕСКИХ ФОСФАТОВ

В данной главе не преследуется цель представить исчерпывающий набор данных, и внимание будет в основном сконцентрировано на наиболее типичных значениях различных параметров с указанием, где возможно, диапазона разброса данных. Крайние значения, приводимые в литературе, в большинстве своей опущены. Я надеюсь таким образом сосредоточиться на общих характерных особенностях метаболизма и энергетики ткани сосудов, обходя усложнения, которые внесли бы согласование всех конкретных данных, полученных для различных тканей и видов животных, а также в различных лабораториях. Хотя наиболее обширная литература посвящена исследованиям на воротной вене крысы (Johansson, Hellstrand и соавт.), этот сосуд, обладающий сногатающей активностью, по-видимому, не типичен для тонически активных сосудов, поэтому мы не будем включать соответствующие данные в численные сравнения.

В табл. 38.1 суммированы данные о содержании макроэргических фосфатов в мышцах млекопитающих в состоянии покоя. Характерно, что запас макроэргических фосфатов в гладкой

Таблица 38.1. Содержание макроэргических фосфатов в мышцах млекопитающих в состоянии покоя

	(АТФ)	(ФК)	P
Гладкие мышцы сосудов	0,3—1	0,3—1	0,5—2
Гладкие мышцы других тканей	1—2	1—3	2—5
Скелетные мышцы	≈5	10—15	15—25

Величины выражены в мкмоль/г сырой ткани. Диапазон рассчитан на основании таблиц экспериментальных данных, приведенных в [1—7 и 22—25].

мышце наименьший; в некоторых случаях он составляет менее $\frac{1}{10}$ содержащегося в скелетных мышцах.

Этот факт объясняет наличие двух способов обеспечения сократительного аппарата энергией, описанных выше. При комнатной температуре и при величине изометрического напряжения, равной максимуму для мышц каждого типа, скелетные мышцы

млекопитающих израсходуют всю запасенную в них в виде макроэргических фосфатов энергию приблизительно за 2—3 с, в то время как в гладкой мышце существенного истощения запасов не наступает в течение 2—3 мин. Daemers-Lamert и Roland [12] не обнаружили никаких изменений содержания АТФ + ФК в ткани изолированных сонных артерий быка в условиях оксигенации даже после 30 мин максимальной активации гладких мышц хлоридом калия, в то время как в аналогичных экспериментах на тех же артериях через 30 мин ингибирования энергетического метаболизма йодацетатом на фоне сокращения обнаружено полное истощение запасов макроэргических фосфатов. Krisanda и Paul [13] удалось показать отсутствие изменения содержания АТФ и ФК в ткани сонных артерий свиньи при хорошей оксигенации в течение первых 30 с после активации сокращения в изометрическом режиме. Таким образом, ясно, что в гладкой мышце сосудов способность клеток к аэробному ресинтезу АТФ оказывается достаточной для быстрого восстановления нормальной концентрации АТФ, расходуемого в АТФазных реакциях для обеспечения активации, развития и поддержания сократительной активности.

ДЫХАНИЕ

Как обсуждалось выше, метаболическая способность гладкой мышцы сосудов оказывается недостаточной для ресинтеза АТФ по крайней мере с такой же скоростью, с которой АТФ расходуется сократительной системой. Биохимические пути синтеза АТФ в гладкой мышце, по-видимому, не отличаются от таковых в скелетной. Измерения дыхательного коэффициента [14, 15] показали, что основным субстратом энергетического метаболизма являются углеводы, хотя могут использоваться и многие другие субстраты [16]. В ГМС были обнаружены все необходимые ферменты гликолиза, цикла трикарбоновых кислот (Кребса) и дыхательной цепи переноса электрона [17—19]. Митохондрии, выделенные из ГМС, практически не отличаются от митохондрий других тканей млекопитающих по величине отношения $\sim P/O$, коэффициенту дыхательного контроля или использованию субстратов [20, 21].

Величины скорости дыхания в покое в гладких и скелетных мышцах млекопитающих приблизительно одинаковы. В красных (медленных) и белых (быстрых) скелетных мышцах базальной скоростью дыхания составляет $150\text{—}300$ (нмоль O_2)/(мин·г ткани) [22—25], в то время как в гладких мышцах этот диапазон равен $50\text{—}200$ (нмоль O_2)/(мин·г ткани) [1—7]. Это означает, что базальной активации АТФазы актомиозина и сопутствующего сокращения базальные затраты энергии на поддержание жизненно важных процессов во всех типах мышц млекопитающих близки по величине. Однако при активации сокращения возникают существенные различия. Например, при тетанусе скелетной мышцы млекопитающих установившаяся скорость потребления O_2 возрастает обычно в $25\text{—}50$ раз [22, 25], как и скорость потребления O_2 в ходе восстановления энергетических запасов мышцы после

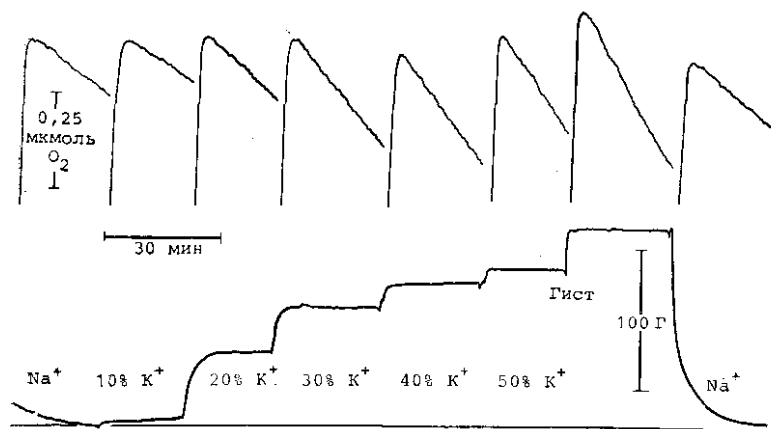


Рис. 38.1. Влияние замены ионов Na^+ ионами K^+ в перфузионном растворе на концентрацию O_2 , измеренную с помощью O_2 -электрода в герметичной камере, в которую помещен сегмент сонной артерии кабана (вверху), и на механическое напряжение (в изометрическом режиме), развиваемое сегментом в тех же условиях (внизу). Быстрое увеличение концентрации O_2 (вертикальные линии) соответствует замене перфузионного раствора с целью изменения его ионного состава и восстановления концентрации O_2 приблизительно до исходного уровня. Наклон нисходящей части каждой записи концентрации O_2 пропорционален скорости потребления O_2 сегментом артерии, находящейся в камере [29], при уровне механической активности, представленном на нижней кривой. « Na^+ » обозначает нормальный физиологический раствор (Кребса—Хенселяйта). «Гист» указывает на добавление гистамина в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ к сегменту, деполяризованному ионами K^+ .

тетануса умеренной продолжительности (< 15 с) [22]. При сокращении гладкой мышцы сосудов в изометрическом режиме скорость потребления O_2 увеличивается не более чем в 2 раза [1—7]. Такая значительно более низкая максимальная скорость потребления O_2 хорошо согласуется с вышеупомянутыми различиями между мышцами этих двух типов в активности АТФазы актомиомина, количестве запасенных макроэргических фосфатов и общей стратегии образования энергетических запасов.

При исследовании изолированной гладкой мышцы сосудов в различных условиях было неоднократно показано, что увеличение скорости анаэробного метаболизма очень тесно коррелирует с уровнем силы, поддерживаемой в изометрическом режиме [26—33]. Данные, полученные на полосках сонной артерии кабана, стимулируемых путем градуального повышения отношения содержания K^+ к Na^+ в перфузионном растворе с сохранением его изотоничности для развития различных уровней силы, поддерживаемой в изометрическом режиме [31], показаны на рис. 38.1. В верхней части рисунка приведены непрерывные записи напряжения кислорода в среде, зарегистрированные полярографическим методом с помощью кислородного электрода. Наклоны кривых изменения концентрации кислорода пропорциональны скорости потребления O_2 сегментом артерии. На рисунке

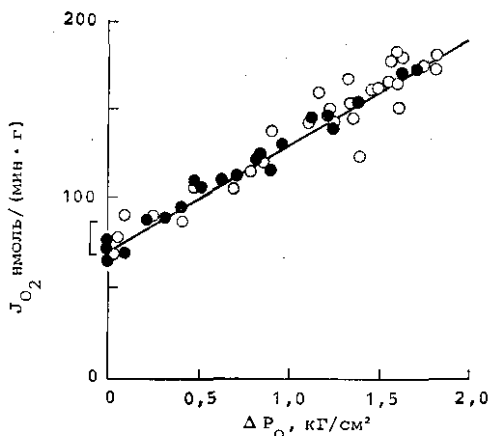


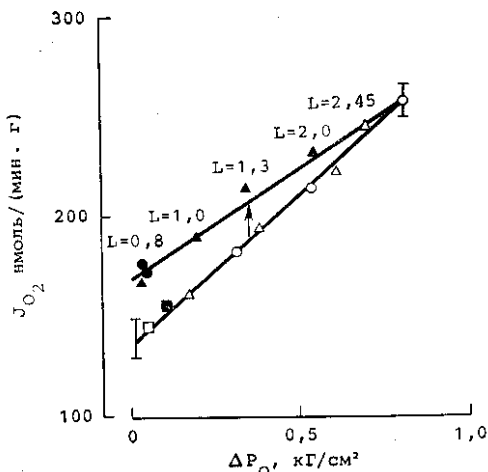
Рис. 38.2. График изменения скорости потребления O_2 (J_{O_2}) в зависимости от величины механического напряжения в изометрическом режиме (ΔP_{O_2}) для 5 препаратов стенки сонной артерии кабана. Механическое напряжение изменяли, заменяя ионы Na^+ ионами K^+ в перфузионном растворе, как описано в подписи к рис. 38.1 (светлые кружки). В 5 других препаратах артерии максимальной активацию поддерживали раствором, в котором 50% ионов Na^+ было заменено ионами K^+ , а содержание Ca^{2+} варьировало от 0,1 до 1 мМ (после полного вымывания Ca^{2+} из препарата бескальциевым раствором, содержащим

0,5 мМ ЭГТА). Скорость потребления O_2 в этом случае также нанесена на график (темные кружки) в зависимости от механического напряжения, развиваемого в изометрическом режиме. Линейная регрессия для этих двух наборов точек дала один и тот же результат. Квадратная скобка слева от оси ординат обозначает среднюю величину (\pm стандартное отклонение) скорости потребления O_2 в покое, измеренной в 10 препаратах стенки артерии. Поскольку линия регрессии изменения J_{O_2} в зависимости от ΔP_{O_2} проходит вблизи от J_{O_2} в покое, можно предположить, что при изометрическом сокращении базальный уровень J_{O_2} изменяется незначительно.

ясно видно, что установившаяся скорость потребления O_2 возрастает с увеличением изометрического напряжения, а после прекращения сократительной активности возвращается к исходному уровню. Результаты пяти одинаковых экспериментов на различных сегментах артерий приведены на графике рис. 38.2 (светлые кружки), представляющем хорошую линейную корреляцию между превышением скорости потребления O_2 над базальной величиной и уровнем силы, поддерживаемой в изометрическом режиме.

В большинстве случаев не обнаружено существенных изменений количественных параметров линейной взаимосвязи между величиной силы, поддерживаемой в изометрическом режиме, и повышением скорости потребления O_2 в течение длительного периода времени (до 12 ч *in vitro*); эти параметры также мало зависели от способа стимуляции ткани сосуда, будь то изменение ионного состава среды, фармакологическое воздействие или прямая электрическая стимуляция [1—7, 26—33]. Данные, иллюстрирующие такую относительную инвариантность, показаны на рис. 38.2. Дополнительные данные были получены в экспериментах на коронарных артериях кабана, силу сокращения которых в изометрическом режиме варьировали путем изменения внеклеточной концентрации Ca^{2+} на фоне постоянно повышенного отношения содержания K^+ к Na^+ в среде [31]. В диапазоне [Ca^{2+}] от 0,1 до 1 мМ сократительные ответы градуально возрастали ана-

Рис. 38.3. Скорость потребления O_2 (J_{O_2}) в зависимости от величины активной силы (ΔP_0), измеренной в изометрическом режиме. Данные получены на одном препарате стенки брыжеечной вены быка. Вертикальный отрезок обозначает среднюю величину (\pm стандартное отклонение) базального J_{O_2} , периодически измеряемого в ходе эксперимента. При длине сегмента $L=2,45$ см мышцу постепенно активировали путем повышения концентрации адреналина (светлые кружки), затем позволяли расслабиться в нормальном физиологическом растворе. В одном случае в раствор добавляли блокатор α_2 -адренергических рецепторов дигидроэрготамин (светлый квадрат), а затем создавали сверхмаксимальную концентрацию адреналина (темный квадрат). При этом влияние адреналина на сократительную активность оказалось угнетено на 90% одновременно с угнетением метаболического эффекта, т. е. β -адренергическое действие адреналина на метаболизм (являющееся «артефактом стимуляции») было пренебрежимо мало. Затем сегмент стенки вены постепенно активировали путем повышения концентрации гистамина (светлые треугольники). И в этом случае линейная корреляция между J_{O_2} и ΔP_0 оказалась той же, что при добавлении адреналина. После этого изучили влияние длины сегмента на скорость потребления O_2 в присутствии сверхмаксимальной концентрации гистамина (темные треугольники). Мыщцу укорачивали в четыре этапа, пока не была достигнута длина $L=0,8$ см, при которой активное механическое напряжение в изометрическом режиме практически равно нулю. При такой «длине с нулевым активным напряжением» J_{O_2} оказалась все же несколько меньше, чем базальный уровень J_{O_2} . Эта «энергия активации», не зависящая от развиваемого напряжения» была одной и той же в присутствии и гистамина, и адреналина (темные кружки), что снова свидетельствует о пренебрежимо малом специфическом фармакологическом влиянии этих веществ на аэробный метаболизм. Вертикальной стрелкой между этими двумя линиями обозначено гипотетическое сокращение препарата в изотоническом режиме из состояния приблизительно полуактивации при длине $L=2,45$ см до полной активации при длине $L=1,30$ см в случае постоянной нагрузки $0,36$ кг/см², что обсуждается в тексте.



логично тому, что показано в нижней части рис. 38.1. Установившиеся величины скорости потребления O_2 при таком способе градуальной активации силы в изометрическом режиме для пяти фрагментов артерий показаны на рис. 38.2 (темные кружки). По крайней мере в этом случае ясно, что реакция аэробного метаболизма на повышение силы сокращения в изометрическом режиме практически не зависит от конкретного способа стимуляции механической активности мышцы. Аналогичные сравнительные исследования были проведены на брыжеечной вене быка [27—29], где также выявлена подобная инвариантная зависимость супрабазального аэробного метаболизма от уровня силы

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОЙ ЭНЕРГИИ И СОКРАТИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ

Использование АТФ в гладкой мышце сосудов в состоянии покоя обычно происходит со скоростью 0,5—1,0 мкмоль/(мин·г ткани). Основная часть требуемого АТФ образуется в результате метаболизма углеводов: обычно 70—90% благодаря окислительному фосфорилированию и 10—30% — гликолизу [4]. При развитии максимальной силы сокращения изолированного препарата ГМС в изометрическом режиме при длине, близкой к оптимальной для развития силы, общая скорость использования АТФ увеличивается приблизительно в 2 раза. Разность между начальной скоростью метаболизма в покое и скоростью при максимальной активации метаболизма отражает сумму всех энергозависимых процессов, активируемых одновременно или в результате стимуляции механической активности. Одним из основных допущений при использовании этого метода оценки энергетического метаболизма сокращающейся мышцы, несомненно, является постоянная величина энергетических затрат на поддержание базальной активности во время развития механической активности. Большинство данных, хотя и косвенно, указывает, что это справедливо для фармакологической или ионной активации сокращения [29—32] (см. рис. 38.2 и 38.3).

Повышение скорости использования АТФ при стимуляции механической активности может быть объяснено процессами, относящимися по крайней мере к одной из трех категорий: 1) активность АТФазы актомиозина, направленная на поддержание механической функции; 2) АТФ-зависимые процессы, играющие определенную роль в инициации и поддержании механической активности; 3) активность других АТФаз, активируемых в зависимости от конкретных способов стимуляции мышцы. В последних работах по изучению энергетики гладкой мышцы были предприняты попытки количественно определить, какая часть общего увеличения скорости использования АТФ определяется процессами, входящими в каждую из этих трех категорий. В большинстве случаев третья категория (которая, грубо говоря, эквивалентна артефакту стимуляции) вносит пренебрежимо малый вклад в общее усиление метаболизма гладкой мышцы [29, 30, 32] (см. также рис. 38.3). Вклад процессов первой категории часто приближенно оценивается степенью усиления той части метаболических процессов, которые зависят от величины развиваемой мышцей силы; этот показатель определяют путем измерения супрабазального метаболизма при различной активации актомиозина (т. е. при различной развиваемой мышцей силе). В таких экспериментах уровень стимуляции препарата (являющийся по сути переменным компонентом процессов второй и третьей категорий) поддерживается постоянным. Если на фоне супрамаксимальной стимуляции мышцу укоротить до такой длины, при которой препарат не развивает никакой силы, то активность АТФазы, зависящая от силы, по определению умень-

шается до нуля, и оставшаяся в этом случае величина супрабазального метаболизма рассматривается как доля метаболизма, не зависящая от развития силы. Пример таких измерений, осуществленных на одном и том же сегменте брыжеечной вены быка [36], показан на рис. 38.3, из которого, кроме того, следует отсутствие зависимости результатов измерений такого типа от конкретного вида используемого фармакологического агониста. На фоне супрамаксимальной стимуляции мышцы адреналином (10^{-6} М) при оптимальной для развития силы длине ($L=2,45$ см для данного препарата) скорость потребления O_2 на 110 $\mu\text{моль}/(\text{мин}\cdot\text{г})$ превышает исходную скорость потребления O_2 в покое, равную 140 $\mu\text{моль}/(\text{мин}\cdot\text{г})$. Постепенное ступенчатое укорочение мышцы, начиная от оптимальной длины на фоне супрамаксимальной концентрации гистамина в качестве стимулирующего воздействия, вызывает уменьшение силы, поддерживаемой мышцей в изометрическом режиме (что определяется зависимостью силы сокращения от длины препарата) и приводит к снижению скорости супрабазального потребления O_2 , причем между этими величинами наблюдается линейная связь (верхняя линия). Если позволить мышце укоротиться до $L=0,8$ см, при которой сила, развиваемая в изометрическом режиме, равна нулю, то скорость потребления O_2 все же превышает базальную скорость приблизительно на 25 $\mu\text{моль}/(\text{мин}\cdot\text{г})$. Эта величина характеризует метаболизм, не зависящий от величины силы, и составляет около 20% от всей супрабазальной активности АТФазы при максимальном изометрическом напряжении, причем не зависит от того, используется для стимуляции гистамин или адреналин. При одновременном измерении скорости супрабазального аэробного гликолиза [6, 28] была получена аналогичная величина для независимого от силы компонента аэробного гликолиза в брыжеечной вене быка.

Рис. 38.3 позволяет также продемонстрировать экономичность процессов регуляции просвета сосуда гладкой мышцей. Предположим, что сегмент артерии, который использовался для получения результатов на рис. 38.3, имел *in situ* длину $L=2,45$ см и был частично стимулирован, что позволяло ему поддерживать необходимый диаметр сосуда при давлении крови, эквивалентном напряжению внутри стенки 0,36 $\text{кг}/\text{см}^2$. Если без изменения давления внутри сосуда максимально активировать гладкую мышцу, то длина данного сегмента уменьшится до $L=1,30$ см (на рис. 38.3 показано вертикальной стрелкой). Для кровеносного сосуда в форме цилиндра такое изменение длины эквивалентно уменьшению диаметра сосуда на 45%. Используя закон Пуазейля для расчета изменения сопротивления сосуда потоку крови, получим, что при таком уменьшении диаметра сопротивление потоку возрастет в 12 раз. Однако с точки зрения затрат энергии на поддержание мышечной активности, приводящей к такому регуляторному изменению диаметра сосуда, необходимо увеличение энергетического метаболизма менее чем на 15% по сравнению с базальным метаболизмом. Ясно, что затраты энергии на регуляцию

периферического кровотока оказываются исключительно низкими. Обсуждавшийся выше независимый от силы метаболизм отражает активацию процессов, входящих в состав второй и третьей категорий, а также остаточную активацию гидролиза АТФ актомиозином, которые не вносят никакого вклада в развитие силы. Такая ситуация может возникнуть, например, в том случае, когда внутренние силы, развивающиеся в мышце, направлены в противоположные стороны, в результате чего суммарная внешняя сила будет равна нулю. На реальность такого случая указывают результаты исследования жесткости гладкой мышцы сосудов. Используя представление Huxley и Simmons [37] о том, что жесткость мышцы является прямой мерой количества поперечных мостиков, образованных на данной стадии развития механической активности, можно попытаться сравнить жесткость в покое (обусловленную пассивными структурами ткани) с жесткостью при экстремальной длине, когда мышца не развивает силы, что позволит оценить, до какой степени в последнем случае сохраняется взаимодействие между актином и миозином. Проводя исследования такого типа на нескольких препаратах артерий, Pfitzer и Peterson [38] обнаружили, что в процессе увеличения силы, развиваемой мышцей после начала стимуляции, жесткость стенки артерии увеличивается прямо пропорционально росту силы в изометрическом режиме. Такая же линейная связь была выявлена между жесткостью и установившейся величиной силы при ступенчатом изменении (Ca^{2+}) в среде с высоким содержанием K^+ [39]. Результаты этих экспериментов показывают, что в ГМС сила, развиваемая в изометрическом режиме, и степень взаимодействия актина с миозином действительно прямо коррелируют друг с другом. При максимальной активации сегментов сонной артерии кабана, которым позволено укоротиться до длины, при которой в изометрическом режиме они не развивают никакой силы, величина жесткости превышала чисто пассивную жесткость на 10—15%, и для проявления такого эффекта необходимо присутствие Ca^{2+} в среде (Peterson, неопубликованные данные). Это свидетельствует о том, что по крайней мере некоторая часть независимой от напряжения активности АТФазы определяется АТФазой актомиозина.

В табл. 38.2 представлены результаты измерения супрабазального энергетического метаболизма и оценки активности АТФазы актомиозина, определяемой как величина, не зависящая от силы. Оценка активности АТФазы сократительного аппарата интактной мышцы, определяемой таким способом, и аналогичная величина для очищенного препарата актомиозина ГМС хорошо согласуются друг с другом [4, 5, 40, 42]. На основании этих исследований можно сделать два принципиальных вывода: а) несмотря на то что способность ГМС развивать силу сравнима с таковой в скелетных мышцах и миокарде, активность АТФазы актомиозина гладких мышц сосудов чрезвычайно низка; б) затраты энергии на процессы, необходимые для поддержания активации сократительной активности, весьма значительны, составляя 15—30% от

Таблица 38.2. Супрабазальный энергетический метаболизм в ГМС, сокращающихся в изометрическом режиме

Препарат	(1) Общий супрабазальный метаболизм (мкмоль АТФ)/(мин · г) кГ/см ²	(2) Зависящий от силы метаболизм (мкмоль АТФ)/(мин · г) кГ/см ²	(3) Не зависящий от силы метаболизм (мкмоль АТФ)/(моль · г)	Стимулятор	Ссылка
Брыжеечная вена быка	1,64	1,28	0,20	Адр. НАдр. Гист	[27—29]
Сонная артерия кабана	0,68 0,81 0,40 0,51	0,43 0,46	0,27 0,23	Гист K ⁺ K ⁺ K ⁺ + Гист	[30] [30] [34] [32]
Брыжеечная артерия быка	1,22	1,12	0,11	Адр. K ⁺	[54]
Аорта крысы	0,66			K ⁺	[33]
Сонная артерия быка	1,97 0,88			Электр.	[12]

энергии, требуемой актомиозину для развития максимальной силы сокращения.

В столбце (1) уровень супрабазального метаболизма отнесен к наблюдаемой величине напряжения в изометрическом режиме при указанном способе стимуляции. В столбце (2) указана та часть общего супрабазального метаболизма, которая исчезает при устранении силы путем укорочения препарата (на фоне постоянной стимуляции), также отнесенная к величине силы, развиваемой мышцей в изометрическом режиме перед расслаблением. Эта часть метаболизма нередко используется в качестве меры активности АТФазы актомиозина, в которой величина силы отражает количество активированного актомиозина. В столбце (3) указана часть супрабазального метаболизма, необходимая для поддержания активации на установившемся уровне. Адр — адреналин, НАдр — норадреналин, Гист — гистамин.

Столь необычная экономичность поддержания силы гладкой мышцей сосудов и детали механизмов активации, о которых упоминалось выше, интенсивно исследуются при изучении физиологии ГМС. Вопрос об энергетике активации будет дополнительно рассмотрен в следующем разделе. Очень низкая «стоимость силы» (или наоборот, высокая «экономичность поддержания силы») в гладкой мышце сосудов, по-видимому, в основном связана с молекулярными свойствами актомиозина, хотя определенную роль могут играть особенности структуры сократительного аппарата и геометрические факторы [5, 40—43]. Barany [44] первым описал корреляцию между активностью АТФазы миозина различных типов и скоростью сокращения мышцы, из которой получен этот миозин. Daemers-Lambert [11] на сонной артерии быка показал, что обработка мышцы DFNB (динитрофторбензол) приводит к существенному уменьшению скорости развития силы в изометрическом режиме, что сопровождается 4-кратным сниже-

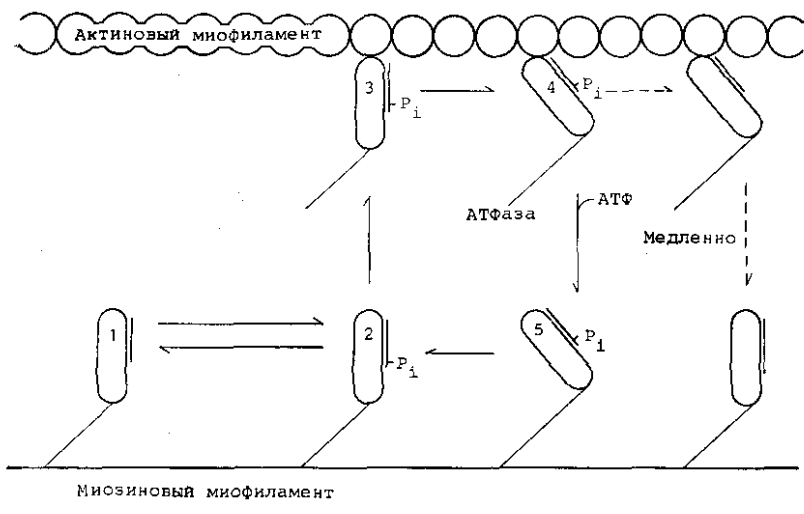


Рис. 38.4. На схеме показана модель взаимодействия поперечных мостиков миозина с актиновыми миофиламентами. Переход из состояния 1 в состояние 2 представляет собой механизм активации Ca^{2+} — кальмодулин-зависимого фосфорилирования — дефосфорилирования, предложенный для регуляции сократительной активности гладкой мышцы. В цикле взаимодействия за один оборот (состояния 2—5) происходит гидролиз одной молекулы АТФ и генерируется один «квант» силы. Однако образовавшийся поперечный мостик генерирует изометрическую силу только когда он наклонен по отношению к актину (состояние 4). Естественная скорость цикла в гладкой мышце значительно меньше, чем в скелетной, причем наиболее медленной стадией является стадия АТФзависимой диссоциации (состояния 4—5). Пунктирными стрелками показано образование гипотетического дефосфорилированного актомиозинового поперечного мостика [47, 48], который затем очень медленно диссоциирует, чем можно объяснить очень высокую «экономичность» поддержания механического напряжения в гладкой мышце сосудов.

нием активности АТФазы. Гладкая мышца сосудов является, по-видимому, самой медленной (по скорости укорочения) из всех других типов мышц млекопитающих [43], и такая особенность механических свойств, скорее всего, есть прямое отражение скорости гидролиза АТФ поперечными мостиками миозина в ходе повторяющихся циклов их взаимодействия с актиновыми миофиламентами. Путем сравнения содержания актомиозина в различных гладких мышцах сосудов и скорости зависящего от напряжения метаболизма было показано, что один цикл взаимодействия поперечных мостиков миозина ГМС с миофиламентом актина длится 0,75—1,5 с [5, 40—42]. Такая скорость является очень низкой, если сравнить со скоростью взаимодействия поперечных мостиков скелетной мышцы, длительность цикла которых, согласно оценкам, скорее всего составляет 6—10 мс.

Если в ходе такого продолжительного цикла поперечные мостики миозина гладкой мышцы большую часть времени прикреплены к актину в конформации, генерирующей силу, то нетрудно

объяснить высокую экономичность этой ткани в поддержании силы. Схематическое представление такой модели цикла поперечных мостиков показано на рис. 38.4. Установившаяся скорость АТФазной реакции для одного поперечного мостика миозина варьируется величиной, обратной времени, которое необходимо для прохождения системы от состояния 2 через состояния 3, 4, 5 снова к состоянию 2, т. е. полной длительности цикла. Однако сила развивается только в состоянии 4, поэтому среднее напряжение, поддерживаемое большим количеством поперечных мостиков, работающих асинхронно, пропорционально той доле длительности всего цикла, которую мостики находятся в состоянии 4. Martson и Taylor [45] путем сравнения очищенного миозина из мышц позвоночных четырех различных типов (включая гладкую мышцу мускульного желудка) обнаружили, что время, необходимое для того, чтобы поперечный мостик отделился от актина при участии АТФ (состояния 4—5 на рис. 38.4), действительно является самым большим в цикле, хотя оно и не настолько велико, чтобы полностью объяснить очень высокую экономичность гладкой мышцы для поддержания силы по сравнению с мышцами других типов. До сих пор точно неизвестно, какие особенности молекулярных свойств миозина гладких мышц ответственны за такие различия ферментативной активности и кинетики молекул миозина, во всех других отношениях весьма сходных.

НЕКОТОРЫЕ НЕРЕШЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ

Экономичность поддержания силы

Модель цикла поперечных мостиков актомиозина, в которой длительность цикла определяет скорость АТФазной реакции, а время, в течение которого мостик находится в состоянии генерации усилия, определяет величину развиваемой силы, позволяет относительно прямым путем оценить экономичность системы в поддержании силы. Однако в такой очень упрощенной модели любые факторы (биологические, механические и пр.), которые изменяют относительную долю времени, проводимую поперечными мостиками в состоянии, когда создается тянущее усилие, должны влиять на экономичность ткани в поддержании силы (см. рис. 38.4).

Свидетельства в пользу существования такого типа процессов, хотя и не в мышце сосудов, а в миокарде млекопитающих, были обнаружены Herzig и соавт. [46]. Используя химически скринированные клетки миокарда свиный, они показали, что ионы ванадата $H_2VO_4^-$ (естественное для миокарда вещество) в низкой концентрации (20—100 мкМ) ингибируют как развитие силы в изометрическом режиме, так и активность АТФазы актомиозина миокарда, активируемого ионами Ca^{2+} . Однако после подтверждения полной зависимости эффектов от концентрации было обнаружено, что сила, развиваемая в изометрическом режиме, при повышении концентрации ванадата снижается быстрее, чем актив-

ность АТФазы актомиозина, так что в присутствии ванадата линейная связь между силой и активностью АТФазы описывается другими параметрами, и экономичность мышцы оказалась на 26% меньше, чем в случае отсутствия ванадата (при активации Ca^{2+}). Кроме того, на фоне ванадата скорость развития силы, с задержкой, возникающей после быстрого растяжения препарата, увеличивается. Полученные результаты согласуются с гипотезой о том, что основной эффект ванадата в таких экспериментах состоит в непропорциональном уменьшении времени, в течение которого поперечные мостики создают тянущее усилие. Ускорение этой стадии в большей степени, чем всего цикла, приведет к повышению активности АТФазы и одновременно снижению величины развиваемой силы, что и объясняет наблюдаемое уменьшение экономичности.

Dillon и Murph [47] недавно в гладкой мышце сосудов обнаружили явление, которое может аналогичным образом влиять на экономичность поддержания силы. Они изучали зависимость скорости укорочения сегмента сонной артерии кабана без нагрузки от продолжительности периода развития и поддержания силы в изометрическом режиме. Максимальная скорость укорочения мышцы, часто используемая в качестве непосредственной меры скорости цикла отдельных поперечных мостиков, через 15—30 мин после активации механической активности постепенно уменьшается. Driska и соавт. [48] и Aksay и соавт. [49] обнаружили сходную временную зависимость для степени регуляторного фосфорилирования легкой цепи миозина в ходе изометрического развития силы таким же препаратом. Временная зависимость является указанием на возможную роль фосфорилирования миозина в модуляции скорости цикла поперечных мостиков гладкой мышцы (по-видимому, в дополнение к постулированной роли такого фосфорилирования в регуляции самого процесса актомиозинового взаимодействия [50]). Согласно этой модели, фосфорилированные поперечные мостики миозина отделяются от активной значительно быстрее, чем дефосфорилированные. Эта модель схематически изображена на рис. 38.4 пунктирными линиями. Если это так, то можно ожидать, что экономичность поддержания силы фосфорилированным миозином ГМС будет значительно ниже, чем активным, но дефосфорилированным миозином.

Такая модель, по-видимому, способна также объяснить и другой результат, относящийся к экономичности гладкой мышцы сосудов в поддержании силы. Peterson [32] недавно обнаружил на сегменте сонной артерии кабана, что гистамин на фоне стимуляции мышцы средой с высоким содержанием K^+ вызывает увеличение затрат на поддержание силы в изометрических условиях \approx на 25%, даже если сравнивать с тем же уровнем силы, развиваемой мышцей при другом способе активации, без гистамина. Согласно данным Аксоу и соавт. [49], уровень фосфорилирования легкой цепи миозина при использовании K^+ в качестве активатора в течение стабильной фазы изометрического сокращения (<15 мин) составляет лишь 18% от всего миозина. Однако если

в качестве активатора использовать гистамин, то более или менее стабильный уровень фосфорилирования миозина составляет уже 45%. Если предложенная модель верна, то образующиеся при активирующем действии гистамина дополнительные поперечные мостики с большей скоростью цикла могут быть причиной увеличения затрат на поддержание силы в экспериментах, осуществленных Peterson [32].

Аналогичный по своим принципам, но противоположный по конечному эффекту механизм был предложен для фосфорилирования легкой цепи миозина скелетных мышц Kushmerick и Crow [22]. На камбаловидной мышце мыши они наблюдали замедление, а не ускорение цикла поперечных мостиков миозина с увеличением уровня фосфорилирования легкой цепи миозина при изометрическом тетанусе. Возможно, роль фосфорилирования легкой цепи миозина преимущественно состоит в модуляции скорости цикла поперечных мостиков, а конечный эффект фосфорилирования зависит от конкретного типа миозина. Если это действительно общий способ регуляции, то упрощенное представление о том, что жесткость мышцы, активность АТФазы и развиваемая мышцей сила являются просто более или менее эквивалентными мерами количества активированных поперечных мостиков, нельзя считать правильным.

Аэробный гликолиз

Как было описано выше, в ткани гладкой мышцы сосудов наблюдается образование большого количества молочной кислоты даже при хорошей оксигенации препарата *in vitro*. Такая высокая степень неэффективности энергетического механизма с точки зрения использования углеводных субстратов на первый взгляд является чем-то противоестественным, так как мы уже ранее отмечали необычайно высокую эффективность этой ткани в поддержании силы. Первые работы в этой области позволяли предположить, что окислительное фосфорилирование и гликолиз вносят стехиометрически постоянные вклады в энергетический метаболизм ГМС, независимо от состояния механической активности мышцы или метода, используемого для ее изменения [26, 28].

Однако Gluck и Paul [30] на сонной артерии кабана показали, что, хотя активация мышцы гистамином и вызывает зависящее от развиваемой силы увеличение скорости образования молочной кислоты, замена в среде всего Na^+ на K^+ приводит к выраженному угнетению гликолиза, даже если развитие силы близко к оптимальному. Такое исчезновение связи между синтезом АТФ на счет образования молочной кислоты и повышением активности АТФазы актомиозина при сокращении позволило сделать вывод, что наблюдаемое при развитии силы ускорение образования молочной кислоты более тесно связано с процессами активации сокращения, чем с самим развитием силы. Даже при отсутствии изменений уровня АТФ, т. е. когда энергетические запасы, используемые для развития силы, не истощены, согласно данным Gremer-Lacasa и соавт. [51], 2-дезоксиглюкоза, ингибирующая

метаболизм глюкозы, подавляет спонтанную активность воротной вены крысы. В исследованиях на сонной артерии кабана Peterson и Glück [31] показали, что замена относительно небольшого количества Na^+ на K^+ (до 10%) в среде, нормальной во всех других отношениях, по-видимому, активизирует аэробный гликолиз. Однако при замене на K^+ большего количества Na^+ (до 50%) аэробный гликолиз не стимулируется, но и не угнетается.

Paul и соавт. [51] в опытах с сонной артерией кабана обнаружили, что добавление в среду K^+ без компенсации осмотичности (т. е. при неизменном содержании Na^+) стимулирует аэробный гликолиз, в то время как оубаин и бескальцевая или безнатриевая среда угнетают аэробный гликолиз. Поэтому было выдвинуто предположение, что система Na^+/K^+ -насоса гладкой мышцы сосудов специфически снабжается энергией, получаемой в ходе аэробного гликолиза.

В сонной артерии кабана Peterson наблюдал аналогичное исчезновение связи между образованием молочной кислоты и затратами энергии на поддержание силы в изометрическом режиме при активации сокращения с помощью K^+ . При постоянном уровне активации, вызванной деполяризацией препарата ионами калия (50% Na^+ заменено на K^+), и при изменении силы, развиваемой в изометрическом режиме, путем увеличения концентрации Ca^{2+} в среде, не было обнаружено никаких существенных изменений аэробного гликолиза, который просто оставался близким к уровню в покое [31]. Однако если к такому деполяризованному калием препарату добавить гистамин, то скорость аэробного гликолиза резко увеличивается [32], приблизительно до того же уровня, который наблюдается при использовании для активации одного гистамина [30]. Если постепенно уменьшать концентрацию Ca^{2+} в среде, то в ткани артерии, супраксимально активированной гистамином и калием одновременно, уровень аэробного гликолиза линейно коррелирует с установившимся уровнем силы, активируемой ионами Ca^{2+} в изометрическом режиме. На основе этих данных выдвинуто предположение, что работа Ca^{2+} -насосов, как внутриклеточных, так и расположенных в клеточной мембране, которые ответственны за гомеостаз внутриклеточного Ca^{2+} , осуществляется за счет энергии, полученной в ходе аэробного гликолиза. Частично такое предположение обусловлено тем, что одним из хорошо известных проявлений активации H_2 -рецепторов гистамином является вазодилатация, т. е. гистамин способен активировать поглощение Ca^{2+} внутриклеточными структурами или его выведение из клетки (см. Peterson [32]). Результаты исследования Kroeger [53] на гладкой мышце матки показывают, что при увеличении поступления Ca^{2+} наблюдается стимуляция аэробного гликолиза.

Эти два предположения вовсе не являются взаимоисключающими, так как считается, что Ca^{2+} -насос гладкой мышцы работает исключительно благодаря механизму $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обмена, энергия которого поступает за счет градиента Na^+ , создаваемого Na^+/K^+ -насосом с использованием энергии АТФ [53].

ЭНЕРГЕТИКА АКТИВАЦИИ

В разделе, посвященном использованию химической энергии при механической активности, я описал «независимый от уровня силы» метаболизм как одну из составных частей общего супрабазального энергетического метаболизма, регистрируемого при поддержании на постоянном уровне силы, развиваемой гладкой мышцей сосудов в изометрическом режиме. Этот путь использования энергии функционирует длительное время в течение всего периода механической активности и, по-видимому, более тесно связан с поддержанием активированного состояния, чем с активностью АТФазы актомиозина, ответственной за развитие силы. Наиболее часто эти затраты энергии приписывают таким процессам, как АТФ-зависимый транспорт Ca^{2+} , энергозависимое перемещение ионов других видов, циклы фосфорилирования-дефосфорилирования белков и др. [4]. В этом разделе будет рассмотрен другой вид затрат энергии на активацию.

В последние годы на гладкой мышце сосудов [12, 13, 54], гладких мышцах других типов [55], быстрых скелетных мышцах млекопитающих [22, 56] и скелетных мышцах земноводных [54] с помощью различных методов было неоднократно показано, что инициация и развитие силы требуют значительно больших затрат энергии, чем поддержание силы в изометрическом режиме на постоянном уровне (даже с учетом вышеупомянутой «постоянной энергии активации»).

Daemers-Lambert и Roland [12] наблюдали в ткани сонной артерии быка при блокировании гликолиза йодацетатом, что в течение первых 20 с после начала развития силы скорость использования АТФ + ФК в 5 раз выше, чем в течение последующих нескольких минут, когда сила поддерживается на постоянном уровне. Используя уровень анаэробного метаболизма в качестве индикатора общего энергетического метаболизма, Lundholm и Mohme-Lundholm [54] обнаружили, что в течение первых 15 мин развития силы гладкой мышцей брыжеечной артерии быка в изометрическом режиме скорость образования молочной кислоты превышает установившуюся скорость при постоянном уровне силы в 2—12 раз в зависимости от вида используемого стимула (адреналин или повышение K^+ соответственно). Согласно данным Krisanda и Paul [13], в первые 1—4 мин после стимуляции K^+ сокращения в изометрическом режиме сонной артерии кабана скорость использования метаболической энергии, оцениваемая по скорости супрабазального потребления O_2 , приблизительно в 2 раза выше таковой в установившихся условиях поддержания силы.

В лентах толстой кишки кролика гладкие мышцы сокращаются несколько быстрее, чем в большинстве сосудов (обычно в 2—4 раза при одной и той же температуре), если судить по скорости укорочения, времени до максимума силы и активности АТФазы. На таком объекте Seigman и соавт. [55] прямым методом определили, что скорость использования макроэргических фосфатов в течение первых 25 с после начала изометрического

развития силы приблизительно в 4 раза больше, чем в установившихся условиях. При сравнении скорости использования энергии во время развития силы в изометрических условиях в ленте толстой кишки кролика и скелетной мышце лягушки Butler и Davis [3] обнаружили, что вид зависимости суммарного использования энергии от времени в мышцах этих двух типов практически идентичен, если учесть 45-кратную разницу в скорости (при разных температурах). Такое сходство между мышцами двух типов различающихся в отношении масштаба времени и экономичности позволяет предположить, что наблюдаемый дополнительный расход энергии при развитии силы в изометрическом режиме является естественным свойством актомиозиновой системы. Если учесть разницу масштабов времени и активности АТФазы в 50—100 раз, то оказывается, что для достижения сходных максимальных уровней силы и в гладкой, и в скелетной мышце дополнительно расходуется макроэргических фосфатов в количестве 0,35 мкмоль на 1 г ткани.

Было показано, что такой дополнительный расход энергии связан с определенной работой, совершаемой актомиозиновой системой против внутренних упругих элементов при развитии силы в изометрическом режиме, т. е. с величиной, которая может быть одной и той же для мышц всех типов. И в ленте толстой кишки кролика [55], и в сонной артерии кабана [13] был определен расход энергии во время повторного развития силы в изометрическом режиме после быстрого укорочения, вызывающего полное исчезновение силы. В обоих случаях для повторного развития силы не требовалось дополнительного использования энергии по сравнению с тем, которое наблюдалось при поддержании силы на постоянном уровне. Это означает, что только активация развития силы из состояния покоя требует дополнительного количества макроэргических фосфатов.

Более того, механизм, определяющий приблизительное равенство величин дополнительного расхода энергии во время первоначального развития силы в лентах толстой кишки кролика и портняжной мышце лягушки, по-видимому, нельзя прямо перенести на гладкую мышцу сосудов. Например, дополнительный расход энергии тканью сонной артерии кабана в таких условиях составляет примерно 2 мкмоль Р на 1 г, в то время как в ткани брыжеечной артерии быка он варьирует от 2 до 4 мкмоль Р на 1 г (расчет на основе данных Krisanda и Paul [13] и Lundholm и соавт. [54] соответственно). Этот дополнительный расход энергии в гладких мышцах сосудов, несмотря на близость рассчитанных величин, приблизительно в 5 раз выше, чем в лентах толстой кишки. Однако высокий уровень «энергии первоначальной активации» в гладкой мышце сосудов может быть обусловлен влияющей зависимостью скорости укорочения ГМС от степени регуляторного фосфорилирования легкой цепи миозина.

Согласно данным Dillon и Murphy [47], в гладкой мышце сонной артерии кабана скорость укорочения (при освобождении концов препарата) в начале развития силы в изометрическом

режиме обычно на 50—100% больше, чем скорость укорочения, измеренная после стабилизации уровня силы. Peterson [36] обнаружил аналогичное расхождение скоростей, измеренных в разные моменты времени на препарате брыжеечной вены быка. Максимальная скорость укорочения в случае сокращения с поспазгрузкой (т. е. когда сила, развиваемая мышцей в изометрическом режиме, становится равной некоторой приложенной извне нагрузке — обычно для этого в среднем требуется <30 с) была в 8 раз больше таковой, измеренной после достижения некоторого стабильного уровня силы в изометрическом режиме (т. е. через 10 мин). Изменение скорости укорочения во времени для таких препаратов соответствовало изменению во времени дополнительного расхода энергии, описанного выше. Оба явления могут быть следствием очень высокого уровня регуляторного фосфорилирования легкой цепи миозина, который наблюдается в течение первых 1—2 мин после активации [48, 49].

В настоящее время нельзя с уверенностью утверждать, что эта энергия первоначальной активации отражает затраты только на процессы активации (таким, как дополнительное энергозависимое перемещение Ca^{2+}), более выраженные в ранней стадии развития сокращения мышцы, чем после стабилизации силы на постоянном уровне, или же на изменение кинетики взаимодействия поперечных мостиков миозина с актином; определенный вклад могут вносить и оба процесса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Hellstrand P., Paul R. J.* Vascular smooth muscle: relations between energy metabolism and mechanics. — In: *Vascular smooth muscle*/Ed. M. F. Crass III, C. D. Barnes. New York: Academic, 1982, p. 1—35.
2. *Paul R. J.* Smooth muscle: mechanochemical energy conversion relations between metabolism and contractility. — In: *Physiology of the gastrointestinal tract*/Ed. L. R. Johnson. New York: Raven, 1981, p. 269—288.
3. *Butler T. M., Davies R. E.* High-energy phosphates in smooth muscle. — In: *Handbook of physiology. Sect 2: The cardiovascular system. Vol. 2: Vascular smooth muscle*/Ed. D. F. Bohr, A. P. Somlyo, H. V. Sparks, S. R. Geiger. Bethesda M.D.: American Physiological Society, 1980, p. 237—252.
4. *Paul E. J.* Chemical energetics of vascular smooth muscle. — In: *Handbook of physiology. Sect. 2: The cardiovascular system. Vol. 2: Vascular smooth muscle*/Ed. D. F. Bohr, A. P. Somlyo, H. V. Sparks, S. R. Geiger. Bethesda M.D.: American Physiological Society, 1980, p. 201—235.
5. *Paul R. J., Ruegg J. C.* Biochemistry of vascular smooth muscle: energy metabolism and proteins of the contractile apparatus. — In: *Microcirculation. Vol. 2*/Ed. G. Kaley, B. M. Altura. Baltimore: University Park Press, 1978, p. 41—82.
6. *Paul R. J., Peterson J. W.* Smooth muscle energetics. — In: *Excitation-contraction coupling in smooth muscle*/Ed. R. Casteels, T. Godfraind, J. C. Ruegg. Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical, 1977, p. 455—462.
7. *Paul R. J., Peterson J. W.* The mechaniochemistry of smooth muscle. — In: *The biochemistry of smooth muscle*/Ed. N. L. Stephens. Baltimore: University Park Press, 1977, p. 15—39.
8. *Daemers-Lambert C.* Mechanochemical coupling in smooth muscle. — In: *The biochemistry of smooth muscle*/Ed. N. L. Stephens. Baltimore: University Park Press, 1977, p. 51—82.

9. *Kushmerick M. J.* Chemical energy balance in amphibian and mammalian skeletal muscles: introduction. — *Fed. Proc.*, 1982, vol. 41, p. 147—148.
10. *Daemers-Lambert C.* Action du chlorure de potassium sur le métabolisme des esters phosphores et le tonus du muscle artériel (carotide de bovide). — *Angiologica*, 1964, vol. 1, p. 249—274.
11. *Daemers-Lambert C.* Action du fluoronitrobenzene sur le métabolisme phosphore du muscle lisse artériel pendant la stimulation électrique (carotide de bovide). — *Angiologica*, 1969, vol. 6, p. 1—12.
12. *Daemers-Lambert C., Roland J.* Métabolisme des esters phosphores pendant le développement et le maintien de la tension phasique du muscle lisse artériel (carotides de bovide). — *Angiologica*, 1967, vol. 4, p. 69—87.
13. *Krisanda J. M., Paul R. J.* Transient in phosphagen utilization during isometric contraction of vascular smooth muscle. — *Biophys. J.*, 1982, vol. 37, p. 186a.
14. *Kosan R. L., Burton A. C.* Oxygen consumption of arterial smooth muscle as a function of active tone and passive stretch. — *Circulat. Res.*, 1966, vol. 18, p. 79—88.
15. *Kirk J. E., Effersoe P. G., Chiang S. P.* The rate of respiration and glycolysis by human and dog aortic tissue. — *J. Gerontol.*, 1954, vol. 9, p. 10—35.
16. *Chace K. V., Odessey R.* The utilization by rabbit aorta of carbohydrates, fatty acids, ketone bodies, and amino acids as substrates for energy production. — *Circulat. Res.*, 1981, vol. 48, p. 850—858.
17. *Zemplenyi T.* Enzymes of the arterial wall. — *J. Atheroscler. Res.*, 1962, vol. 2, p. 2—24.
18. *Zemplenyi T., Lojda Z., Mrhova O.* Enzymes of the vascular wall in experimental atherosclerosis in the rabbit. — In: *Atherosclerosis and its origin*/Ed. M. Sandler, G. H. Bourne, New York: Academic, 1963, p. 459—513.
19. *Kirk J. E.* Intermediary metabolism of human arterial tissue and its changes with age and atherosclerosis. — In: *Atherosclerosis and its origin*/Ed. M. Sandler, G. H. Bourne, New York: Academic, 1963, p. 67—117.
20. *Valtieres J., Scarpa A., Somlyo A. P.* Subcellular fractions of smooth muscle. I. Isolation, substrate utilization and Ca^{++} transport by main pulmonary artery and mesenteric vein mitochondria. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1975, vol. 170, p. 659—669.
21. *Wrogemann K., Stephens N. L.* Oxidative phosphorylation in smooth muscle. — In: *The biochemistry of smooth muscle*/Ed. N. L. Stephens, Baltimore: University Park Press, 1977, p. 44—50.
22. *Kushmerick M. J., Crow M.* Chemical energy balance in amphibian and mammalian skeletal muscles. — *Fed. Proc.*, 1982, vol. 41, p. 163—168.
23. *Chapman J. B., Gibbs C. L., Loiselle D. S.* Myothermic, polarographic, and fluorometric data from mammalian muscles. *Fed. Proc.*, 1982, vol. 41, p. 176—184.
24. *Ceretelli P., Di Prampero P. E., Piiper J.* Energy balance of anaerobic work in the dog gastrocnemius muscle. — *Amer. J. Physiol.*, 1969, vol. 217, p. 581—585.
25. *Stainsby W. N., Barclay J. K.* Relation of load, rest length, work and shortening to oxygen uptake by in situ dog semitendinosus. — *Amer. J. Physiol.*, 1971, vol. 221, p. 1238—1242.
26. *Hellstrand P.* Oxygen consumption and lactate production of the rat portal vein in relation to its contractile activity. — *Acta. Physiol. Scand.* 1977, vol. 100, p. 91—106.
27. *Paul R. J., Peterson J. W., Caplan S. R.* Oxygen consumption rate in vascular smooth muscle: relation to isometric tension. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1973, vol. 305, p. 474—480.
28. *Peterson J. W., Paul R. J.* Aerobic glycolysis in vascular smooth muscle: relation to isometric tension. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1974, vol. 351, p. 167—176.
29. *Paul R. J., Peterson J. W., Caplan S. R.* A nonequilibrium thermodynamic description of vascular smooth muscle mechanochemistry. I. The rate of oxygen consumption: a measure of the driving chemical reaction. — *J. Mechanochem. Cell. Motil.*, 1974, vol. 3, p. 19—32.

30. *Gluck E., Paul R. J.* The aerobic glycolysis of porcine carotid artery and its relation to isometric force. — *Pflügers Arch.*, 1977, vol. 370, p. 9—18.
31. *Peterson J. W., Gluck E.* Energy cost of membrane depolarization in hog carotid artery. — *Circulat. Res.*, 1982, vol. 50, p. 839—847.
32. *Peterson J. W.* Effect of histamine on the energy metabolism of K⁺-depolarized hog carotid artery. — *Circulat. Res.*, 1982, vol. 50, p. 848—855.
33. *Arner A., Hellstrand P.* Energy turnover and mechanical properties of resting and contracting aortas and portal veins from normotensive and spontaneously hypertensive rats. — *Circulat. Res.*, 1981, vol. 48, p. 539—548.
34. *Lundholm L., Andersson R. G. G., Arnqvist H. J., Mohme-Lundholm E.* Glycolysis and glycogenolysis in smooth muscle. — In: *The biochemistry of smooth muscle*/Ed. N. L. Stephens. Baltimore: University Park Press, p. 159—207.
35. *Kroeger E. A.* Regulation of metabolism by cyclic adenosine 3':5'-monophosphate and ion-pumping in smooth muscle. — In: *The biochemistry of smooth muscle*/Ed. N. L. Stephens. Baltimore: University Park Press, 1977, p. 315—327.
36. *Peterson J. W.* Rates of metabolism and mechanical activity in vascular smooth muscle. PhD thesis. Harvard University, university microfilm № 7424959, 1974.
37. *Huxley A. P., Simmons R. M.* Proposed mechanism of force generation in striated muscle. — *Nature*, 1971, vol. 233, p. 533—538.
38. *Pfjitzer G., Peterson J. W.* Stiffness of the arterial wall in response to potassium and pharmacological activation. — In: *Adaptability of vascular wall*/Ed. Z. Reinis, J. Pokorny, J. Linhart, R. Hild, A. Schirger. Prague: Avicenum Czechoslovak Medical, 1980, p. 125—127.
39. *Peterson J. W.* Relation of stiffness, energy metabolism, and isometric tension in a vascular smooth muscle. — In: *Mechanisms of vasodilatation*/Ed. P. M. Vanhoutte, I. Leusen. Basel: S. Karger, 1978, p. 79—88.
40. *Paul R. J., Gluck E., Ruegg J. C.* Cross bridge ATP utilization in arterial smooth muscle. — *Pflügers Arch.*, 1976, vol. 361, p. 297—299.
41. *Ruegg J. C.* Smooth muscle tone. — *Physiol. Rev.*, 1971, vol. 51, p. 201—248.
42. *Mrwa U., Paul R. J., Kreye V. A. W., Ruegg J. C.* The contractile mechanism of vascular smooth muscle. — In: *Smooth muscle pharmacology and physiology*. Paris: Inserm, 1976, p. 319—326.
43. *Murphy R. A.* Mechanics of vascular smooth muscle. — In: *Handbook of physiology*, Sect. 2: The cardiovascular system. Vol. 2: Vascular smooth muscle/Ed. D. F. Bohr, A. P. Somlyo, H. V. Sparks, S. R. Geiger. Bethesda M.D.: American Physiological Society, 1980, p. 325—351.
44. *Barany M.* ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening. — *J. Gen. Physiol.*, 1967, vol. 50, p. 197—218.
45. *Martson S. B., Taylor E. W.* Comparison of the myosin and actomyosin ATPase mechanisms of the four types of vertebrate muscles. — *J. Mol. Biol.*, 1980, vol. 139, p. 573—600.
46. *Herzig J. W., Peterson J. W., Ruegg J. C., Solaro R. J.* Vanadate and phosphate ions reduce tension and increase cross-bridge kinetics in chemically skinned heart muscle. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1982, vol. 672, p. 191—196.
47. *Dillon P. F., Murphy R. A.* Tonic force maintenance with reduced shortening velocity in arterial smooth muscle. — *Amer. J. Physiol.*, 1982, vol. 242, p. C102—C108.
48. *Driska S. P., Aksoy M. O., Murphy R. A.* Myosin light chain phosphorylation associated with contraction in arterial smooth muscle. — *Amer. J. Physiol.*, 1981, vol. 240, p. C222—C233.
49. *Aksoy M. O., Murphy R. A., Kamm K. E.* Role of Ca²⁺ and myosin light chain phosphorylation in regulation of smooth muscle. — *Amer. J. Physiol.*, 1982, vol. 242, p. C109—C116.
50. *Hartshorne D. J., Siemankowski R. F.* Regulation of smooth muscle actomyosin. — *Annu. Rev. Physiol.*, 1981, vol. 43, p. 519—530.
51. *Cremer-Lacuara M. G., Lacuara J. L., Fiol de Cuneo M., Ruiz R. D.* Substrate supply and function of isolated venous smooth muscle under ano-

- xia and metabolic inhibition. — *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1980, vol. 58, p. 723—730.
52. *Paul R. J., Bauer M., Pease W.* Vascular smooth muscle: aerobic glycolysis linked to sodium and potassium transport processes. — *Science*, 1979, vol. 206, p. 1414—1416.
 53. *Lang S., Blaustein M. P.* The role of the sodium pump in the control of vascular tone in the rat. — *Circulat. Res.*, 1980, vol. 46, p. 463—470.
 54. *Lundholm L., Mohme-Lundholm E.* Energetics of isometric and isotonic contraction in isolated vascular smooth muscle under anaerobic conditions. — *Acta Physiol. Scand.*, 1965, vol. 64, p. 275—282.
 55. *Seigman M. J., Butler T. M., Mooers S. U., Davies R. E.* Chemical energetics of force development, force maintenance, and relaxation in mammalian smooth muscle. — *J. Gen. Physiol.*, 1980, vol. 76, p. 609—629.
 56. *Awan M. Z., Goldspink G.* Energetics of the development and maintenance of isometric tension by mammalian fast and slow skeletal muscles. — *J. Mechanichem. Cell. Motil.*, 1972, vol. 1, p. 97—108.
 57. *Homsher E., Rall J. A., Wallner A., Ricchiuti N. V.* Energy liberation and chemical change in frog skeletal muscle during single isometric tetanic contractions. — *J. Gen. Physiol.*, 1975, vol. 65, p. 1—22.

Глава 39

РЕГУЛЯЦИЯ КОРОНАРНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Х. В. СПАРКС, Р. Д. УОНГЛЕР, Д. Ф. ДЕВИТТ
(H. V. SPARKS, R. D. WANGLER, D. F. DeWITT)

ВВЕДЕНИЕ

Нормальная функция сердца существенно зависит от адекватности коронарного кровотока. Метаболизм миокарда и коронарный кровоток оказывают взаимное влияние друг на друга, так что при повышении скорости метаболизма в здоровом сердце происходит соответствующее увеличение коронарного кровотока, а любое значительное уменьшение кровотока при патологии сосудов вызывает снижение скорости метаболизма миокарда и мощности сердца как насоса. В этой главе описаны основные факторы, определяющие величину коронарного кровотока: физические факторы, метаболизм миокарда, гуморальное влияние и контроль со стороны нервной системы. Кроме того, обсуждены определенные патофизиологические условия: реакция сосудов на гипертрофию и ишемию миокарда, значение коллатеральных сосудов в сердце.

ФИЗИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Давление крови в аорте является входным давлением для коронарного кровообращения. Сжатие сосудов окружающим миокардом ограничивает кровоток во время систолы (см. ниже), поэтому перфузия миокарда кровью в большей степени определяется диастолическим давлением в аорте, чем систолическим [1—6]. Это означает, что в патологических состояниях, когда диастолическое давление снижено (например, при недостаточности аортального клапана или артериовенозном шунте), может возникнуть недостаточность перфузии миокарда [7, 8].

В простейшем случае коронарный кровоток можно рассчитать, если разность между давлением в аорте и в венечном синусе разделить на величину сосудистого сопротивления потоку крови. Однако экспериментальные данные не подтверждают правильность такого расчета. На рис. 39.1 показаны данные, полученные на бодрствующей собаке, находящейся в состоянии покоя [9]. Кровоток в огибающей коронарной артерии, а также давление в аорте и в той же артерии измеряли во время искусственно удлиненной диастолы. В конце этого диастолического интервала кровоток в огибающей артерии снизился до нуля. В то же время величины

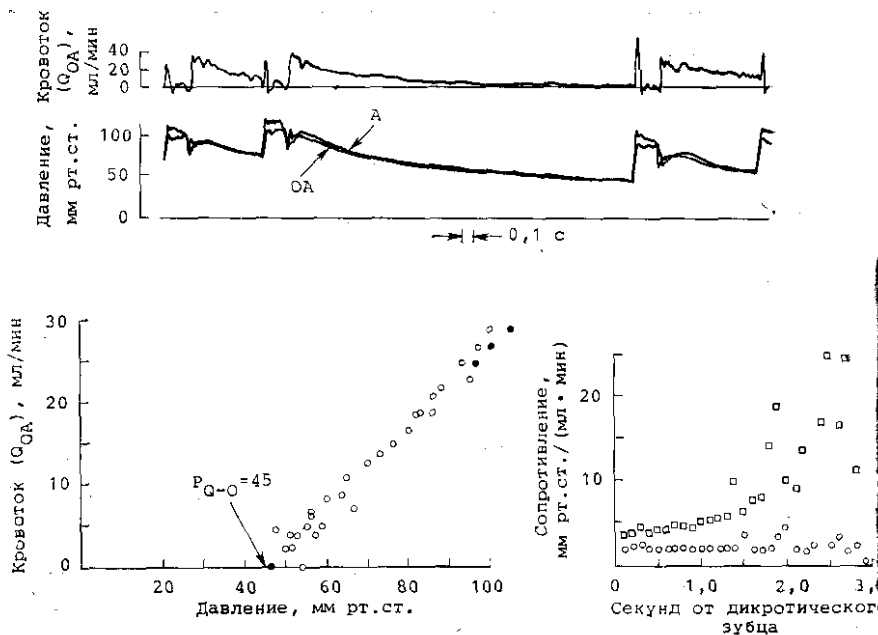


Рис 39.1. Взаимосвязь показателей коронарного кровотока. Вверху — коронарный кровоток в огибающей коронарной артерии при продолжительном диастолическом интервале. Показано также давление крови в огибающей артерии (OA) и аорте (A). Внизу — слева — связь между кровотоком в огибающей коронарной артерии (Q_{OA}) и давлением в огибающей коронарной артерии (P_{OA}) светлые кружки или в аорте (P_A) темные кружки. Внизу справа — изменение сопротивления в ложе огибающей артерии, рассчитанное согласно формулам: P_{OA}/Q_{OA} (квадраты) и $(P_{OA} - 45)/Q_{OA}$ (кружки).

давления в аорте и огибающей артерии были значительно выше нуля. Внизу слева на рисунке на график зависимости кровотока от давления нанесены отдельные экспериментальные точки; видно, что нулевому кровотоку соответствует давление около 45 мм рт. ст. Внизу справа показаны результаты двух способов интерпретации этих данных. В одном случае сопротивление рассчитывали как входное давление P_{OA} , деленное на величину кровотока в огибающей артерии (OA). Обратите внимание, что при уменьшении кровотока до нуля, наблюдаемом через 2,5 с после дикротического зубца, сопротивление становится бесконечно большим. Другая интерпретация основана на нанесении на график входного давления минус давление, при котором кровоток становится равным нулю (45 мм рт. ст.). В этом случае рассчитанное сопротивление остается постоянным в течение всего диастолического интервала. В первом случае при расчете предполагается, что входное давление коронарного кровотока равно давлению в правом предсердии, т. е. нулю, во втором расчет основан на том, что градиент давления для коронарного кровотока определяется

давлением в коронарной артерии минус ненулевое давление, соответствующее давлению в некоторой точке внутри миокарда. Согласно мнению большинства исследователей, эти данные указывают на то, что выходное давление коронарного кровотока значительно выше давления в коронарном синусе или в правом предсердии [1, 9—11]. Точная величина этого давления зависит от экспериментальных условий, и следует подчеркнуть, что значение 45 мм рт. ст., полученное на рис. 39.1, находится вблизи верхней границы диапазона значений, получаемых в эксперименте [12—16].

В настоящее время наличие высокого выходного давления объясняется тем, что внутримиекардиальное давление достаточно высоко, чтобы физически сдавить часть сосудистой сети сердца, поэтому внутрисосудистое давление проксимальнее этого места должно превышать внутримиекардиальное давление, иначе кровь не сможет проходить по сосудам [1, 10, 14, 17, 18]. Это приводит к тому, что градиент давления в потоке крови равен входному (или артериальному) давлению минус давление в ткани. В случае коронарного кровообращения это означает, что поток нечувствителен к давлению в венозном синусе или в правом предсердии, а зависит от давления, определяющего степень сжатия сети микроциркуляции (точка нулевого потока на рис. 39.1). Кривые зависимости потока от давления получены в разнообразных экспериментальных условиях. В общем случае можно утверждать, что вазодилататоры вызывают ожидаемое уменьшение сопротивления и сдвиг влево величины давления, при котором наблюдается нулевой кровоток, т. е. уменьшение выходного давления [9, 12, 19, 20]. Таким образом, увеличение кровотока под действием вазодилататоров является следствием как уменьшения сопротивления сосудов, так и повышения градиента давления. Увеличение преднагрузки повышает давление, при котором кровоток становится равен нулю [15], т. е. при этом кровоток уменьшается вследствие повышения выходного давления, из-за чего снижается градиент давления в потоке. Наиболее крайний случай повышения внутримиекардиального давления наблюдается во время систолы [12, 16, 17, 19—21]; силы, сжимающие сосуды субэпикарда, в этом случае столь велики, что градиент давления становится очень малым и кровоток практически прекращается. Однако в субэпикарде кровоток не прекращается совсем, так как здесь сдавливающие силы меньше по величине [22—24]. Сниженный во время систолы коронарный кровоток усиливается при любом дополнительном повышении внутрижелудочкового давления, например при увеличении преднагрузки [15]. Тот же эффект наблюдается при увеличении сократимости миокарда [25—30]. Увеличение частоты сердечного ритма также ограничивает коронарный кровоток, так как повышается доля времени, проводимая миокардом в фазе систолы, и уменьшается время диастолического кровотока [27, 31—33]. Другим фактором, который может вносить определенный вклад в ограничение коронарного кровотока во время систолы, является изменение формы микрососудов сокращающимся миокардом. Такие сдвиговые или тянущие силы мо-

гут приводить к перегибанию кровеносных сосудов и прекращению кровотока. Однако это явление, по-видимому, имеет меньшее значение для коронарного кровообращения [29, 34—36].

На коронарный кровоток оказывает также влияние изменение гематокрита. Обычно при увеличении гематокрита повышается вязкость крови и увеличивается сопротивление сосудов. Однако связанное с этим снижение кровотока компенсируется, поскольку кровь, обогащенная эритроцитами, способна переносить больше кислорода [37—40]. Этот процесс достигает предела при гематокрите выше 0,65, когда увеличение вязкости происходит быстрее, чем повышение кислородной емкости крови. С другой стороны, при снижении гематокрита, например в случае кровотечения, поступление кислорода к миокарду уменьшается, так как кислородная емкость крови снижается при этом быстрее, чем вязкость [38, 40, 41].

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ КОРОНАРНОГО КРОВОТОКА

В нормальных условиях на сопротивление коронарных сосудов основное влияние оказывает метаболизм миокарда. Между степенью расширения коронарных сосудов и потреблением кислорода миокардом существует положительная монотонная зависимость [42]. Это означает, что поступление к миокарду кислорода тесно связано с его использованием в миокарде. Несмотря на важную роль этой зависимости для нормальной работы сердца, в определенных условиях возможны значительные изменения коронарного кровотока при заданном уровне потребления кислорода. Хотя метаболизм оказывает доминирующее действие на кровоток в миокарде, возможно модулирующее влияние и других факторов, таких как изменение газового состава крови, нейрогенная регуляция и гуморальные факторы [2].

Регуляторное влияние метаболизма на коронарный кровоток обычно проявляется в виде реакций трех типов: 1) реактивная гиперемия, возникающая после кратковременной окклюзии коронарной артерии; 2) ауторегуляция коронарного кровотока, т. е. относительное постоянство кровотока, несмотря на изменение перфузионного давления; 3) функциональная гиперемия, или увеличение коронарного кровотока, связанная с усилением метаболизма миокарда. Хотя в ранних работах допускалось, что все эти реакции обусловлены одним и тем же механизмом, в настоящее время ясно, что их механизмы различны. Поэтому мы рассмотрим эти явления отдельно и затем оценим относительное значение каждого из предполагаемых механизмов.

Реактивная гиперемия

Если на короткий период времени вызвать окклюзию крупной коронарной артерии, то после устранения препятствия наблюдается выраженное увеличение кровотока по сравнению

нормой. Максимум эффекта достигается через несколько секунд после возобновления перфузии. Амплитуда эффекта зависит от продолжительности периода окклюзии, если он не превышает 15 с. Дальнейшее увеличение длительности не приводит к дополнительному увеличению максимальной величины кровотока при развитии реактивной гиперемии [43—45]. Длительность гиперемической реакции также зависит от продолжительности окклюзии. Суммарный дополнительный кровоток, обусловливаемый явлением реактивной гиперемии, превышает «задолженность» по кровотоку, возникающую за время окклюзии. Реактивная гиперемия наблюдается и в денервированном, и в изолированном сердце, поэтому общепризнано, что механизмы, ответственные за это явление, должны находиться в самом сердце. Эти механизмы можно разделить на 2 общие категории: миогенные и метаболические. Миогенная гипотеза утверждает, что резистивные сосуды, расположенные дистальнее места окклюзии, расширяются в ответ на снижение механического напряжения стенки сосудов [46]. Метаболическая гипотеза гласит, что уменьшение кровотока вследствие окклюзии крупной артерии вызывает высвобождение некоторых сосудорасширяющих агентов либо из клеток миокарда, либо из самой стенки сосудов [2].

Основная проблема в данном случае состоит в том, чтобы отделить часть реакции реактивной гиперемии, связанную с миогенными факторами, от той, которая вызывается высвобождением различных метаболитов, расширяющих сосуды. Для разделения эффектов этих двух механизмов был поставлен ряд остроумных экспериментов. Eikens и Wilcken [47, 48] показали, что при кратковременной окклюзии артерии (<1 с) также возникает реактивная гиперемия. Авторы утверждают, что нарушение метаболизма за столь короткое время прекращения кровотока не может вызвать высвобождения какого бы то ни было сосудорасширяющего метаболита, поэтому, по их мнению, результаты таких экспериментов подтверждают миогенную гипотезу. Последующие исследования Greenfield и соавт. [49] показали, что выраженность реактивной гиперемии зависит от момента создания такой кратковременной окклюзии относительно фазы сердечного цикла. Авторы обнаружили, что окклюзия коронарной артерии продолжительностью более 100 мс в фазу диастолы приводит к развитию реактивной гиперемии. Амплитуда гиперемической реакции зависит от продолжительности окклюзии, и ее начало задерживалось до первой систолы после окклюзии. Авторы сочли это доказательством участия метаболических факторов в расширении сосудов, так как этот эффект, вероятно, зависел от усиления метаболизма, происходящего в фазу систолы. Таким образом, имеющиеся в настоящее время данные не позволяют нам с определенностью установить, какая доля реактивной гиперемии после кратковременной окклюзии является результатом миогенной реакции. В отсутствие какого-либо специфического блокатора миогенной реакции, по-видимому, вообще невозможно полностью отделить друг от друга эти два явления.

При окклюзии большей длительности скорее всего определенную роль играет метаболический компонент. Доказательством этого является увеличение продолжительности реактивной гиперемии при удалении периода окклюзии [43—45], а также высвобождение в кровь некоторых сосудорасширяющих метаболитов [2]. После устранения окклюзии такие вещества вызывают увеличение кровотока, продолжающееся до тех пор, пока они не будут метаболизированы, поглощены клетками или отмыты из ткани. Один из вариантов этой гипотезы основан на изменении P_{O_2} в стенке сосуда. Согласно этой точке зрения, при окклюзии из стенки уходит кислород, являющийся вазоконстриктором, что сопровождается расширением сосудов. Имеется несколько способов проверки роли конкретных сосудорасширяющих веществ. Если данный вазодилататор является причиной реактивной гиперемии, то он должен присутствовать в ткани около гладкомышечных клеток в концентрации, достаточной для инициации расширения сосудов. Более того, вещества, способные блокировать действие данного вазодилататора, должны снижать степень реактивной гиперемии, а вещества, способные изменять концентрацию вазодилататора вокруг гладкомышечных клеток, должны вызывать соответствующие изменения выраженности реактивной гиперемии.

После кратковременной окклюзии в коронарных венах выявляется повышенное содержание K^+ [50, 51]. Более того, восстановление выхода K^+ в кровь до нормы в зависимости от времени близко к таковому для сопротивления сосудов. Это позволило предположить, что развитие реактивной гиперемии, по крайней мере частично, определяется присутствием ионов K^+ . Есть два возражения против такого вывода. Во-первых, Bunge и соавт. [52] не удалось с помощью метода перфузии изолированного сердца морской свишки кристаллоидными растворами блокировать реактивную гиперемию оубаином, который подавляет реакцию расширения сосудов. Во-вторых, Sparks и соавт. [51] рассчитали увеличение концентрации K^+ в межклеточном пространстве вследствие окклюзии артерии продолжительностью 15 с и пришли к выводу, что такого увеличения недостаточно, чтобы объяснить значительную часть реакции расширения сосудов. Таким образом, K^+ , по-видимому, действительно выходит из клеток при окклюзии, но играет лишь незначительную роль в развитии реактивной гиперемии.

Окклюзия коронарной артерии приводит к снижению P_{O_2} в ткани и стенках микрососудов [53, 54]. Возникает вопрос, достаточно ли снижается P_{O_2} , чтобы вызвать расслабление гладких мышц сосудов. Результаты изучения чувствительности гладкой мышцы сосудов к изменениям P_{O_2} не позволяют прийти к единому мнению. Daling и соавт. [55, 56] считают, что ткань стенки сосудов не очень чувствительна к P_{O_2} в окружающих тканях. Однако результаты других работ [57, 58] свидетельствуют о том, что P_{O_2} в широком диапазоне значений в стенке сосуда способен влиять на тонус гладких мышц. Один из предполагаемых механизмов

лов чувствительности гладких мышц сосудов к P_{O_2} состоит в высвобождении тканью простагландинов [59]. Даже если вследствие окклюзии P_{O_2} снижается до уровня, при котором расширяются сосуды, маловероятно, что тот же механизм ответствен за дилатацию сосудов после устранения препятствия кровотоку. После восстановления кровотока P_{O_2} в оттекающей крови быстро повышается до уровня, значительно превышающего контрольный [60]. Это позволяет предположить, что P_{O_2} в стенках микрососудов также повышается при увеличении поступления кислорода с кровью. Однако как только уровень P_{O_2} в стенках микрососудов повышается, исчезает стимул для продолжения вазодилатации. Справедливость этих аргументов невозможно доказать окончательно, пока не будет получено больших данных относительно механизма влияния P_{O_2} в ткани стенки сосудов на тонус гладких мышц.

Как было отмечено выше, гипоксия стенки сосуда вызывает высвобождение из нее простагландинов. В ряде работ было показано, что ишемия миокарда также приводит к высвобождению простагландинов в кровь, оттекающую по венам [61, 62]. Это позволяет предположить, что высвобождение простагландинов может быть причиной развития реактивной гиперемии. Однако при использовании таких соединений, как индометацин, который угнетает синтез простагландинов в ходе циклооксигеназных реакций, не удалось получить однозначные результаты. Alexander и соавт. [61] наблюдали при действии индометацина уменьшение гиперемического кровотока после 20-секундной окклюзии. Однако эти данные не удалось подтвердить трем другим группам исследователей [63—65].

В нескольких исследованиях было обнаружено увеличение тканевого содержания аденозина в результате окклюзии коронарной артерии [66—69]. Кроме того, содержание аденозина остается повышенным и после окончания окклюзии, а его возврат к контрольному уровню во времени развивается так же, как и восстановление кровотока [69]. Очень вероятно, что увеличение тканевого содержания аденозина, по крайней мере частично, является следствием увеличения концентрации аденозина в межклеточном пространстве, так как после окончания окклюзии аденозин быстро появляется в венозной крови [66, 68]. В большинстве работ показано, что введение теофиллина или аминофиллина, антагонистов аденозиновых рецепторов, приводит к снижению реактивной гиперемии приблизительно на 30% [65, 70, 71, по см. 72, 73]. Кроме того, снижение реактивной гиперемии в такой же степени возникает при введении в кровь каталитической субъединицы аденозиндезаминазы [74]. Добавление теофиллина к аденозиндезаминазе не вызывает дальнейшего угнетения реактивной гиперемии. Эти результаты означают, что за остальные $\frac{2}{3}$ реакции ответственны некоторые другие факторы [74].

Таким образом, имеющиеся в настоящее время данные свидетельствуют, что аденозин обуславливает приблизительно $\frac{1}{3}$ реакции гиперемии, развивающейся при кратковременной окклю-

зии коронарной артерии. Вероятно также, что в инициации гиперемической реакции принимают участие и миогенные механизмы. Однако, по-видимому, существуют и другие, неизвестные пока механизмы, определяющие развитие этой реакции. Нам кажется, что в настоящее время можно с уверенностью исключить существенную роль в этом процессе простагландинов и ионов K^+ . Доказано также, что реактивная гиперемия не связана с эффектами ионов Ca^{2+} [2], Mg^+ [75], а также осмолярности [50]. К факторам, заслуживающим дальнейшего изучения, относятся гипоксия ткани стенки сосудов, увеличение концентрации ионов водорода и действие лейкотриенов [76].

Ауторегуляция

Ауторегуляция кровотока определяется как поддержание потока крови на постоянном уровне, несмотря на изменения перфузионного давления. При внезапном изменении перфузионного давления величина кровотока отслеживает изменение давления. Однако уже через несколько секунд кровоток возвращается к исходному уровню. Диапазон давлений, при которых кровоток остается практически неизменным, составляет от 70 до 145 мм рт. ст. [77, 78].

При снижении перфузионного давления ниже 70 мм рт. ст. кровоток начинает линейно убывать, пока вовсе не прекращается при давлении, величина которого отлична от нуля (см. рис. 39.1). Иногда считают, что нисходящий участок кривой ауторегуляции кровотока представляет собой тот диапазон величин перфузионного давления, при котором резистивные коронарные сосуды максимально расширены. Но это неверно. На рис. 39.2 приведены результаты эксперимента, в котором при разных величинах давления в кровоток вводили аденозин, и показано, что в отсутствие ауторегуляции остается некоторый резерв вазодилатации [79]. Исследования с использованием микросфер показали, что ауторегуляция свойственна как субэндокарду, так и субэпикарду [80, 81]. Механизм ауторегуляции кровотока неизвестен. Существуют три принципиальные теории: миогенная, тканевого давления и метаболическая. Как и в случае реактивной гиперемии, нет прямых данных в пользу миогенного механизма. Однако отсутствуют и данные, опровергающие эту теорию. Гипотеза тканевого давления утверждает, что при понижении перфузионного давления уменьшается сдавливание стенки сосудов и резистивные сосуды расширяются. И здесь мы сталкиваемся с отсутствием прямых доказательств справедливости этой гипотезы. Многие исследователи считают, что ауторегуляция коронарного кровотока является следствием метаболического механизма. К сожалению, очень мало работ посвящено изучению эффектов специфических сосудорасширяющих метаболитов. На ауторегуляцию не влияют ингибиторы циклооксигеназы [82], что, по-видимому, исключает участие простагландинов в этом процессе. Кроме того, Bunge и соавт. [52] не удалось получить доказательств участия в регуляции коронар-

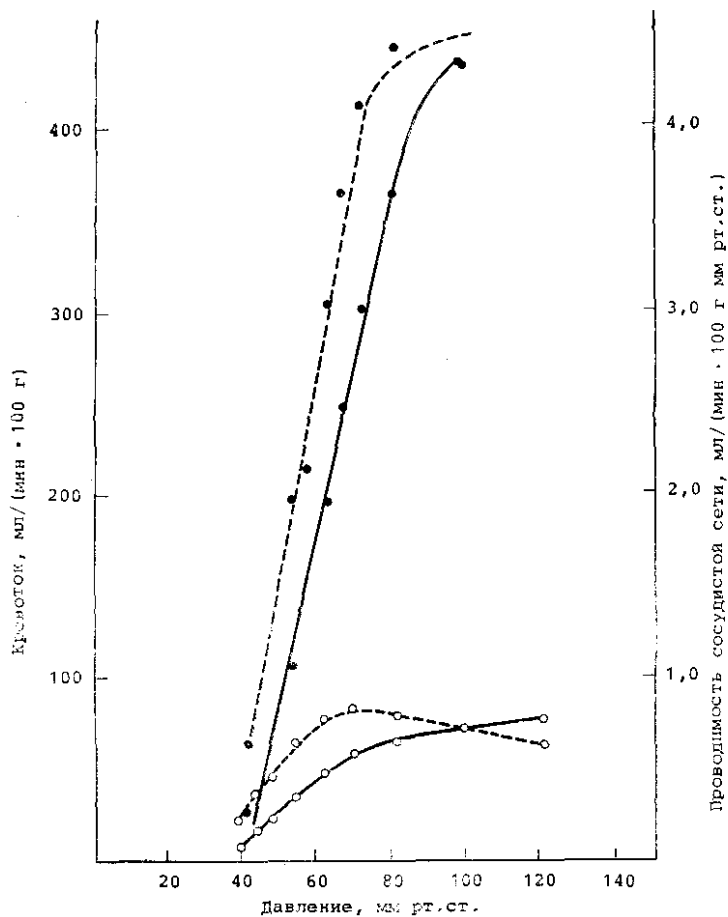


Рис. 39.2. Средняя величина кровотока в левой огибающей коронарной артерии наркотизированной собаки. Перфузионное давление уменьшали с помощью манжетки пережимающей артерию. Давление измеряли дистальное манжетки. При перфузии обычным физиологическим раствором (светлые кружки) снижение давления в диапазоне от 120 до 60 мм рт. ст. вызвало непропорционально меньшее снижение коронарного кровотока, так как одновременно увеличивалась проводимость сосудов (уменьшалось сопротивление). Ниже 60 мм рт. ст. кровоток резко снижался, а сопротивление возрастало. При любом перфузионном давлении введение аденозина (темные кружки) непосредственно в артерию вызвало увеличение кровотока и уменьшение сопротивления. Это означает, что резерв дилатации коронарных сосудов не исчерпывается при давлении, соответствующем резкому снижению кровотока и повышению сопротивления.

ного кровотока ионов K^+ . Любое уменьшение поступления кислорода с кровью вследствие снижения перфузионного давления должно вызывать падение P_{O_2} в ткани стенки сосудов [54]. Однако не проводилось никаких прямых исследований роли P_{O_2} в ауторегуляции кровотока. Schrader и соавт. [68] показали, что сниже-

ние перфузионного давления по сравнению с нормой приводит к повышению содержания аденозина в ткани и отекающей крови, однако при повышении давления содержание аденозина в миокарде и крови не изменяется. Маловероятно, чтобы уменьшение высвобождения аденозина могло вызывать сужение сосудов в ответ на повышение перфузионного давления, так как, согласно имеющимся в настоящее время данным, аденозин не оказывает сосудорасширяющего действия в состоянии покоя [74].

Функциональная гиперемия

Повышение обмена веществ в миокарде в норме сопровождается увеличением коронарного кровотока и поступления кислорода с кровью. Эта взаимосвязь может быть изменена при действии многих факторов (сосудосуживающее влияние симпатической иннервации [83], ангиотензин [84, 85], аптидиуретический гормон [86], изменения P_{CO_2} [89—90], некоторые вазоактивные препараты [91]). Любое изменение коронарного кровотока при постоянной скорости обмена веществ в миокарде вызывает изменение уровня экстракции кислорода. Например, сужение сосудов, вызываемое адренергической стимуляцией, приводит к уменьшению кровотока и повышению степени экстракции кислорода при неизменном потреблении кислорода миокардом [83].

Сопряжение между сопротивлением коронарных сосудов и метаболизмом очень легко доказать на изолированном сердце, на которое не влияют активность нервной системы или гормоны. Большинство исследователей считают, что усиление метаболизма сопровождается высвобождением из клеток миокарда некоторого сосудорасширяющего вещества. Постулируется, что этот вазодилататор вызывает расслабление гладких мышц коронарных сосудов и, таким образом, увеличивает кровоток, чтобы удовлетворить возросшие потребности метаболизма. Однако имеются убедительные доказательства существования по крайней мере двух механизмов вазодилатации, и не исключено, что существуют также и другие не известные пока механизмы. По-видимому, в развитии функциональной гиперемии не принимает участия ряд механизмов расширения сосудов, имеющих важное значение в других условиях. Мы сомневаемся, что во время функциональной гиперемии происходит снижение P_{O_2} в ткани стенок сосудов, так как P_{O_2} в крови венечного синуса обычно не изменяется, а поступление кислорода с кровью к резистивным сосудам резко возрастает при повышении кровотока [54]. Case и соавт. [87—89] вновь обратили внимание на гипотезу, что функциональная гиперемия определяется повышением P_{CO_2} в стенке сосудов. Эта идея кажется привлекательной, потому что усиление кислородного метаболизма должно вызывать увеличение образования CO_2 . Однако для того чтобы вызвать относительно умеренное изменение сопротивления сети коронарного кровообращения, необходимы очень большие изменения артериального P_{CO_2} . Учитывая малые изменения P_{CO_2} , наблюдаемые в венечном синусе, маловероятно,

чтобы существовал значительный гиперкапнический стимул, приводящий к развитию наблюдаемой функциональной гиперемии [90]. Изменения артериального P_{CO_2} могут оказывать косвенное влияние на связь между коронарным кровотоком и потреблением кислорода. Например, возникающее при гиперкапнии повышение концентрации ионов водорода в крови (закисление рН) вызывает расслабление гладких мышц коронарных сосудов [92] и усиливает чувствительность их к аденозину [92, 93]. Кроме того, повышение P_{CO_2} , а также снижение рН вызывают уменьшение степени насыщения гемоглобина кислородом.

Функциональная гиперемия развивается и в присутствии индометацина, что позволяет отвергнуть участие в этом процессе высвобождения простагландинов [42, 90]. Кроме того, отсутствие изменений рН [94, 95] и осмолярности [50] крови, оттекающей от венозного синуса, по-видимому, позволяет исключить и участие этих двух факторов.

При усилении обмена веществ в миокарде наблюдается кратковременное повышение содержания ионов K^+ в межклеточном пространстве. Такого повышения достаточно, чтобы объяснить приблизительно $1/3$ начального увеличения коронарного кровотока, сопровождающего учащение ритма сердца [51]. Однако если к миокарду поступает нормальное количество кислорода, то выход K^+ из клеток миокарда быстро уменьшается [96, 97]. Таким образом, несмотря на сосудорасширяющее действие K^+ на коронарные сосуды, он не может определять стабильное увеличение коронарного кровотока, сопровождающее усиление метаболизма.

Наиболее давним кандидатом на роль инициатора функциональной гиперемии является аденозин. Гипотеза участия аденозина в этом процессе [2] утверждает, что усиление метаболизма связано с увеличением выхода аденозина из сердечных миоцитов. Вследствие этого повышается содержание аденозина в межклеточном пространстве, что в свою очередь вызывает дилатацию резистивных сосудов. До последнего времени считали, что аденозин образуется вследствие действия на АМФ экто-5'-нуклеотидазы, активный участок которой, находящийся на внешней поверхности клеточной мембраны, некоторым образом вступает в контакт с внутриклеточным АМФ, и в результате образуется внеклеточный аденозин. Последние работы показали, что образование аденозина может происходить и внутри клетки. На это указывают следующие данные: а) блокирование экто-5'-нуклеотидазы не угнетает выхода аденозина из ткани в ответ на гипоксию [98, 99]; б) ингибиторы транспорта аденозина, опосредованного переносчиком, уменьшают выход аденозина при гипоксии [99, 100]; в) стимуляция внутриклеточных путей превращения аденозина в S-аденозилгомоцистеин угнетает высвобождение аденозина в ответ на гипоксию [101]; г) аденозиндезаминидаза не способна разрушить весь аденозин в суспензии изолированных клеток, т. е. можно предположить, что часть его должна находиться внутри клеток недоступной для фермента [102]; д) тканевое содержание аденозина столь велико, что если бы весь аденозин, присутствующий

в ткани, располагался в межклеточном пространстве, то это вызвало бы почти максимальное расширение коронарных сосудов [103]. Все вместе эти аргументы, бесспорно, свидетельствуют, что по крайней мере в случае гипоксии аденозин образуется внутри клеток, а затем высвобождается во внеклеточное пространство. Сравнимых экспериментов для проверки справедливости такого заключения для физиологических стимулов, вызывающих усиление обмена веществ в миокарде, не проведено.

Три независимых вида данных подтверждают гипотезу об инициации и поддержании функциональной гиперемии аденозином. Во-первых, аденозин является сильным вазодилататором. Во-вторых, в миокарде существуют метаболические пути быстрого образования и разрушения аденозина. В-третьих, в ряде работ было показано, что большинство стимулов, вызывающих усиление метаболизма миокарда, определяют также увеличение выхода аденозина в венозную кровь и (или) в перикардальную жидкость [91, 104—106]. Кроме того, под действием большинства таких стимулов повышается содержание аденозина в ткани [104, 107, 108]. Однако существуют и данные, свидетельствующие об обратном. Во-первых, аминофиллин, метилксантин, который препятствует развитию сосудорасширяющего действия аденозина, не снижает степень функциональной гиперемии [109]. Во-вторых, существуют способы усиления метаболизма в миокарде и увеличения коронарного кровотока без повышения высвобождения аденозина, например путем искусственной электрической стимуляции [110]. В-третьих, при введении в кровь норадреналина высвобождение аденозина повышается лишь на короткое время [111]. Если норадреналин ввести в перфузат, омывающий изолированное сердце морской свинки (рис. 39.3), то максимальное высвобождение аденозина происходит в течение 1-й минуты, а затем оно быстро уменьшается до значительно более низкого уровня, в то время как потребление миокардом кислорода и коронарный кровоток остаются увеличенными и не изменяются. Хотя эти результаты, по-видимому, противоречат аденозиновой гипотезе, существуют потенциальные объяснения каждого из них в рамках гипотезы. Было показано, например, что другой метилксантин — теофиллин — вызывает увеличение высвобождения аденозина [112]. Таким образом, вполне вероятно, что введение метилксантинов может привести к увеличению концентрации аденозина в межклеточном пространстве, что в свою очередь способствует устранению блока аденозиновых рецепторов. Возможно также, что блокаторы, введенные внутривартериально, не достигают внесосудистых рецепторов, ответственных за сосудорасширяющее действие аденозина. Отсутствие изменений высвобождения аденозина при искусственной электрической стимуляции можно согласовать с аденозиновой гипотезой, если предположить, что выход аденозина в кровь не является точной мерой концентрации аденозина в межклеточном пространстве. Поскольку очень мало известно о природе капиллярного барьера для транспорта аденозина, трудно оценить справедливость такого предположения. Наконец,

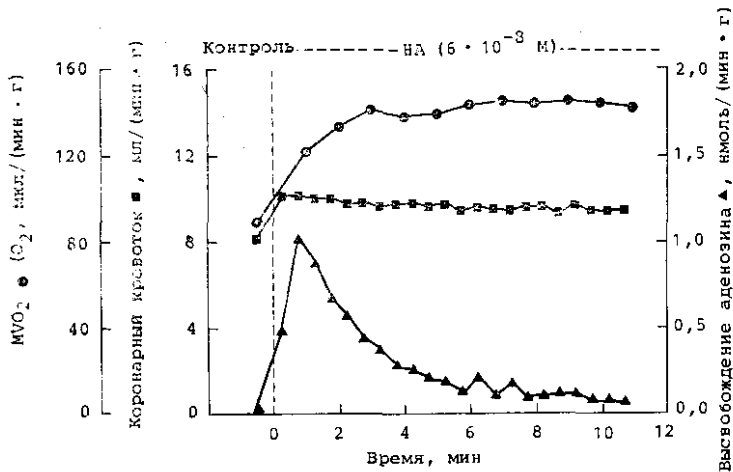


Рис. 39.3. Потребление миокардом кислорода (MVO_2 , кружки), коронарный кровоток (квадраты) и высвобождение аденозина (треугольники) в типичном эксперименте на изолированном сердце морской свинки, перфузируемом по Лангендорфу. Норадrenalин ($6 \cdot 10^{-8}$ М) вызывал стабильное увеличение MVO_2 и кровотока, но высвобождение аденозина за 1 мин возрастало до максимума, а затем за несколько минут снижалось до контрольного уровня. Это означает, что стабильное увеличение кровотока вызывается в этом случае не высвобождением аденозина.

кратковременное увеличение высвобождения аденозина, наблюдавшееся в сердце морской свинки, может объясняться присутствием в клетке нескольких источников аденозина. Например, массивный начальный выход аденозина в кровь может быть следствием его высвобождения из эндотелиальных клеток, которые, как известно, содержат аденозин в большом количестве [113]. Вполне возможно, что лишь установившийся уровень выхода аденозина в кровь, регистрируемый в более поздние моменты времени, отражает реальное повышение межклеточной концентрации аденозина. Мы также не можем оценить справедливость этого предположения, так как очень мало известно о биологии эндотелиальных клеток *in vivo*.

В заключение отметим, что аденозин остается основным кандидатом в факторы, вызывающие стабильную функциональную гиперемию.

НЕЙРОГЕННЫЙ КОНТРОЛЬ КОРОНАРНОГО КРОВОТОКА

Оба отдела вегетативной нервной системы принимают участие в иннервации коронарных сосудов [114—118]. Более того, гладкомышечные клетки коронарных сосудов обладают как α -, так и β адренергическими рецепторами [116, 117], а также М-холинерги-

ческими рецепторами [2]. Таким образом, иннервация коронарных сосудов такова, что нервная система способна оказывать все возможные виды регуляторных воздействий.

Симпатическая регуляция

Стимуляция симпатических эфферентных волокон, идущих к сердцу, вызывает кратковременное сужение коронарных сосудов после которого развивается стабильная вазодилатация [121—124]. Установившийся прирост кровотока пропорционален степени усиления метаболизма миокарда. Более того, такое увеличение кровотока можно предотвратить специфическими блокаторами β -рецепторов, которые, как считается, преимущественно расположены на поверхности сердечных миоцитов [121, 122, 124, 125]. При активации симпатической системы в присутствии α -блокаторов устраняется первоначальный сосудосуживающий эффект, а установившийся прирост кровотока оказывается выше при любом уровне обмена веществ в миокарде [83, 126—128]. Активация симпатической системы на фоне блокады β -рецепторов вызывает сужение коронарных сосудов, которое можно устранить блокаторами α -рецепторов [121, 122, 125]. По-видимому, симпатическая стимуляция вызывает опосредованное α -рецепторами прямое сосудосуживающее действие, конкурирующее с косвенным метаболическим расширением сосудов, являющимся следствием стимуляции β -рецепторов миокарда. Возможно, при этом активируются и β -рецепторы гладкой мышцы коронарных сосудов, что также определяет сосудорасширяющий эффект. Имеющихся данных недостаточно, чтобы прийти к какому-либо заключению относительно этой возможности. Однако то, что уже известно, свидетельствует о существенно более слабом влиянии этого механизма по сравнению с прямым сосудосуживающим действием через α -рецепторы и косвенной метаболической вазодилатацией, опосредованной β -рецепторами [125].

Стимуляция симпатических нервов приводит к уменьшению содержания кислорода в крови венозного синуса приблизительно в 2 раза по сравнению с той величиной, которая наблюдается при блокаде α -рецепторов коронарных сосудов [83, 129, 130]. Несмотря на то что такое сужение сосудов довольно существенно, особенно на фоне повышения метаболических потребностей миокарда, нет данных, что оно приводит к нарушению функции здорового миокарда. Buffington и Feigl [131] исследовали возможность нежелательных последствий сужения сосудов, вызванного стимуляцией α -рецепторов при критической степени стеноза коронарных артерий. Хотя результаты этой работы и были отрицательными, эту идею необходимо проверить на других препаратах.

Результаты ряда работ показывают, что α -рецепторы могут быть ответственны за спазм крупных коронарных артерий [132—135]. Это согласуется с данными о том, что в крупных коронарных сосудах плотность α -рецепторов выше, чем в мелких [136—139].

Парасимпатическая регуляция

Стимуляция блуждающих нервов при искусственном ритме сердца снижает сосудистое сопротивление в конце диастолы. Этот эффект блокируется атропином [71, 140, 141], что позволяет сделать вывод о парасимпатической холинергической иннервации резистивных коронарных сосудов. В настоящее время неизвестна физиологическая роль этих нервов. В тщательном исследовании Feigl [142] не удалось продемонстрировать парасимпатического холинергического расширения коронарных сосудов. Эти результаты были подтверждены позднее Brown [143].

Рефлекторный контроль коронарного кровообращения

Двусторонняя окклюзия сонных артерий вызывает изменения коронарного кровотока, аналогичные наблюдаемым при стимуляции шейно-грудного (звездчатого) ганглия, а именно увеличение коронарного кровотока, которое может быть усилено с помощью блокады α -рецепторов. Снижение давления в обеих сонных артериях на фоне пропранолола и ваготомии вызывает повышение сопротивления коронарных сосудов [130, 144]. Оно может быть предотвращено симпатэктомией или введением блокаторов α -рецепторов. При стимуляции нервов каротидных синусов сопротивление коронарных сосудов снижается. Этот эффект можно предотвратить путем предварительного воздействия блокаторов α -рецепторов, устраняющих тонус, обусловленный активацией α -рецепторов в покое [145—147]. Таким образом, выявляется α -адренергический тонус коронарных сосудов, который усиливается при окклюзии сонных артерий и устраняется при активации барорецепторных нервов. Если хеморецепторы каротидных рецепторных зон стимулировать никотином, то в коронарных сосудах проявляется парасимпатическая холинергическая вазодилатация [146, 148, 149]. Неясно пока, способна ли вызвать тот же эффект физиологическая стимуляция каротидных рецепторных зон путем изменения газового состава крови [150].

Физическая нагрузка сопровождается существенным увеличением коронарного кровотока. Однако блокирование α -рецепторов коронарных сосудов в эксперименте показывает, что даже в этих условиях кровоток в какой-то мере ограничен в результате симпатической активации α -рецепторов [127, 128]. Такое сосудосуживающее влияние не приводит к ухудшению работы желудочков, если миокард здоров [127, 128].

ГИПЕРТРОФИЯ МИОКАРДА

Гипертрофия миокарда сопровождается клиническими проявлениями ухудшения условий перфузии миокарда, например стенокардией [151—153] и изменениями на ЭКГ [152—154]. Гистологические исследования миокарда при вскрытиях позволили выявить при гипертрофии желудочков уменьшение плотности сосу-

дистой сети [155—158], увеличение степени коллатерализации [159] и субэндокардиальный фиброз [160, 161]. В большинстве работ отмечено, что перфузия миокарда и потребление им кислорода (на единицу массы) при гипертрофии в покое не отличаются от нормы [162—170]. Однако имеется и исключение: гипертрофия правого желудочка неизменно сопровождается усилением его перфузии (на единицу массы миокарда) в покое [171—174]. Увеличение кровотока в этом желудочке может быть объяснено повышением механического напряжения в его стенке [174]. Результаты большинства работ показывают, что в гипертрофированном сердце сохраняется обычно распределение кровотока [163—167]. Исключения наблюдаются только при высокой степени гипертрофии [175, 176] или при необходимости использовать весь резерв вазодилатации (стеноз коронарных артерий [177], повышение метаболических потребностей миокарда [163, 165, 167, 175]). В этих случаях наблюдается избирательное снижение кровотока в субэндокарде. Введение в кровь различных коронарных вазодилататоров показывает, что в гипертрофированном сердце минимальное сопротивление сети коронарных сосудов остается неизменным [162, 167, 169, 171]. Однако если нормировать сопротивление на массу перфузируемого миокарда, то окажется, что гипертрофия приводит к повышению минимальной величины сопротивления коронарной сети кровообращения [163, 164, 167, 169, 171]. Все эти данные позволяют предположить, что при гипертрофии происходит уменьшение общей площади поперечного сечения резистивных сосудов. Такой эффект может быть результатом недостаточной способности ткани резистивных сосудов к пролиферации по сравнению с миокардом [173, 178—180] и (или) следствием увеличения отношения толщины стенки артериол к диаметру их просвета в результате гипертрофии средней оболочки, вызванной артериальной гипертензией [181—184]. В любом случае можно ожидать именно таких изменений функции, какие наблюдаются в исследованиях; кровоток в покое, по-видимому, поддерживается в норме за счет использования части резерва вазодилатации коронарных сосудов, а максимальная способность к вазодилатации оказывается сниженной.

Некоторые физиологические воздействия вызывают изменения перфузии гипертрофированного сердца. Например, навязывание искусственного ритма сердца с помощью электрической стимуляции приводит к перераспределению кровотока в стенках желудочков с относительным уменьшением перфузии субэндокарда [165, 167]. Как упоминалось выше, окклюзия коронарных артерий вызывает выраженную ишемию субэндокарда [177]. Более того, в гипертрофированном сердце гиперемическая реакция на кратковременную окклюзию выражена слабее [162, 163, 171, 185]. Несколькими исследователями отмечено значительное снижение кровотока в субэндокарде при интенсивной физической нагрузке у экспериментальных животных с гипертрофией миокарда желудочков [163, 165].

Много важных аспектов коронарного кровообращения в гипер-

профирированном сердце еще не выяснено. Во-первых, практически неизвестно о влиянии возраста, в котором развивается гипертрофия, на перфузию миокарда. Во-вторых, очень мало информации о связи между степенью гипертрофии миокарда желудочков и степенью ухудшения коронарного кровообращения. В-третьих, только в одной работе изучали коронарный кровоток при стабильной продолжительной гипертрофии [169]. В-четвертых, необходимы дальнейшие исследования для выяснения влияния стимулов, приводящих к развитию гипертрофии, на взаимосвязь между гипертрофией и коронарным кровотоком. Наконец, исследования взаимосвязей между коронарным стенозом, артериальной гипертензией и гипертрофией миокарда могут внести существенный вклад в выяснение природы ишемической болезни сердца.

ИШЕМИЯ

Реакции на острую ишемию

При развитии стеноза одной из главных коронарных артерий существенному снижению кровотока в миокарде препятствуют два компенсаторных механизма. Во-первых, расширяются сосуды, находящиеся дистальнее места стеноза [44], в ответ на падение трансмурального давления и усиление стимулирующего действия метаболитических вазодилататоров (см. выше об ауторегуляции кровотока). Во-вторых, кровь, текущая по другим крупным артериям, достигает участка миокарда за стенозом через существующие в миокарде коллатеральные сосуды, соединяющие артерии и артериолы соседних участков. Величина коллатерального кровотока в потенциально ишемизированном участке миокарда зависит от вида животного и от ряда неизвестных факторов [186—188]. Например, у собаки количество постоянно существующих в миокарде коллатеральных сосудов значительно больше, чем у человека или свиньи [186, 187]. Однако количество коллатералей сильно варьирует и у животных одного вида; причина этого явления неизвестна [188, 189].

Когда степень стеноза коронарной артерии достигает критического уровня, ауторегуляторной дилатации резистивных сосудов и коллатерального кровотока оказывается уже недостаточно для обеспечения нормального кровоснабжения миокарда в покое. С этого момента кровоток в субэндокарде начинает снижаться [190, 191]. Повышенная уязвимость субэндокарда, по-видимому, связана с более высокой величиной внутримиекардиального напряжения, действующего на кровеносные сосуды, питающие данный участок миокарда (см. выше обсуждение факторов, определяющих трансмуральное распределение кровотока). В субэндокарде в нормальных условиях используется относительно большая доля способности сосудов к вазодилатации. Именно поэтому здесь остается меньший резерв вазодилатации для компенсации падения перфузионного давления, вызванного стенозом. Очень быстро после уменьшения коронарного кровотока происходит снижение

силы сокращения миокарда желудочков [192—195]. Наконец, сила сокращения миокарда в зоне ишемии становится столь мала, что во время систолы желудочков наблюдается парадоксальное выпячивание части стенки наружу из-за повышения давления в их полости [192, 195].

Длительная ишемия

Если критический уровень стеноза сохраняется в течение нескольких часов, то кровоток в зоне ишемии начинает снижаться, даже если давление за ее пределами остается неизменным [196—200]. Поскольку маловероятно, чтобы при постоянном постстенотическом давлении происходило существенное уменьшение коллатерального кровотока, последнее свидетельствует о прогрессирующем сужении дистальных сосудов в зоне ишемии. Guyton и соавт. [197] предположили, что локальная ишемия может инициировать процесс, характеризуемый положительной обратной связью, при котором ишемия вызывает сужение сосудов, что в свою очередь усиливает ишемию (рис. 39.4) [198]. Частично такая прогрессирующая «ишемическая вазоконстрикция» является следствием разбухания ткани, давящей на резистивные сосуды. Это предположение подтверждается увеличением кровотока в зоне ишемии при введении в кровь маннитола [196, 201]. Однако маннитол не только уменьшает набухание клеток, но и вызывает расслабление гладкой мускулатуры сосудов, поэтому частично его эффект можно объяснить расширением резистивных сосудов [202]. Была также изучена возможность активного сужения сосудов в зоне ишемии, для чего через 3 ч после развития ишемии и прогрессирующей вазоконстрикции в кровь вводили аденозин или норадrenalин [199]. Оба соединения вызывали увеличение кровотока в зоне ишемии, что свидетельствует об активном сужении сосудов. Повышение тонуса сосудов происходит, по-видимому, не в результате высвобождения какого-то сосудосуживающего метаболита, образующегося при циклооксигеназных реакциях, так как через 3 ч после развития ишемии ипдометацин вызывает сужение, а не расширение сосудов [199]. Блокирование α -рецепторов с помощью феноксibenзамина приводит к дилатации сосудов, предотвращая их сужение [199]. Это, по-видимому, не является следствием устранения вазоконстрикции, опосредованной α -рецепторами, так как дилатация сосудов в этом случае может быть предотвращена блокатором β -рецепторов пропранололом. Скорее всего феноксibenзамин способствует высвобождению норадrenalина, блокируя предконтактные α -рецепторы, что в свою очередь вызывает вазодилатацию. Не исключено также, что прогрессирующее сужение сосудов, по крайней мере частично, является результатом замедления обмена веществ в миокарде и угнетения высвобождения метаболического вазодилатора после 3 ч ишемии. Это предположение подтверждается тем, что в препарате изолированного сердца морской свинки сразу после снижения коронарного кровотока наблюдается увеличение высвобождения аденозина, по

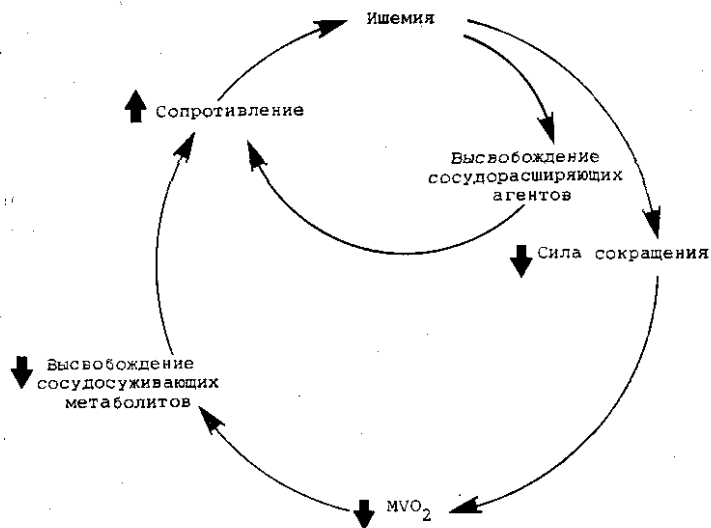


Рис. 39.4. Гипотетическая последовательность событий с положительной обратной связью, возникающая при ишемии миокарда. И высвобождение сосудосуживающих агентов, и угнетение метаболизма миокарда вызывают сужение сосудов и дальнейшее снижение кровотока. Это приводит к наблюдаемому увеличению резерва вазодилатации с течением времени. По [98].

в течение часа оно существенно уменьшается [203]. Эти данные свидетельствуют о неосторожности предположения, что резистивные сосуды дистальнее участка стеноза максимально расширены. Наоборот, по-видимому, эти сосуды все еще сохраняют способность поддерживать локальную регуляцию кровотока. Кроме того, они продолжают реагировать на определенные фармакологические вещества, в том числе нитроглицерин [204].

Если кровоток в коронарной артерии перекрыть на 2 ч, а затем его вновь восстановить (препарат с реперфузией), то вначале наблюдается значительная гиперемия. Однако ее максимум существенно меньше, чем после 10-минутной окклюзии [205]. Это говорит о том, что за время окклюзии минимальное сопротивление резистивных сосудов возрастает. Кроме того, кровоток в покое и на максимуме реактивной гиперемии продолжает уменьшаться в течение следующих 2—4 ч [206]. Такое увеличение сопротивления преимущественно наблюдается в субэндокарде [205, 207]. Гистологические исследования выявили в этом случае значительное набухание ткани [208], кровоизлияния и микротромбы [209, 210]. Кроме того, воздействие маннитола до восстановления кровотока после 1—2 ч окклюзии приводит к развитию более высокого начального кровотока и меньшей выраженности повреждения структуры ткани и некроза [205, 208, 211]. Однако благоприятные гемодинамические эффекты маннитола исчезают через 4 ч реперфузии [208]. В заключение отметим, что исследования эффектов продолжительной окклюзии и реперфузии свидетельствуют о развитии

в ишемизированном миокарде положительной обратной связи, когда уменьшение кровотока вызывает вазоконстрикцию, которая в свою очередь приводит к снижению кровотока (см. рис.39.4).

Коллатеральный кровоток

Как отмечалось выше, увеличение коллатерального кровотока является средством мгновенной компенсации ухудшения кровоснабжения участка миокарда за зоной стеноза. Более того, в первые 1—6 ч после окклюзии в зависимости от степени сужения стенозированной артерии может начаться развитие новых коллатеральных сосудов [186, 212—214]. Вследствие этого давление крови и кровоток дистальнее участка стеноза постепенно увеличиваются, и это продолжается до тех пор, пока не будут удовлетворены основные потребности ткани в зоне ишемии. Если устранить стеноз после полного развития коллатеральных сосудов, то в течение последующих 24 ч они постепенно прекращают функционировать [215]. Если снова осуществить окклюзию той же крупной коронарной артерии не позднее чем через 3—90 дней, то полный коллатеральный кровоток функционирует уже через 1 ч без заметного повреждения миокарда.

Выдвинуто предположение, что коллатеральные сосуды развиваются из исходно существующих в миокарде микрососудов, соединяющих крупные коронарные артерии. Schaper [186] удалось подтвердить эту гипотезу. Они показали, что локальное высвобождение вазодилататоров вызывает расширение коллатеральных микрососудов, в результате чего повышается давление крови и увеличивается механическое напряжение в тонких стенках таких сосудов. Это приводит к повреждению стенки, что способствует проникновению в нее клеток крови и образованию в ней разрывов. Затем включаются процессы заживления, при которых развивается пролиферация эндотелиальных и гладкомышечных клеток, а также происходит рост сосуда. Таким образом осуществляется превращение тонкостенного коллатерального микрососуда в крупный сосуд с толстыми стенками и большим диаметром просвета. Неясно пока, какие факторы определяют развитие таких коллатеральных сосудов. Коллатеральные сосуды, например не развиваются при значительной физической нагрузке без предшествующей ишемии [216—218], и они всегда направлены в зону ишемии [219]. Определенную роль могут играть гипоксия ткани [220—222] и (или) изменение трансмурального давления в сосудах [186]. Развивающиеся коллатеральные сосуды не имеют гладких мышц и ведут себя пассивно. Позднее, с развитием гладких мышц, на степень сужения сосудов могут оказывать влияние вазоактивные вещества.

Нитроглицерин

Механизм устранения ишемии миокарда под действием нитроглицерина [223] остается спорным вопросом, и в зависимости от экспериментальных и клинических условий предлагаются разные

модели. Конкретные места действия нитроглицерина зависят от его концентрации и причин, вызвавших ишемию. На крупные коронарные сосуды, которые считаются сосудами-проводниками, не влияют ни аденозин [224, 225], ни дипиридамол [226, 227]. На них действует стимуляция α - и β -рецепторов [83, 136, 228—230], и они очень чувствительны к действию нитроглицерина в низкой концентрации [224—229, 231]. Главным фактором, определяющим сопротивление коронарной сети, является тонус артериол. На последний влияют аденозин [224, 225], дипиридамол [226, 227] и стимуляция β -рецепторов [228, 230], но не нитроглицерин в концентрации, достаточной для расширения крупных сосудов [224—226, 228, 232, 233]. Артериолы расширяются лишь под действием более высокой концентрации нитроглицерина или при внутрикоронарном введении нитроглицерина.

Поэтому терапевтические дозы нитроглицерина, способствующие расширению крупных коронарных артерий, не вызывают существенного увеличения коронарного кровотока в покое. При расширении артериол в зоне ишемии резерв вазодилатации снижается, и расширение крупных сосудов под действием нитроглицерина приводит к уменьшению общего сопротивления сосудистой сети, в результате чего увеличивается коронарный кровоток [85, 204]. Когда крупные артерии сужены атеросклеротическими бляшками, снижение их тонуса под действием нитроглицерина облегчает последствия ишемии и стенокардию [231, 234, 235]. Если при окклюзии одной крупной артерии развивается полноценная сеть коллатеральных сосудов, позволяющая крови поступать дистальное участка стеноза в достаточных количествах, нитроглицерин увеличивает кровоток в зоне ишемии путем расширения коллатералей или питающих их крупных сосудов [236—239]. Наконец, действие нитроглицерина в высокой концентрации может привести к «коронарному обкрадыванию», т. е. к уменьшению кровотока в зоне ишемии вследствие расширения сосудов эпикарда, ишемизированного в меньшей степени, или в относительно здоровом миокарде вокруг зоны ишемии [83, 232, 240].

Нитроглицерин может оказывать благоприятное действие на миокард также за счет расширения периферических сосудов и вен. Вследствие расширения вен происходит уменьшение венозного возврата крови и снижается диастолическое давление в левом желудочке [241], которое во время ишемии часто повышено [241, 242]. При расширении периферических сосудов снижаются пред- и постнагрузка [241, 243] и увеличивается диастолический коронарный кровоток. Однако снижение артериального давления вызывает рефлекторную тахикардию, что повышает потребление миокардом кислорода, если ее не подавить путем применения β блокаторов или не предотвратить с помощью искусственного ритма сердца [232, 244]. При уменьшении совершаемой сердцем работы снижаются потребность его в кислороде и степень сжатия сосудов окружающим миокардом, что способствует увеличению отношения величины кровотока к потреблению кислорода.

225. *Schnaar R. L., Sparks H. V.* Response of large and small coronary arteries to nitroglycerin, NaNO_2 and adenosine. — *Amer. J. Physiol.*, 1972, vol. 223, p. 223—228.
226. *Fam W. M., McGregor M.* Effect of nitroglycerin and dipyridamole on regional coronary resistance. — *Circulat. Res.*, 1968, vol. 22, p. 649—659.
227. *Tomoike H., Ootsubo H., Sakai K.* et al. Continuous measurement of coronary artery diameter in situ. — *Amer. J. Physiol.*, 1931, vol. 240, p. H73—79.
228. *Torres E. C., Brandi G.* The effect of vasoactive drugs on local coronary flow. — *Can. J. Physiol., Pharmacol.*, 1969, vol. 47, p. 421—430.
229. *Vatner S. F., Pagani M., Manders W. T., Pasipoularides A. D.* Alpha adrenergic vasoconstriction and nitroglycerin vasodilation of large coronary arteries in the conscious dog. — *J. Clin. Invest.*, 1980, vol. 65, p. 5—14.
230. *Cohen M. V., Sonnenblick E. H., Kirk E. S.* Coronary steal: its role in detrimental effect of isoproterenol after acute coronary occlusion in dogs. — *Amer. J. Cardiol.*, 1976, vol. 38, p. 880—888.
231. *Feldman R. L., Pepine C. J., Conti H.* Magnitude of dilatation of large and small coronary arteries by nitroglycerin. — *Circulation*, 1981, vol. 64, p. 324—330.
232. *Ganz W., Marcus H. S.* Failure of intracoronary nitroglycerin to alleviate pacing-induced angina. — *Circulation*, 1972, vol. 46, p. 880—889.
233. *Macho P., Hintze T. H., Vatner S.* Regulation of large coronary arteries by increases in myocardial metabolic demands in conscious dogs. — *Circulat. Res.*, 1981, vol. 49, p. 594—600.
234. *Likoff W., Kasparin H., Lehman J. S., Segal B. L.* Evaluation of "coronary vasodilators" by coronary angiography. — *Amer. J. Cardiol.*, 1964, vol. 13, p. 7—9.
235. *Brown H. T.* The mechanisms of nitroglycerin action: stenosis vasodilation as a major component of drug response. — *Circulation*, 1981, vol. 64, p. 1089—1097.
236. *Fam W. M., McGregor M.* Effect of coronary vasodilator drugs on retrograde flow in areas of chronic myocardial ischemia. — *Circulat. Res.*, 1964, vol. 15, p. 355—365.
237. *Goldstein R. E., Stinson E. B., Sherer J. L.* et al. Intraoperative coronary collateral function in patients with coronary occlusive disease: nitroglycerin responsiveness and angiographic correlations. — *Circulation*, 1974, vol. 49, p. 298—308.
238. *Cohen M. V., Downey J. M., Sonnenblick E. H., Kirk E. S.* Effects of nitroglycerin on coronary collaterals and myocardial contractility. — *J. Clin. Invest.*, 1973, vol. 52, p. 2836—2847.
239. *Jugdutt B. I., Becker L. C., Hutchins G. M.* et al. Effect of intravenous nitroglycerin on collateral blood flow and infarct size in the conscious dog. — *Circulation*, 1981, vol. 63, p. 17—28.
240. *Forman R., Kirk E. S., Downey J. M., Sonnenblick E. H.* Nitroglycerin and heterogeneity of myocardial blood flow: reduced subendocardial blood and ventricular contractile force. — *J. Clin. Invest.*, 1973, vol. 52, p. 905—911.
241. *Parker J. O., Di Girolgi S., West R. O.* A hemodynamic study of acute coronary insufficiency precipitated by exercise with observations on the effect of nitroglycerin. — *Amer. J. Cardiol.*, 1966, vol. 17, p. 470—483.
242. *Muller O., Rorvik K.* Haemodynamic consequences of coronary heart disease. — *Brit. Heart. J.* 1958, vol. 20, p. 302—310.
243. *Hoeschen R. J., Bousvaros G. A., Klassen G. A.* Haemodynamic effects of angina pectoris, and of nitroglycerin in normal and anginal subjects. — *Brit. Heart. J.*, 1966, vol. 28, p. 221—230.
244. *Frick M. H., Balcon R., Cross D., Sowton E.* Hemodynamic effects of nitroglycerin in patients with angina pectoris studied by an atrial pacing method. — *Circulation*, 1968, vol. 37, p. 160—168.

Глава 40

СПАЗМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Ф. Д. ГЕНРИ (PH. D. HENRY)

ИСТОРИЧЕСКОЕ ВВЕДЕНИЕ

Первым, кто предположил, что стенокардия во время физической нагрузки является следствием ишемии миокарда, был Allan Burns (Бернс) (1809) [1], выпускник медицинской школы и блестящий самоучка. Он считал, что пораженные коронарные сосуды действуют как сдавленные жесткие трубки, ограничивающие поступление крови к миокарду, в результате чего возникает состояние, в котором «поступление энергии к сердцу и расход энергии не сбалансированы». Согласно этой концепции, повышение нагрузки на сердце приводит к ишемии миокарда и развитию болевых симптомов. Однако уже Herberden (1772) [2] признал, что стенокардия может возникать и в покое, часто ночью, что не так-то легко объяснить на основе механизма Бернса. В течение XIX в. многие авторы считали, что ангинозные боли являются следствием растяжения аорты или левого желудочка. Предполагалось иногда, что такое растяжение является результатом реакций сужения периферических сосудов; этот синдром был впервые описан Nothnagel (1867) [3] под названием «вазомоторная грудная жаба». Latham (1876) [4] и другие исследователи считали, что загрудинная боль может отражать спазм сердца, но этот механизм не был общепризнан, так как спазм сердца рассматривали как несоместимый с выживанием [5]. В первом издании своего руководства Osler (1892) [6] обсуждал возможность того, что боли в сердце являются результатом увеличения растяжения или напряжения нервов, проходящих в миокарде. Он добавлял также, что «модификацией этой точки зрения является представление о спазме коронарных артерий со значительным повышением внутрисердечного давления». По-видимому, Osler еще находился под влиянием механистических гипотез XIX в. Однако в его второй Люмлейанской лекции по проблеме грудной жабы через 18 лет (1910) [7] эта «модифицированная точка зрения» стала более точной. Он рассмотрел возможную роль спазма большого участка коронарной артерии и указал, что стенокардия может быть связана и с другими расстройствами сосудодвигательных реакций, например с болезнью Рейно или мигренью. На основании своих клинических наблюдений он пришел к выводу, что существуют «данные в пользу склонности склеротических артерий к спазму». Он также рассмотрел возможность влияния на коронарные сосуды «нарушений внутренней секреции, что может способствовать спазму артерий». Итак, XIX в., век рассуждений и споров, выдвинул две на первый взгляд противоречивые «коронарные теории»: жесткие арте-

рии Бернса как пример недостаточности сосудодвигательной функции и атеросклеротический коронарospазм Ослера как пример чрезмерной сосудодвигательной активности.

В 1920-х годах с появлением электрокардиографии началась новая эра в клинической кардиологии. Ранние экспериментальные исследования показали, что повреждение миокарда сопровождается типичными изменениями на ЭКГ, и Smith [8] был первым, кто описал ЭКГ при остром инфаркте миокарда у собаки вследствие перевязки коронарной артерии. Затем Pardee [9] наблюдал подъем сегмента ST, аналогичный описанному Smith, у больных с острым инфарктом миокарда. Впоследствии электрокардиографические наблюдения Pardee подтверждены многими исследователями, и было общепризнано, что значительный подъем сегмента ST и появление Q-волн являются признаками острого инфаркта миокарда. Однако Parkinson и Bedford (1931) [10] одними из первых обратили внимание, что у некоторых больных во время приступа стенокардии отмечается кратковременный подъем сегмента ST, наводящий на мысль об окклюзии коронарной артерии. Они предположили, что в таких случаях изменения на ЭКГ отражают не тромбоз коронарной артерии и инфаркт миокарда, а представляют собой признаки «функциональной ишемии», и сделали вывод: «Трудно представить себе, что функциональная ишемия является следствием иной причины, чем коронарospазм». Явление кратковременного подъема сегмента ST во время приступов стенокардии впоследствии было зарегистрировано многими исследователями [11—13]. В замечательной статье Hausner и Scherf (1933) [14] описали следующие наблюдения во время приступа стенокардии с изменениями на ЭКГ: 1) кратковременные изменения ЭКГ, типичные для внезапной коронарной окклюзии, включая подъем сегмента ST и в одном случае появление Q-волны; 2) частое возникновение приступов в покое, причем их симптомы и признаки устраняются нитроглицерином; 3) приступы с такой же картиной на ЭКГ можно вызвать с помощью нагрузочного теста (подъем по лестнице); 4) у одного и того же больного приступы могут сопровождаться или не сопровождаться повышением артериального давления; 5) иногда изменения на ЭКГ возникают без загрудинной боли; 6) у одного больного приступ сопровождался полиморфной желудочковой экстрасистолой; 7) у двух больных приступы наблюдались очень часто, и через несколько недель или месяцев больные скончались. При вскрытии у этих двух больных отмечено незначительное атеросклеротическое поражение коронарных сосудов. Авторы обсудили возможность того, что приступы являлись следствием сужения коронарной артерии и отметили, что недостаточное расширение коронарных сосудов при физической нагрузке может привести к тем же эффектам, что и сужение сосудов в покое [14]. Vrow и Holman (1933) [15] предположили классификацию видов стенокардии, состоящую из двух групп: стенокардия, вызванная повышением нагрузки на сердце вследствие «ухудшения коронарного кровотока из-за болезни сосудов», и спонтанная стенокардия, скорее всего обуслов-

ленная коронарспазмом и сопровождающаяся значительными изменениями сегмента ST на ЭКГ. Через много лет Prinzmetal и соавт. (1959) [16] описали особый синдром стенокардии покоя, который, по их мнению, связан со спазмом коронарной артерии и является достаточно специфическим, чтобы поставить диагноз без ЭКГ. Более того, они заявили, что этот новый синдром «отличается от классической стенокардии особым типом химических изменений в миокарде». Однако Prinzmetal и соавт. никогда не делали попыток обобщить данные тех 20 случаев, которые они описали в своих работах, а также данные относительно специфических метаболических изменений при этом синдроме. Более распространенным названием этого синдрома оказался термин «вариантная стенокардия», и впоследствии его стали широко использовать для обозначения болевых синдромов, при которых явно отсутствуют специфические признаки, отмеченные Prinzmetal. Например, некоторые авторы использовали этот термин для описания синдрома значительного подъема сегмента ST во время и после физической нагрузки; этот синдром был впервые описан Hausner и Scherf [14].

Спазм коронарной артерии удалось непосредственно продемонстрировать с помощью современного метода коронарной ангиографии. Первые сообщения Arnulf (1959) [17] и Gensini и соавт. (1962) [18], в которых с помощью неселективной коронарной ангиографии были выявлены спазмы коронарных артерий, не привлекли к себе достаточного внимания. Несколькими годами позже Demany и соавт. (1968) [19] и Dhurandhar и соавт. (1972) [20] удалось визуализировать с помощью селективной коронарографии спазм коронарных артерий при болевом синдроме Prinzmetal. Однако с ростом популярности коронарографии спазмы коронарных артерий наблюдали при различных болевых синдромах, включая стенокардию, связанную с физической нагрузкой, и острый инфаркт миокарда. Стало ясно, что у больных с различными клиническими проявлениями стенокардии и с разным строением сети коронарных сосудов проявляются некоторые неадекватные вазомоторные реакции. Следовательно, утверждение Prinzmetal и соавт. [16] о том, что спазм коронарных сосудов обычно связан со специфическими признаками описанного ими вида стенокардии, не всегда подтверждается. Вместе с тем все большее значение приобретают явления, впервые описанные Hausner и Scherf [14], например подъем сегмента ST, не сопровождающийся за грудиной болью [21], транзиторные Q-волны [22], отсутствие изменений артериального давления [23] и прогрессирующее ухудшение состояния миокарда, заканчивающееся острым инфарктом [24, 25].

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕРМИНА «СПАЗМ КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ»

В настоящее время не существует общепринятого определения, что такое спазм коронарной артерии. Термин «спазм» в физиологии гладких мышц обычно относится к сильному длительному

сокращению, которое мешает нормальной работе органа. Поскольку визуализация спазма коронарных артерий у человека возможна только с помощью метода коронарной ангиографии, важно уяснить естественные ограничения этого метода. Во-первых, используемые обычно ангиографические красители являются сильными вазодилататорами; это их свойство потенциально может затруднить выявление реакций сужения коронарных артерий [26, 27]. Во-вторых, даже используя различные ракурсы, при получении ангиограмм довольно трудно восстановить трехмерное изображение просвета коронарных артерий с достаточной точностью; кроме того, нельзя безоговорочно приписывать уровень пространственного разрешения равным 0,1 мм, как утверждают в руководстве по ангиографии [28, 29]. В-третьих, ангиография позволяет эффективно выявлять локальные изменения просвета артерий, в то время как степень диффузных сужений оценить значительно труднее, так как величину просвета необходимо в этом случае соотнести с массой участка миокарда, кровь к которому поступает через данную артерию [29]. В-четвертых, необходимо определить тонус сегментов артерии, соотнеся его с диапазоном вазомоторных реакций в суженном сегменте и в окружающих его нормальных сегментах. Следовательно, для выявления аномальных вазомоторных реакций необходима оценка определенных фармакологических реакций, например вазодилатации в ответ на нитроглицерин и вазоконстрикции в ответ на эргоновин. К сожалению, такие воздействия сложно осуществить и они далеко не безопасны, поэтому их нельзя рутинно использовать при ангиографии. В-пятых, при эксцентрических поражениях артерий нормальный тонус может быть достаточен для сужения просвета до критического уровня; не исключено, что таков механизм образования динамического препятствия кровотоку без нарушения функции гладких мышц [30]. В-шестых, общепризнано, что постановка диагноза спазма коронарной артерии существенно зависит от того, что это явление по своей сути транзиторно, или, точнее, от возможности быстрого исчезновения окклюзии при введении таких мощных вазодилататоров, как нитроглицерин и нифедипин. Однако пока нет общепринятого мнения о том, какая степень устранения сужения должна быть зарегистрирована при этом, чтобы можно было надежно поставить диагноз функционально значимого динамического сужения. Кроме того, пока еще количественно не определена эффективность сосудорасширяющих средств в устранении повышенного тонуса коронарных сосудов. В-седьмых, с помощью коронарной ангиографии можно получить изображение только крупных (эпикардиальных) коронарных артерий, а не мелких (внутримиокардиальных) артерий. В связи с этими ограничениями методики коронарной ангиографии определение спазма коронарной артерии пока остается неясным, что позволяет объяснить поразительную вариабельность частоты выявления спазма коронарных артерий при проведении коронарографии в различных ангиографических лабораториях.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ СПАЗМА КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Как упоминалось выше, постановка диагноза спазма коронарной артерии зависит от протокола ангиографического исследования и его интерпретации, которые варьируют от лаборатории к лаборатории [34]. Вариабельность диагностики спазма коронарной артерии определяется также премедикацией спазмолитическими препаратами (нитроглицерин и диазепам), отказом от использования сосудосуживающих препаратов (эргоновин), когда предполагают, что выявляемые симптомы связаны с атеросклеротическим поражением коронарных артерий, а также невозможностью получить несколько изображений в разных ракурсах. Несмотря на то что некоторые авторы считают коронарспазм довольно редким явлением, другие приписывают аномальным вазомоторным реакциям коронарных сосудов значение в развитии ишемии миокарда [23]. Так, спазм коронарных артерий играет важную роль в развитии многих синдромов, включая внезапную смерть [32], инфаркт миокарда с внутрикоронарным тромбозом и без него [33—38], различные формы стенокардии покоя [23] и стенокардии напряжения [39—45]. В Японии спазм коронарных артерий, по-видимому, встречается чаще, чем в Северной Америке, и в японских медицинских учреждениях диагноз вариантной стенокардии ставится у большего процента больных (10—70) с ангинозными симптомами [46, 47]. Это говорит о том, что пока еще недостаточно точно оценена распространенность спазма коронарных артерий в различных популяциях.

КЛИНИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ, СВЯЗАННЫЕ СО СПАЗМОМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Специалисты в области электрокардиографии в 30-х годах начали использовать понятие спазма коронарной артерии для объяснения электрокардиографических изменений, характерных для ишемии миокарда, которые наблюдаются в покое в отсутствие каких-либо причинных факторов [10, 14, 15]. Prinzmetal и соавт. [16] описали особый болевой синдром, который, по их мнению, обусловлен спазмом коронарных артерий и имеет следующие дифференциальные признаки: 1) ангинозная боль возникает в покое или во время «обычной деятельности»; 2) боль локализуется в тех же участках, что и при других формах стенокардии, но более продолжительна и значительно сильнее; 3) наблюдается циклическое повторение боли каждые несколько минут; 4) приступы характеризуются отчетливыми периодами усиления и ослабления боли приблизительно равной продолжительности (в отличие от классической стенокардии, при которой, как считается, эпизоды ослабления боли значительно короче эпизодов ее усиления); 5) боль обычно возникает в одно и то же время дня; 6) нитроглицерин быстро снимает боль; 7) во время приступа на ЭКГ

выявляется существенный подъем сегмента ST с последующим снижением его при ослаблении боли; 8) подъем сегмента ST в различных отведениях выглядит так же, как и при инфаркте миокарда в той же области сердца; 9) на ЭКГ выявляются также изменения комплекса QRS; 10) приступы стенокардии осложняются аритмией и атриовентрикулярной блокадой; 11) в участках миокарда, где ранее отмечен подъем сегмента ST, возможно развитие инфаркта; 12) приступы нельзя вызвать с помощью физической нагрузки; 13) приступы сопровождаются явными изменениями метаболизма, отличными от тех, которые характерны для классической стенокардии; 14) постановка диагноза возможна только после тщательного обследования; 15) «острое эмоциональное потрясение» не приводит к развитию приступа в отличие от классической стенокардии; 16) больные чувствуют себя хуже, чем при классической стенокардии; 17) гидрохлорид нилидрин способствует предотвращению приступа; 18) приступ захватывает только один участок миокарда в отличие от классической стенокардии, которая, как считается, представляет собой «диффузное поражение сердца» [16]. Такое красочное описание синдрома Принцметала имеет один недостаток: не все его положения подтверждаются клиническими данными. Кроме того, пока не удалось соответствующим образом обобщить результаты многочисленных опубликованных работ по поводу стенокардии покоя с инфарктоподобными изменениями на ЭКГ.

Как подчеркивали Maseri и соавт. (1978) [23], ангиография позволяет выявить спонтанные и вызванные эргоновином спазмы коронарных артерий у больных с различным течением болезни и различной степенью поражения коронарных сосудов. Подъем сегмента ST, описанный Prinzmetal и соавт., не является достаточно специфическим признаком, так как у одного и того же больного подъем или угнетение сегмента ST в одном и том же отведении могут возникать при приступах загрудинной боли или без нее. Более того, важно исключить мелкоочаговый или «неполный» инфаркт миокарда у больных со стенокардией покоя и повторными изменениями на ЭКГ [24, 25]. Согласно наблюдениям Принцметала, у 12 больных в итоге развился инфаркт миокарда, но клинические данные опубликованы не были. Очень трудно дифференцировать вариантную стенокардию Принцметала, заканчивающуюся инфарктом, и так называемую нестабильную стенокардию [24, 25]. Утверждение Принцметала о том, что стенокардия со значительным подъемом сегмента ST не имеет никакого отношения к стенокардии, вызываемой физической нагрузкой, противоречит ранним работам [14] и не было подтверждено в последних исследованиях. Наоборот, накапливается все больше данных, указывающих на то, что спазм коронарной артерии может быть вызван физической нагрузкой [39—45].

Роль спазма коронарной артерии в развитии острого инфаркта миокарда остается в значительной мере спорным вопросом [23, 33—38]. Согласно мнению ряда авторов, спазм коронарной артерии не относится к патогенетическому механизму острого ин-

фаркта миокарда, так как у большинства больных с трансмуральным инфарктом миокарда при ангиографии или вскрытии выявляется тромбоз коронарной артерии [48]. Однако такой вывод может быть несколько преждевременным, так как еще не полностью поняты события, приводящие к тромбозу артерии. Кроме того, повреждение артерии после развития инфаркта миокарда может способствовать спазму [49, 50].

Хорошо известно, что спазм коронарной артерии может сопровождаться серьезными нарушениями ритма желудочков и атриовентрикулярной блокадой [23, 46]. Поэтому мало причин сомневаться в справедливости гипотезы Leary (1935) [32] о том, что спазм коронарной артерии может быть фактором, обуславливающим внезапную смерть [51—53].

В заключение отметим, что спазм коронарных артерий, по-видимому, связан с различными синдромами ишемии миокарда, и в целом не получило подтверждения представление о том, что он проявляется только при специфическом синдроме, описанном Принцметалом.

ПРОГНОЗ СПАЗМА КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ

Прогноз развития синдрома при спазме коронарной артерии существенно зависит от метода диагностики и от классификации больных. В медицинских центрах, где часто используют эргономический тест для обследования больных с отдельными приступами за грудиной боли, прогноз вариантной стенокардии обычно благоприятный, на что первыми обратили внимание японские исследователи [46]. Waters и соавт. (1983) [54] и Bott-Silverman и Neupler (1983) [55] недавно еще раз показали, что в случае вариантной стенокардии часто наблюдаются ремиссии, и смертность от заболевания сердца при медикаментозной терапии больных относительно невысока. Однако, поскольку у большинства больных с вариантной стенокардией выявляются признаки атеросклероза коронарных сосудов, было бы очень важно полнее охарактеризовать историю болезни больных с явной ремиссией.

АНАТОМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СПАЗМА КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ

Спазм коронарной артерии часто захватывает те сегменты сосуда, в которых, согласно ангиографическим данным, выявляются признаки атеросклероза [23, 30]. Однако ряд авторов считают, что спазм может возникнуть и в «нормальной» или «почти нормальной» артерии [56, 57]. Как отмечено выше, возможность выявления ишемической болезни сердца с помощью коронарографии до некоторой степени ограничена. В многочисленных работах, посвященных анализу обструктивных повреждений сосудов ангиографическим методом по сравнению с патологоанатомическими данными, показано, что при ангиографии часто недооценивается

степень сужения просвета артерий [28, 29]. При ангиографии обычно удается обнаружить только те участки артерий, где диаметр ее сильно уменьшается или имеются другие резкие изменения формы просвета, но практически невозможно выявить такие заболевания стенки сосуда, при которых отсутствуют сужения или расширения просвета [58]. Кроме того, неудача в выявлении изменений анатомии коронарной артерии при ангиографии вовсе не позволяет исключить микроструктурные или биохимические повреждения, связанные с атеросклерозом. Следовательно, нельзя рассматривать артерию как «нормальную» только на основании данных коронарографии; такой вывод означает лишь плохую осведомленность исследователя в клеточной биологии ранней стадии атеросклероза.

Относительно мало работ посвящено изучению патологической анатомии сосудов больных, у которых при коронарографии был выявлен спазм коронарной артерии. Поскольку атеросклероз коронарных сосудов широко распространен именно в тех странах, где рутинно применяется метод коронарографии, неудивительно, что у многих больных, у которых при жизни был зарегистрирован спазм коронарной артерии, при вскрытии выявляется атеросклероз коронарных сосудов [14, 16, 20, 59—63]. Согласно результатам ряда работ, у больных со стенокардией, являющейся следствием вазоспазма, развивается фиброзная дисплазия средней оболочки сосудов [64, 65]. Эти данные очень интересны, так как известно, что вазоспастический синдром как следствие интоксикации препаратами спорыньи (эрготизм) также вызывает сходные фиброзно-мышечные поражения средней оболочки сосудов [66].

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ СПАЗМА КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ

Препараты спорыньи

Загрудинная боль является одним из основных симптомов эрготизма [66—68]. Labbé (1929) [69] первым предположил, что спазмом коронарной артерии можно объяснить возникновение загрудинной боли, наблюдаемой у людей после внутримышечного введения эрготамина — вещества, выделенного Stoll из спорыньи 10 годами ранее. Позже некоторые исследователи использовали эрготамин для угнетения симпатического тонуса при попытках облегчить стенокардию [70]. Master и соавт. (1948) [71] использовали эрготамин для повышения специфичности двухступенчатого нагрузочного теста при диагностике заболевания коронарных сосудов. Они считали, что это вещество устраняет ложноположительные результаты, обусловленные повышенной активностью симпатических нервов. Однако Scherf и Schlachman (1948) [72], исследуя действие эрготамина у больных ИБС, пришли к выводу, что этот препарат провоцирует приступ стенокардии и противо-

показан таким больным. Stein (1949) [73] использовал другое производное спорыньи — эргоновин — для диагностической провокации стенокардии при проведении нагрузочного теста Мастера. Эргоновиновый тест Штейна начали вновь использовать лишь через много лет в качестве способа провокации спазма коронарной артерии во время коронарографии. Neuplet и соавт. (1978) [74] показали, что внутривенно введенный 9 больным с вариантной стенокардией эргоновин в дозе 1,3—4 мкг/кг вызывает спазм коронарной артерии. Они пришли к выводу, что эргоновиновый тест безопасен и полезен для выявления склонности коронарных артерий к спазму. Curry и соавт. (1979) [75], оценивая эргоновиновый тест для больных с вариантной стенокардией, пришли к заключению, что между спонтанными приступами стенокардии и приступами, вызванными эргоновином, много общего. Téghoux и соавт. (1979) [76] использовали ступенчатое увеличение дозировки эргоновина (от 25 до 400 мкг) при внутривенном введении для оценки антиангинальной эффективности дилататоров коронарных сосудов на основании повышения толерантности к эргоновину. Cirgiano и соавт. (1979) [77] показали, что эргоновин вызывает умеренное диффузное сужение коронарных артерий у больных без спонтанной вазоспастической стенокардии, а у больных, страдающих вариантной стенокардией, он провоцирует сильное (>85%) локальное или диффузное сужение сосудов. Позднее Cannon и соавт. (1983) [78] получили данные о том, что у некоторых больных с атипичной загрудинной болью эргоновин вызывает уменьшение коронарного кровотока, сопровождающееся характерной загрудинной болью, что было объяснено чрезмерным сужением внутримиокардиальных сосудов. В целом эти результаты подтверждают представление о том, что коронарные артерии у больных с вазоспастической стенокардией гиперчувствительны к сосудосуживающему действию эргоновина.

Гиперчувствительность артерий больных с вариантной стенокардией к эргоновину малоинформативна с точки зрения взаимодействия специфических рецепторов с фармакологическими факторами. Известно, что препараты спорыньи действуют на разнообразные моноаминергические рецепторы, включая α -адренергические, серотониновые, гистаминовые и дофаминовые рецепторы [79]. Кроме того, эффекты препаратов спорыньи часто неоднозначны; например, в низкой концентрации эти препараты могут оказывать агонистическое действие, а в высокой — антагонистическое [79]. Заметим, кстати, что механизм действия эргоновина на артерии больных с использованием специфических блокаторов моноаминергических рецепторов изучен не был. Однако на изолированных коронарных артериях собаки было показано, что блокаторы серотониновых рецепторов (метизергид, ципрогептадин) более эффективно угнетают действие эргоновина, чем блокаторы α -рецепторов (фентоламин, празозин), что свидетельствует в пользу серотонинергического механизма действия эргоновина [80—83]. Аналогичные результаты были недавно получены нами на изолированных коронарных артериях человека. Мы показали, что кетан-

серин (блокатор серотониновых рецепторов) в отличие от празозина способен вызывать расслабление сосудов [84]. Это говорит о том, что эргоновин действует на коронарные артерии собаки и человека сходным образом.

α -Адренергические вещества

Orlick и соавт. (1977) [85] показали, что введение фентоламина (блокатора α -рецепторов) больным с нормальной иннервацией сосудов сердца или с трансплантированным сердцем повышает кровоток в венечном синусе, который измеряли методом термодиллюции. Они пришли к заключению, что коронарный кровоток в покое у человека регулируется уровнем α -адренергического тонуса. Mudge и соавт. (1976) [86] провели оценку прессорного рефлекса на холод (тест проводится путем погружения одной руки на 1 мин в воду с температурой 0°C), регистрируя одновременно кровоток в венечном синусе методом термодиллюции. При проведении этого теста у больных ИБС сопротивление коронарных сосудов увеличивалось (у здоровых добровольцев оставалось неизменным), и этот эффект блокировался фентоламином. Их вывод состоял в том, что тонус коронарных сосудов, определяющийся адренергическим влиянием, может играть существенную роль в развитии ишемии миокарда больных ИБС. Levene и Freeman (1976) [87] наблюдали исчезновение спазма коронарной артерии у больных со стенокардией при введении фентоламина. Кроме того, продолжительный прием феноксibenзамина улучшает переносимость нагрузки, оцениваемую методом велоэргометрии, и ослабляет или даже устраняет изменения на ЭКГ после нагрузки. Это свидетельствует о том, что спазм коронарных сосудов опосредован α -адренергическим механизмом. Yasue и соавт. (1974) [88] удалось спровоцировать болевой приступ у больных с вариантной стенокардией путем введения адреналина, а феноксibenзамин предотвращал у одного из больных спонтанные приступы. Изопроterenол (изадрин) и пропранолол не оказывали влияния на эти приступы. Тем же авторам (1976) [89] удалось вызвать приступ вариантной стенокардии путем введения адреналина на фоне премедикации пропранололом. Эти наблюдения указывают, что спазм коронарной артерии частично опосредован активацией α -адренергических рецепторов. По данным Ricci и соавт. (1979) [90], у 4 больных с вариантной стенокардией фентоламин снимал спазм коронарной артерии, выявляемый при коронарографии, и увеличивал кровоток в венечном синусе, регистрируемый методом термодиллюции. Более того, пероральный прием феноксibenзамина в ходе реабилитационной терапии приводил к исчезновению симптомов в течение периода наблюдения до 12 мес. Bertrand и соавт. (1980) [91] разработали для лечения таких больных методику аортокоронарного шунтирования с частичной денервацией сердца (плексэктомией) и наблюдали более эффективное устранение симптомов болезни, чем у больных с одним аортокоронарным шунтированием. Описана (1981) [92] история

болезни больного, у которого плексэктомия не привела к улучшению состояния и которому осуществили полную симпатическую денервацию сердца с помощью гомотрансплантации, что ослабило проявления болевого синдрома и частично устранило признаки ИБС на ЭКГ. Все эти результаты согласуются с утверждением, что спазм коронарной артерии может иметь нейрогенную или, точнее, норадренергическую природу.

Однако представление о том, что спазм коронарной артерии опосредован α -адренергическим механизмом, не получило подтверждения. Chierchia и соавт. (1983) [93] показали, что у больных с вариантной стенокардией тест прессорного рефлекса на холод, внутривенное введение фенилефрина или норадреналина на фоне β -блокады не потенцируют сосудосуживающее действие эргоновина на коронарные артерии и не уменьшают число и тяжесть спонтанных ишемических приступов, выявляемых при непрерывном электрокардиографическом мониторинге. Кроме того, непрерывное введение фентоламина в дозе, при которой систолическое артериальное давление снижается на 15 мм рт. ст., не способно предотвратить ишемические приступы. Buda и соавт. (1981) [94] с помощью ангиографии и скинтиграфии с использованием таллия наблюдали спонтанный спазм коронарной артерии у больного с трансплантированным сердцем и сделали вывод, что вегетативная иннервация не является обязательным фактором развития спазма коронарной артерии. Weber и соавт. (1983) [95] обнаружили, что плексэктомия, несмотря на существенное снижение активности вегетативной иннервации сердца, оказалась неэффективна для устранения симптомов и признаков ишемии у 3 больных с вариантной стенокардией. Robertson и соавт. (1979) [96] изучили метаболизм катехоламинов у 3 больных с вариантной стенокардией и показали, что приступы стенокардии не сопровождаются повышением уровня катехоламинов в плазме крови ни в начале, ни в конце приступа. Более того, у одного больного пропранолол не оказывал благоприятного действия и увеличивал продолжительность эпизода подъема сегмента ST на ЭКГ, что согласуется с результатами других работ [97—99].

Определенные выводы на основании этих противоречивых результатов сделать трудно. В последней работе Chierchia и соавт. (1983) [93] высказывается сомнение относительно роли α -адренергических механизмов для развития вариантной стенокардии. Для выяснения значения α -адренергической стимуляции в инициации спазма коронарных сосудов необходимы дополнительные исследования с использованием таких селективных блокаторов α -рецепторов, как празозин.

Гистаминергические вещества

Согласно современным представлениям, гистамин действует на два основных подкласса специфических рецепторов, называемых H_1 - и H_2 -рецепторы. Селективным агонистом H_1 -рецепторов является 2-метилгистамин, в то время как 4-метилгистамин, дима-

прит и импромидин избирательно действуют на H_2 -рецепторы. Такие классические антигистаминные препараты, как бенадрил, хлортриметон, мепирамин и пириламид, блокируют H_1 -рецепторы, а циметидин, тиотидин, метиамид и буринамид оказывают избирательное блокирующее действие на H_2 -рецепторы. У больных характерными симптомами вариантной стенокардии внутривенное введение гистамина после блокады H_2 -рецепторов циметидином, согласно данным Grinsburg и соавт. (1981) [100], вызывает спазм коронарной артерии. К сожалению, авторам не удалось показать, что блокаторы H_1 -рецепторов эффективны для предотвращения ишемических приступов, вызываемых гистамином. Следовательно, для точного выяснения возможности участия гистаминергических механизмов в инициации спазма коронарной артерии необходимы дальнейшие исследования.

Серотонинергические вещества

Несмотря на то что серотонин, по-видимому, принимает участие в развитии таких вазоспастических синдромов, как головная боль вследствие расстройства мозгового кровообращения, спазм сосудов мозга и феномен Рейно, мало известно о значении серотонина и его антагонистов в развитии стенокардии, связанной со спазмом коронарной артерии. Это удивительно, так как его относительно мощное сосудосуживающее действие на крупные коронарные артерии, выделенные из сердца человека, обезьяны и собаки, хорошо доказано. В предварительном исследовании мы показали, что на фоне β -блокады серотонин оказывает приблизительно в 10 раз более сильное действие, чем норадреналин, на крупные субэпикардальные артерии сердца человека [84]. Насколько нам известно, провокационных тестов с исследованным серотонином, аналогичных выполняемым с эргоновином и гистамином, не проводилось. Основное затруднение в оценке роли серотонинергических механизмов у человека связано с отсутствием антисеротониновых препаратов, обладающих достаточной специфичностью и низкой токсичностью. Такие соединения, как метизергид (производные эрготамина), дпрогептадин и пизотифен, не являются селективными и обладают существенным блокирующим действием на α -адренергические и гистаминовые рецепторы [79, 101]. Длительный прием метизергида небезопасен, так как это соединение вызывает развитие эрготизма, включая фиброзные изменения. При использовании препаратов, подобных имипрамину (дпрогептадин и пизотифен), развивается типичная антигистаминная интоксикация и часты случаи их плохой переносимости, так как они оказывают угнетающее действие на ЦНС. Кетансерин, блокатор серотониновых рецепторов, избирательно действующий на гладкие мышцы и тромбоциты, мало влияет на ЦНС и оказался полезен для дифференциации моноаминергических рецепторов *in vitro* [102]. Однако его специфичность к серотониновым рецепторам по сравнению с α -адренергическими недостаточна, а для подавления действия эргоновина на артерии

человека *in vitro* необходимы высокие дозы кетансерина. Внутривенное введение кетансерина до сих пор было неэффективным для предотвращения спазма коронарной артерии, вызванного эргоновином у больных с вариантной стенокардией [103].

Пептидергические вещества

Несмотря на то что некоторые вазоактивные пептиды, такие как ангиотензин II и вазопрессин, являются сильными сосудосуживающими средствами, насколько нам известно, их эффекты у больных с вазоспастической стенокардией не исследовались.

Холинергические вещества

Yasue и соавт. (1974) [88] обнаружили, что метахолин, агонист мускариновых рецепторов, провоцирует сердечные приступы у больных с вариантной стенокардией. Кроме того, длительное лечение таких больных атропином приводит к исчезновению спонтанных приступов. Используя ангиографию, Endo и соавт. (1976) [104] показали, что метахолин вызывает спазм коронарной артерии у больных, подверженных вазоспазмам. Выявление такого эффекта при ангиографии очень важно, так как подкожное введение метахолина может привести к значительному снижению артериального давления и тахикардии, т. е. к таким изменениям гемодинамики, которые уменьшают порог возникновения стенокардии и могут заканчиваться приступами загрудинной боли и без спазма коронарной артерии.

По сравнению с эргоновиновым тестом, провокация спазма метахолином оказалась менее надежной и не получила широкого распространения. Может показаться удивительным, что агонист мускариновых рецепторов, который должен оказывать сосудорасширяющее действие, вызывает спазм коронарной артерии у больных с вариантной стенокардией. Последние работы, осуществленные в ряде лабораторий на изолированных артериях и венах, подтвердили, что для того, чтобы ацетилхолин, поступающий из крови, а не высвобождающийся из нервных окончаний, оказывал релаксирующее действие на сосуды, необходим интактный эндотелий [105]. Механическая денудация эндотелия приводит к изменению знака реакции, и ацетилхолин вызывает сужение сосудов [105]. Если к поверхности сосуда с денудированным эндотелием приложить другой с интактным эндотелием, то реакция расслабления сосуда восстанавливается; это позволяет предположить, что дилатация сосуда определяется некоторым особым фактором, выделяемым эндотелиальными клетками и диффундирующим в глубь стенки сосуда [106]. Однако до сих пор неизвестно значение этого эндотелиального фактора для вазомоторных реакций *in vivo* или, точнее, для нейрогенной холинергической вазодилатации.

Прекращение применения сосудорасширяющих средств

Пока не до конца выяснены биохимические механизмы развития толерантности интактного организма и изолированных артерий к действию нитратов [107]. Внезапное прекращение поступления нитратов в организм может завершиться развитием вазоспастического синдрома. Например, если рабочие, занятые в производстве пороха, внезапно переходят на другую работу и исчезают условия постоянного поступления нитратов в организм, то у них, согласно опубликованным данным, появляются признаки вазоспазма, вплоть до ишемии и инфаркта миокарда [108]. Повидимому, длительное сосудорасширяющее действие нитратов способствует возникновению регуляторной сосудосуживающей гиперактивности, которая проявляется при внезапном отсутствии нитратов. Однако совершенно неясно, какие фармакологические рецепторы и биофизические свойства мембраны обуславливают сосудосуживающую гиперактивность.

МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ СПАЗМА КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

В настоящее время мало данных относительно механизма развития спазма коронарной артерии, и эти данные часто противоречивы, поэтому необходимы дальнейшие исследования. Хорошей основой будущих исследований служит экспериментальное изучение сократительных процессов в изолированных коронарных артериях человека, а также изменения реактивности сосудов при атеросклерозе.

Ритмическая сократительная активность изолированных коронарных артерий человека

Ross и соавт. [109] первыми отметили, что тонус изолированных коронарных артерий человека в состоянии покоя колеблется. Период колебаний довольно большой, обычно от 0,5 до 1,5 мин. Амплитуда таких колебаний увеличивается под действием большинства сосудосуживающих препаратов, включая калий, кальций, порадреналин, гистамин, серотонин, ацетилхолин и тромбоксан А₂. На эту ритмическую активность слабо или вовсе не влияют блокаторы моноаминергических рецепторов, такие как празозин, пропранолол и кетансерин [110]. Вместе с тем ритмическая активность угнетается при понижении концентрации кальция и под действием кальциевых антагонистов, местных анестетиков и нитроглицерина. Такой ритмической активности не наблюдается в изолированных эпикардиальных коронарных артериях большинства обычных лабораторных животных, включая собак, свиней, овец и быков. Иногда ритмические сокращения удается выявить в коронарных артериях кролика, однако эти внутримиекардиальные артерии очень малы и их трудно выделить не повреждая (P. D. Henry, неопубликованные данные). Гладкие мыш-

цы сосудов (ГМС) можно разбить на две большие группы: ГМС, спонтанно генерирующие потенциалы действия *in vitro* («активные ГМС»), и ГМС, в которых потенциалы действия не возникают сами по себе («неактивные ГМС») [111]. Примерами активной и неактивной ГМС являются гладкие мышцы воротной вены крысы и аорты кролика соответственно. Однако ГМС, являющиеся неактивными *in vitro*, можно заставить генерировать спонтанные потенциалы действия путем понижения проводимости K^+ с помощью ионов бария или тетраэтиламмония, что свидетельствует об отсутствии принципиальных различий между активными и неактивными ГМС. К сожалению, нет данных относительно электрофизиологических свойств гладкой мышцы коронарных артерий человека. Поэтому пока рано делать какие-либо выводы по поводу возможной взаимосвязи электрической активности и ритмических сокращений *in vitro*, с одной стороны, и спазмом коронарной артерии *in vivo* — с другой.

Взаимосвязь между эндотелием, тромбоцитами и вазоактивными липидами

Эндотелиальные клетки являются одним из важных мест синтеза простаглицина (PGI_2), одного из простагландинов, обладающего способностью расслаблять гладкую мышцу и препятствовать агрегации тромбоцитов. Поэтому при повреждении эндотелия при атеросклерозе [112, 113] или в зоне стеноза [114] может снижаться способность стенки сосуда синтезировать PGI_2 , что будет определять вазомоторное сужение сосуда и накопление на его внутренней поверхности тромбоцитов [115]. Прикрепившиеся к стенке тромбоциты могут усиливать реакцию на повреждение эндотелия вследствие выделения сосудосуживающих и способствующих агрегации факторов, таких как тромбоксан A_2 и серотонин. Было показано, что стенокардия, в частности вазоспастическая стенокардия, может сопровождаться повышением содержания тромбоксана A_2 в крови венечного синуса [116, 117]. Однако довольно трудно установить причинно-следственную связь между высвобождением в кровь тромбоксана A_2 и стенокардией.

Как отмечено выше, при повреждении эндотелия также может изменяться реактивность артерий. Исследования на изолированных артериях показали, что релаксация в ответ на действие таких веществ, как ацетилхолин [105, 106], брадикинин [118] и тромбин [50], развивается только при сохранении целостности эндотелиального слоя. Денудация эндотелия изменяет реакцию артерий на эти вещества от дилатации до констрикции. И релаксация, и сужение ГМС, вызванные ацетилхолином, блокируются атропином. Природа релаксирующего фактора, выделяемого эндотелием, неизвестна. Однако показано, что блокирование циклооксигеназы и липооксигеназы не устраняет расслабления сосудов, опосредованного эндотелием, т. е. активным началом не являются такие продукты метаболизма арахидоновой кислоты, как простагландины или лейкотриены [106]. Выяснение роли эндотелиаль-

ных клеток в регуляции вазомоторных реакций представляется очень важным, так как повреждение функций эндотелия может возникать при различных патологических процессах, протекающих у больных ИБС. Связь между повреждением эндотелия, изменением вазомоторных реакций и тромбогенезом требует дальнейшего изучения.

Взаимосвязь между атеросклерозом и регуляцией вазомоторных реакций

Атерогенные процессы могут влиять на регуляцию коронарного кровообращения не только вследствие образования obstructивных поражений или повреждения эндотелия, но и через другие факторы. Изменение состава липидов крови может потенциально влиять на липидный состав клеточной мембраны тромбоцитов [119] и гладкомышечных клеток [120]. Гиперхолестеринемия способна оказывать влияние на функции тромбоцитов, в результате чего может изменяться их агрегационная способность [119]. Гиперхолестеринемия у кроликов, например, может изменять реакции артерий на различные вазоактивные соединения. Например, при гиперхолестеринемии часто выявляется гиперчувствительность аорты кролика к эргоповину и серотовину. Она может быть опосредована изменениями рецепторов мембран гладкомышечных клеток. С помощью методов оценки связывания радиоактивных лигандов и ауторадиографии рецепторов у кролика с развитым атеросклерозом было обнаружено увеличение плотности серотониновых рецепторов во внутренней оболочке и внутреннем слое средней оболочки аорты [121]. Воздействие на изолированные сонные артерии собаки среды с высоким содержанием холестерина увеличивает их чувствительность к сосудосуживающему действию ионов кальция. Пока неясно, отражает ли этот эффект усиление поглощения Ca^{2+} гладкомышечными клетками или же при этом повреждаются механизмы выведения Ca^{2+} . Повышение содержания холестерина в мембране угнетает активность (Na^+, K^+) -АТФазы в различных мембранных препаратах [122]. Чувствительность транспортных систем мембраны к изменению их липидного микроокружения является важным фактором, так как угнетение процессов выведения Ca^{2+} может усиливать реакции на те сосудосуживающие вещества, которые стимулируют поступление Ca^{2+} в клетки. Shimokawa и соавт. (1983) [123] удалось спровоцировать спазм коронарной артерии мини-свиньи с атеросклерозом коронарных сосудов путем введения ей гистамина на фоне действия циметидина. Такую констрикторную реакцию можно было предотвратить с помощью дифенгидрамина — блокатора H_1 -рецепторов.

Неизвестно, сопровождается ли изменениями реактивности коронарных артерий гиперхолестеринемия у человека. Показано, что больные атеросклерозом дают сильную реакцию на холод при проведении теста прессорного рефлекса, что указывает на возможную роль изменения норадренергических реакций [124].

Действие ионов металлов

Эксперименты с использованием K^+ -селективных электродов выявили, что в ишемических участках миокарда концентрация K^+ может возрастать до 15 мМ и более [125]. Несмотря на то что в такой концентрации ионы K^+ вызывают сильное сужение гладких мышц сосудов, его участие в регуляции сопротивления внутримиекардиальных коронарных сосудов во время ишемии пока недостаточно изучено. Нам удалось показать, что нанесение раствора с высокой концентрацией K^+ на внешнюю поверхность эпикардиальных коронарных артерий собаки *in situ* оказывает сильное и продолжительное сосудосуживающее действие, в то время как другие вещества, в том числе норадреналин и ангиотензин II, в таких условиях не способны вызвать сужения артерий [125].

Определенную роль в развитии спазма коронарных артерий может играть дефицит Mg^{2+} [126]. Если изолированную коронарную артерию собаки поместить в среду, не содержащую ионов Mg^{2+} , то ее реакции на действие различных сосудосуживающих веществ, включая норадреналин, ацетилхолин, серотонин, ангиотензин II и калий, усиливаются [126].

Влияние ионов водорода

Снижение активности ионов водорода путем гипервентиляции или введения в кровь трис-буфера может вызвать спазм коронарной артерии, и было предложено использовать эти способы в качестве провоцирующих тестов для диагностики вазоспастической стенокардии [127]. Спазм коронарной артерии после физической нагрузки может быть связан с гипервентиляцией, однако еще мало данных об изменении кислотно-щелочного равновесия у больных со спазмами коронарной артерии, вызванными физической нагрузкой.

МЕТОДЫ ТЕРАПИИ

Эффективность антагонистов Ca^{2+} при лечении вариантной стенокардии была впервые обнаружена японскими учеными и затем многократно подтверждена. В Японии исследования проводились в 11 медицинских центрах у 243 больных (без контрольной группы). Получено, что нифедипин (30—60 мг/сут), дилтиазем (90—240 мг/сут) и верапамил (120—130 мг/сут) эффективно угнетали симптомы или полностью подавляли приступы вариантной стенокардии у 94, 91 и 86% больных соответственно [128]. В отличие от них β -блокаторы, назначаемые отдельно, дают облегчение лишь в 11% случаев. В аналогичном исследовании, проведенном в ряде медицинских центров США, показано, что устранение симптомов при применении нифедипина наблюдается в 63% случаев [129]. Нифедипин, дилтиазем и верапамил были эффективны для устранения приступов загрудинной боли, вызываемых эргоновином, у больных с предполагаемым диагнозом вазоспастиче-

ской стенокардии [130]. В одной из последних работ было показано, что антагонисты Ca^{2+} устраняли симптомы стенокардии у большинства больных со спазмом коронарной артерии, в то время как динитрат изосорбида при средней дозе 80 мг/сут часто был неэффективен [55]. Однако в рандомизированном исследовании не удалось выявить различия эффективности динитрата изосорбида и нифедипина для устранения спазма коронарной артерии [131]. Оценку этим работам дать трудно, так как дозировка препаратов часто выбиралась произвольно.

Как упомянуто выше, изменения физиологических свойств мембраны при атеросклерозе могут способствовать усилению поступления Ca^{2+} в гладкомышечные клетки, что позволяет объяснить развитие чрезмерной вазоконстрикторной реакции. Нарушение поступления Ca^{2+} в клетки или его выведения из клеток, как полагают, может служить патофизиологическим механизмом различных гипертензивных синдромов [132]. Следовательно, если изменение поступления Ca^{2+} в клетки играет некоторую роль в патогенезе аномальных вазоконстрикторных реакций, то использование антагонистов Ca^{2+} было бы специфическим методом терапии. Однако следует подчеркнуть, что антагонисты Ca^{2+} блокируют сосудосуживающее действие многих эндогенных вазоконстрикторов, в том числе норадреналина, серотонина, ангиотензина II и тромбоксана A_2 . Следовательно, для выяснения механизма действия антагонистов Ca^{2+} *in vivo* необходимы детальные исследования реакции рецепторов на фармакологические воздействия [130].

Несмотря на то что тромбоциты могут принимать участие в инициации или усилении спазма коронарной артерии, не обнаружено благоприятного действия внутривенного введения простаглицина или ингибиторов циклооксигеназы [116, 117, 133, 134].

Показания к хирургическому лечению больных со спазмом коронарной артерии те же, что и для больных со стенокардией, не связанной со спазмом. Структурные поражения при этом можно устранять методами аортокоронарного шунтирования [46] или подкожной транслюминальной ангиопластики [135]. Однако эти методы не позволяют устранить вазоспастический компонент заболевания.

* * *

Концепция спазма коронарной артерии основана на результатах клинической коронарографии, выявляющей стабильное, чувствительное к вазодилаторам сужение коронарных артерий, при котором у больных проявляются симптомы и признаки ишемии миокарда. У большинства больных со спазмом коронарной артерии обнаруживают ангиографические признаки коронарного атеросклероза. Спазм одной из главных эпикардиальных коронарных артерий может вызывать значительные изменения на ЭКГ, включая транзиторный подъем сегмента ST и появление Q-волны. Хотя повторный значительный подъем сегмента ST часто возни-

кает у больных с вариантной стенокардией Принцметала, аналогичные изменения на ЭКГ могут наблюдаться и при других болевых синдромах, в том числе стенокардии напряжения, а также стенокардии предынфарктного состояния и после развития инфаркта миокарда. Кроме того, имеются данные, свидетельствующие, что спазм коронарной артерии может играть определенную роль в патогенезе инфаркта миокарда и внезапной смерти.

Механизмы вазомоторных реакций, обуславливающие чрезмерный тонус артерий, пока плохо понятны. Провокация спазма коронарной артерии эргоновином и его устранение под действием антагонистов Ca^{2+} практически не дают информации о роли специфических рецепторов, так как эргононии способен влиять на различные моноаминергические рецепторы, а антагонисты Ca^{2+} являются эффективными блокаторами многих эндогенных вазоконстрикторов.

Экспериментальные данные показывают, что физиологические свойства мембраны гладкомышечных клеток могут изменяться в среде с высоким содержанием холестерина, причем изменения могут затрагивать моноаминергические рецепторы и системы транспорта ионов. Следовательно, спазм коронарных сосудов может быть результатом изменения физиологических свойств клеточной мембраны при атеросклерозе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Burns A. Observations on some account of the most frequent and important disease of the heart. Edinburgh: J. Muirhead, 1809, p. 136—163.
2. Herberden W. Some account of a disorders of the breast. — R. Coll. Phys. Med. Trans., 1772, vol. 2, p. 59—67.
3. Nothnagel H. Angina pectoris vasomotoria. — Dts. Arch. Klin. Med., 1867, vol. 3, p. 309—322.
4. Latham P. M. Collected works. Vol. 1. London: New Sydenham Society, 1876. Lecture 37, p. 445—463.
5. Hale E. M. Lectures on disease of the heart. New York: Boericke and Tafel, 1871, p. 56.
6. Osler W. The principles and practice of medicine. New York: W. D. Appleton and Co, 1892, p. 656.
7. Osler W. The lumleian lectures on angina pectoris; lecture II. — Lancet, 1910, vol. 1, p. 839—844.
8. Smith F. M. The ligation of coronary arteries with electrocardiographic study. — Arch. Intern. Med., 1918, vol. 22, p. 8—27.
9. Pardee H. E. B. An electrocardiographic sign of coronary artery obstruction. — Arch. Intern. Med., 1920, vol. 26, p. 244—257.
10. Parkinson J., Bedford D. E. Electrocardiographic changes during brief attacks of angina pectoris. — Lancet, 1931, vol. 1, p. 45—49.
11. Wilson F. N., Johnston F. D. The occurrence in angina pectoris of electrocardiographic changes similar in magnitude and in kind to those produced by myocardial infarction. — Amer. Heart. J., 1941, vol. 22, p. 64—74.
12. Sanazaro P. J. Transient electrocardiographic changes simulating acute myocardial infarction. — Amer. Heart. J., 1956, vol. 51, p. 149—155.
13. Roesler H., Bressler W. Transient electrocardiographic changes identical with those of acute myocardial infarction accompanying attacks of angina pectoris. — Amer. Heart. J., 1954, vol. 47, p. 520—526.
14. Hausner E., Scherf D. Über Angina Pectoris Probleme. — Z. Klin. Med., 1933, vol. 126, p. 166—193.
15. Brow G. R., Holman D. V. Electrocardiographic study during a paroxysm of angina pectoris. — Amer. Heart. J., 1933, vol. 9, p. 259—264.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Автоматизм 212
Агентов инотропных положительных действие 232
Агонистов мускариновых ингибирующее действие и циклические нуклеотиды 98
Агонисты α -адренергические и циклические нуклеотиды 118
Адепилатциклаза 132
— холинергическое ингибирование 157
Адениннуклеотидтранслоказы ингибирование 31
Аденозина действие на мелкие коронарные артерии 448
Адренергические вещества 602
— механизмы влияния на сердце 127
— рецепторы 127
 α -Адренергические агонисты и циклические нуклеотиды 118
 β -Адренергические рецепторы 102, 128
Активация рецептора 95, 117
— СЖК внутри клетки 28
Активность коронарных артерий сократительная ритмическая 606
— (Na^+ , K^+)-АТФазы 209
— сократительная миокарда 106
— фосфофруктокиназы 11
Актин 519
 α -Актинин 522
Алкогольная кардиомиопатия 341
Аминокислот поглощение 223
Аналоги тиреоидных гормонов 282
Анаэробного гликолиза скорость 14
Аносия 12
Антагонизма акцентированного пресинаптический механизм 72
— проявления 71
Антрациклиновая кардиомиопатия 342
Артерии крысы культивируемые клетки 456
Аппарат сократительный 391
Артериальные гладкомышечные клетки 384
Артерии изолированные 501
— коронарной стенки 399
— — при атеросклерозе 401
— коронарные крупные, действие нитроглицерина 450
— —, отсутствие чувствительности к аденозину 449
— —, действие аденозина 448
— —, отсутствие чувствительности к нитроглицерину 450
Артерий коронарных активность сократительная ритмическая 606
— — спазм 593
— —, клинические синдромы 597
— —, механизм развития 606
— —, прогноз 599
— —, распространенность 597
Атерогенез 403
— — вазоспазм 417
— — иммунные механизмы 410
— гемодинамические факторы 415
Атеросклероз 401, 608
— и липиды 407
— коронарных сосудов, патогенез 398
Атриовентрикулярный узел 310
АТФ и ишемическое повреждение 52
Ауторегуляция 568
Ацескаринтин 35
Аэробный гликолиз 544, 553
Бейнбриджа рефлекс 84
Белков метаболизм 268
— сократительных биохимия 517
— фосфорилирование 135
Белки сократительные гладких мышц сосудов 500
— внутриклеточные связывающие 27
Бепридил 447
Биохимия сократительных белков 517
Бластодермы надсердечные участки 203
Блокирование Ca^{2+} -антагонистами 447
Болезнь сердца ишемическая 326
Вазоконстрикция и атерогенез 417
Вазомоторных реакций регуляция 608
Вазоспазм и атерогенез 417
Васкулит 357
— токсический 358
Всраламил 447
Вератридин и механизм деполяризации 231
Вещества токсических влияние на миокард 337
Вещества α -адренергические 602
— гистаминергические 603
— наркотизирующие ингаляционные — сердце 307
— центральные 605
— серотонинергические 604
— холинергические 605
Взаимодействие нервно-мышечное 453
— симпатических и парасимпатических эффектов 71
Виментин 522
Винкулин 522
Влияние адренергической стимуляции на работу сердца 262
— на работу сердца гормонов 274
— некоторых вазоактивных соединений 444
— токсических веществ на миокард 337
Внутри клетки активация СЖК 28
Водорода ионы 609
Возбудимость миокарда, нейрогуморальная регуляция 78
— при действии ионов ТЭА или Ba^{2+} 435
Воспаление 348
— острое 349
— подострое 349
— хроническое 350
Выведение Ca^{2+} из клеток 479
— — —, механизмы 480
Генерация силы, жесткость и укорочение 255
Гиперемия реактивная 564
— функциональная 570
Гиперполяризация после высокочастотной стимуляции 212
Гипертензия, изменения свойств мембра-

ны гладкомышечных клеток сосудов 488
 — функции гладких мышц сосудов 489
Гипертрофию вызывающие факторы 174
Гипертрофия и изменения механические 182
 — — — структурные 169
 — — — электрические 182
 — миокарда 338, 575
 — и изменение механических свойств 175
 — — — — электрических 175
Гиперчувствительность миокарда 353
Гипоксия и метаболические эффекты 50
Гипотеза фосфорилирование 235
Гипофиза передней доли гормоны 285
Гистамины, потенция входящего Ca^{2+} -тока 452
Гликоген 17
 —, распад 19
 —, синтез 18
 —, функция в миокарде 20
Гликозиды сердечные 265
 — —, потенция входящего Ca^{2+} -тока
Гликолиз 10
 — анаэробный, скорость 14
 — аэробный 544, 553
 — и глюкоза 45
 —, поток 415
 —, энергия 46
Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа 13
Глицеридов образование 33
Глюкоза и гликолиз 45
 — значение в метаболизме миокарда 7
Глюкозы поглощение 223
 — — регуляция 16
 — схема регуляции 9
Гормонов влияние на работу сердца 274
 — тиреоидных аналогов 281
 — щитовидной железы механизмы действия 283
Гормоны коры надпочечников 286
 — передней доли гипофиза 285
 —, работа сердца 284
 — щитовидной железы 274
 — — — распределение изоферментов миомина 277
Давление бокового силы 416
Дегенерации клонна теории 409
Действие аденозина на мелкие коронарные артерии 448
 — β -адренергических агонистов и циклические нуклеотиды 109
 — гормонов щитовидной железы механизмы 283
 — мембранное 284
 — нитроглицерина на крупные коронарные артерии 450
 — положительных инотропных агентов 232
Действия потенциалы 251, 473
Деполаризации механизм при воздействии вератридина 231
Десмин 522
Деятельности сердечной рефлексорная регуляция 84
Диабет сахарный 287
Дыхание 540
Железы щитовидной гормоны 274
 — — — и распределение изоферментов миомина 277
Желудочков мышцы 314
Жирные кислоты свободные 25, 37
 — —, окисление 45
 — —, поглощение 45
 — —, токсичность 35

Зависимость от метаболизма 234
 — потенциалов действия от Ca^{2+} 446
Запасники Ca^{2+} , чувствительные к агонистам 476

Изменения биохимические 221
 — гипертрофические, обратимость 190
 — изоферментного состава миомина механическая эффективность 278
 — метаболизма 224
 — механические и гипертрофия 182
 — потенциала действия 215
 — свойств мембраны гладкомышечных клеток сосудов при гипертензии 488
 — сократимости миокарда электрофизиологические причины 168
 — структурные при гипертрофии 169
 — ультраструктуры 225
 — функций гладких мышц сосудов при гипертензии 489
 — электрические и гипертрофия 182
Изоферментов миомина распределение и гормоны щитовидной железы 277
Изоферменты миомина 274, 280
 — — миокардиальной клетки 276
Ингибирование аденилатциклазы холинэргическое 157
 — адениннуклеотидтранслоказы 31
Инициация атерогенеза иммунными механизмами 410
Интактное сердце in situ 208
Инфаркт миокарда 352
Ионы водорода 609
 — металлов 609
 — Mg^{2+} 447
 — ТЭА или Va^{2+} и возбудимость 435
Исследования клинические 328
Источники Ca^{2+} для сокращения 440
Ишемия 14, 577
 — длительная 578
 —, освобождение лактата 22
 — острая, реакция 577
 — сердца тотальная 291
Ишемическая болезнь сердца 326

Калий 211
 —, проницаемость через покоящуюся мембрану 205
 Ca^{2+} -антагонисты и блокирование 447
 Ca^{2+} и потенциалы действия 446
 —, выведение из клеток 479
 —, удаление из цитоплазмы 479
Каналы ионные 147
 — кальциевые потенциалочувствительные 474
 —, управляемые рецепторами 475
Кардиомиопатия 339
 — алкогольная 341
 — антрациклиновая 342
 — гипертрофическая 339
 — дилатационная 340
 — облитерирующая 346
 — рестриктивная 346
 — токсическая 344
 — фуразолидиновая 344
Кардиомиоциты в культуре клеток 227
Кардиоплегия 291
 — принципы 293
 — проблемы 300
 — результаты 293
Карнитин и ацетил-CoA 30
 — и ацил-CoA 29
Катехоламинами стимуляция 46
Катехоламинов инотропный эффект и роль Ca^{2+} 141
Катехоламины 283
Кетоновые тела 38
Киназа легкой цепи миомина 521
Кислород и конкуренция лактата 21
Кислоты жирные, токсичность 35
 — — свободные 25, 37
 — лимонной укорочение цикла 53

- Клетки аорты крысы культивируемые 456
 — венукулярные 384
 — гладкомышечные одиночные, механические свойства 515
 — — структура 387
 — — сосудов истинные 365
 — — — — — общая характеристика 365
 — — — — — органеллы и клеточные системы 371
 — — культивируемые куриного эмбриона 455
 — — — сердца 365
 — механизмы выведения Ca^{2+} 480
 — миокардиальной изоферменты миоцина 276
 — — — — — отдельные в многоклеточном препарате 514
 — — — — — периндотспециальные сосудов сердца 365
 — — — — — структура 387
 Клона теории дегенерации 409
 — — старения 409
 Количество энергии 42
 Компарментализация макроэргических фосфатов 50
 Конкуренция лактата за кислород 21
 Контрактильные пероральные и повреждения сосудов 360
 Контроль коронарного кровообращения рефлекторный 575
 — — кровотока нейрогенный 573
 Коры надпочечников гормоны 286
 Кривая зависимости между силой и скоростью укорочения 512
 — — потенциала покоя 206
 — — силы от длины 507
 Кровообращение коронарное 322
 — — регуляция 561
 — — рефлекторный контроль 575
 Кровоток коллатеральный 580
 — — нейрогенный контроль 573
 — — регуляция метаболическая 564
 Культура клеток кардиомиоцитов 227
 — — преимущества 454
 Лактат 21
 — конкуренция за кислород 21
 — метаболические пути 21
 — поглощение 44
 — освобождение при ишемии 22
 Лактатдегидрогеназа 21
 Легкой цепи миозина каназ 521
 — — фосфатаза 521
 — — фосфорилирование 525
 — — — — — роль в регуляции сокращения интактной гладкой мышцы 527
 Лейтонин 520, 524
 Лизофосфолипиды 35
 Лимонной кислоты укорочение цикла 53
 Липиды и атеросклероз 407
 — вазоактивные 607
 Липолиз в миокарде 34
 Макроэргические фосфаты 49
 — — компарментализация 50
 — — содержание 539
 Масса сердца 249
 Малат-аспартатный челнок 40
 Мембрана гладкомышечных клеток сосудов, изменения при гипертензии 488
 — покоящаяся и проницаемость ее для натрия 205
 — текучесть 223
 — сопряжение 207
 Мембранное действие 284
 Метаболизм белка 268
 — гладкой мышцы сосудов 537
 — глюкозы, основные положения 16
 — изменения 224
 — зависимость 234
 — миокарда 7
 — — значение глюкозы 7
 — пирувата 23
 — сердца 8
 — — характер питания 8
 — энергетический 266
 — — регуляция 50
 Металлов ионы 609
 Методы «ионнирования» полосок ГМС 516
 — терапии 609
 Механизм детеряризации при воздействии вератридина 231
 — адренергического влияния на сердце 127
 — выведения Ca^{2+} из клеток 480
 — гипотетические 524
 — действия гормонов щитовидной железы 283
 — иммунные в инициации атерогенеза 410
 — клеточные модуляции адренергических эффектов 154
 — мембранные увеличения периферического сопротивления 494
 — пресинаптический акцентированного антагонизма 72
 — развития плазма коронарных артерий 606
 — регуляторные 530
 — холинергического влияния на сердце 143
 Миозин 519
 — изоферменты 274, 280
 — изоферментов распределение и гормоны щитовидной железы 277
 — изоферментного состава регуляция 281
 — легкой цепи киназа 521
 — — — фосфатаза 521
 — — — фосфорилирование 525
 — — — — — роль в регуляции сокращения интактной гладкой мышцы 527
 — миокардиальной клетки изоферменты 276
 — структура и функции 274
 Миокард и липолиз 34
 — — токсические вещества 337
 — — функция гликогена 20
 Миокард, поглощение свободных жирных кислот 26
 — эмбриона в культуре ткани 225
 — — на стадии развития поздней 227
 — — — — — промежуточной 227
 — — — — — ранней 225
 — возбудимости нейрогуморальная регуляция 78
 — гипертрофия 338, 575
 — гиперчувствительность 353
 — изменение механических свойств при гипертрофии 175
 — — сократимости электрофизиологические причины 168
 — — электрических свойств при гипертрофии 175
 — инфаркт 352
 — некроз 347
 — причины изменений механических свойств 183
 — — — — — электрических свойств 183
 — сократимости нейрогуморальная регуляция 79
 — — — — — эффекты блуждающего нерва 80
 — — — — — симпатические 79
 — электрическая активность 106
 Миокардит 347
 — токсический 354
 Миофиламентов тонких фосфорилирование 524
 Миоциты сердечные проводящие 313
 — — повреждение 350
 Митохондрий реакции 53
 Mg^{2+} ионы 447
 Модуляции адренергических эффектов клеточные механизмы 154

Мышц гладких механические свойства 500
— — сосудов изменения функции при гипертензии 489
— — регуляции сокращения 500
Мышцы желудочков 314
— — , сократимость 315

Нагрузка на сердце 44
Надпочечников коры гормоны 236
Напряжении механического системы передачи 391
Насоса электрогенного потенциал 211
Натрий 210
(Na⁺, K⁺)-АТФазы активность 209
НАДН образование 39
Невозбудимость препаратов ГМС in vitro 434
Некроз коагуляционный 347
— миокарда 347
— с полосами пересокращения 348
Нерва блуждающего эффекты 80
— — — стимуляции кратковременной 67
— — — — продолжительной 68
Нервной системы сердца анатомия 64
Нервно-мышечное взаимодействие 453
Нитроглицерин 580
— , действие на крупные коронарные артерии 450
— , эффекты 448
Нуклеотиды циклические и действие β-адренергических агонистов 109
— — — ингибирующее мускариновых агонистов 98
— — , роль в стимулирующем влиянии α-адренергических агонистов 118

Образование НАДН 39
— триглицеридов и глицеридов 33
Обратимость гипертрофических изменений 190
Овершут и скорость увеличения 215
Одиночных гладкомышечных клеток механические свойства 515
Окисление жирных кислот 45
— и фосфорилирование 43
β-Окисление 32
Органеллы 371
Освобождение лактата при ишемии 22
— протонов при анаэробном гликолизе 15
Отсутствие влияния ацетилхолина на P_K 209
— чувствительности крупных коронарных артерий к аденозину 449
— — мелких коронарных артерий к нитроглицерину 450

Пастера эффект 11
Патогенез атеросклероза коронарных сосудов 398
Пересокращения полосы 348
Перикардит 356
Пируват 22
— , метаболизм 23
Пируватдегидрогеназа 23
Повреждение ишемическое и АТФ 52
— сердечных миоцитов 350
— сосудов 357
— — , связанные с пероральными контрацептивами 360
— эндотелия 404
Повышение нагрузки на сердце 44
Поглощение аминокислот 223
— глюкозы 223
— — , регуляция 10
— жирных кислот 45
— лактата 44
— миокардом свободных жирных кислот 26
Поддержания силы эластичности 551
Подострое воспаление 349

Покоя потенциал 205, 472
Полоски (сосудов) 506
Полосок ГМС методы «скиннирования» 516
Полосы пересокращения 348
Пополнение запаса промежуточных продуктов цикла лимонной кислоты 54
Потенциал действия 251, 473
— покоя 205, 472
— — трансмембранный 430
— — электрогенного насоса 211
Потенциала действия зависимость от Ca²⁺ 446
— — изменения 215
— — общий характеристика 445
— — полая кривые зависимости 206
Потенциация входящего Ca²⁺-тока гистамином 452
— — — — сердечными гликозидами 450
Поток гликолиза 15
Потоков регуляции в цепи гликолиза 24
Предсердия 309
Преимущества культуры клеток 454
Препаратов ГМС невозбудимость in vitro 434
— «скиннированных» механические свойства 515
Препараты кольцевые 506
— спорыны 600
Принципы кардиолегии 293
Причины изменений механических свойств миокарда 183
— — сократимости миокарда электрофизиологические 168
— — электрических свойств миокарда 183
— — электрофизиологические снижения сократимости 191
Проблемы кардиолегии 300
Проведения предсердно-желудочкового нейроморальная регуляция 73
— — — — в установившихся условиях 73
— — — — динамическая 75
Протонс сназма коронарной артерии 599
Продуктов промежуточных цикла лимонной кислоты пополнение запаса 54
— — — — — продукты распада фосфокреатина 48
Проницаемость для калия покоящейся мембраны 205
Пропафенон 448
Пространство внеклеточное 210
Протеинкиназа cАМФ-зависимая 135
Протеинфосфатаза 135
Протонов освобождение при анаэробном гликолизе 15
Процессы, использующие энергию гликолиза 46
Проявления акцентированного антагонизма 71
Пути метаболические лактата 21
Пути метаболических внутриклеточных характеристики 27

Работа сердца 49, 53
— — , адренергическая стимуляция 262
— — , влияние гормонов 274, 284
— — , нейроморальная регуляция 64
— — , увеличение 50
Распад гликогена 19
— — фосфокреатина продукты 48
Распределение изоферментов миозина и гормоны щитовидной железы 277
Распространенность спазма коронарных артерий 597
Реакции вазомоторные, регуляция 608
Реакции митохондрий 53
— — на острую ишемию 577
Регенерация эндотелия 403
Регуляции вазомоторных реакций 608
— — глюкозы, общая схема 9

- изоферментного состава миозина 281
- коронарного кровообращения 561, 564
- миокарда нейрогуморальная возбудимости 78
- — — сократимости 79
- — — — эффекты блуждающего нерва 80
- — — — симпатические 79
- — частоты сердечных сокращений 66
- — — — парасимпатическая 67
- — — — симпатическая 66
- парасимпатическая 67, 575
- — установившаяся 67
- — эффекты кратковременной стимуляции блуждающего нерва 67
- — — продолжительной стимуляции блуждающего нерва 68
- — поглощения глюкозы 40
- — потоков в цепи гликолиза 24
- — работы сердца нейрогуморальная 64
- — рефлекторная сердечной деятельности 84
- — симпатическая 66, 574
- — системы сокращения Ca^{2+} 523
- — сокращения гладких мышц *сосудов* 500
- — — — интактных, роль фосфорилирование легкой цепи миозина 527
- — «скиннированных» препаратов с помощью фосфорилирования легкой цепи миозина 529
- — установившаяся 67, 73
- — энергетического метаболизма в ходе сердечного цикла 50
- Результаты кардиографии 293**
- Ретикулум саркоплазматический 253**
- Рефлекс барорецепторный 84**
- Бейбриджа 84
- хеморецепторный 85
- Рецептор адренергический 127**
- α -адренергический 116, 132
- — — активация 117
- — — связывание 116
- β -адренергический 102, 128
- активация 95, 117
- мускариновый холинэргический 92, 144
- — — активация 95
- — — изучение связывания с рецептором 92
- — — и внутриклеточные эффекторы 147
- — — связывание 116
- Рецепторами управляемые каналы 475**
- Рецепторов мускариновых стимуляция 154**
- Роль Ca^{2+} в развитии инотропного эффекта катехоламинов 141**
- тромбоцитов в атерогенез 412
- — — теория реакции на повреждение 412
- фосфорилирование легкой цепи миозина в регуляции сокращения интактной гладкой мышцы 527
- — циклических нуклеотидов в действии β -адренергических агонистов 109
- — — — стимулирующем α -адренергических агонистов 118
- Сахарный диабет 287**
- Свободные жирные кислоты 25, 37**
- — — поглощение миокардом 26
- Свойств механических изменение миокарда при гипертрофии 175**
- Свойства гладких мышц сосудов механические 500**
- — — электрические 430
- — — медленных каналов кардиомиоцитов 232
- — — мембраны гладкомышечных клеток сосудов при гипертонии 438
- — — механические одиночных гладкомышечных клеток 515
- — «скиннированных» препаратов 515
- — электрические культивируемых клеток ГМС 454
- Связывание рецептора 118**
- с рецептором 92
- Связь с циклическим АМФ 234**
- Сдвига сила 415**
- Сердца анатомия нервной системы 64**
- ишемическая болезнь 326
- масса 249
- работа 49, 53
- — и гормоны 284
- — — регуляция нейрогуморальная 64
- старение 249
- увеличение работы 50
- ультраструктура 249
- энергетика 38
- адренергические механизмы 127
- Сердце и ингаляционные наркотизирующие вещества 307**
- интактное in situ 208
- — механизмы холинэргического влияния 143
- — — повышение нагрузки 44
- — — при тотальной ишемии 291
- СЖК активация внутри клетки 28**
- внутриклеточные 27
- транспорт через клеточную мембрану 27
- Сила сдвига 415**
- Силы бокового давления 416**
- генерация, жесткость и укорочение 255
- от длины кривая зависимости 507
- Синдромы клинические, связанные со спазмом коронарных артерий 597**
- Синтез гликогена 18**
- Система электромеханического сопряжения 389**
- эффекторная 393
- Системы клеточные 371**
- передачи механического напряжения 391
- связанные с миозином 524
- сокращения регуляция Ca^{2+} 523
- «скиннирование» полосок ГМС методы 516
- Скорость анаэробного гликолиза 14**
- увеличения и овершут 215
- Спизжение сократимости электрофизиологические причины 191**
- Содержание макроэргических фосфатов 539**
- Соединений вазоактивных влияние 444**
- Сократимости миокарда нейрогуморальная регуляция 79**
- — — эффекты блуждающего нерва 80
- — — симпатические 79
- — — снижение электрофизиологические причины 191
- Сократимость желудочковой мышцы 315**
- Сокращение, источники Ca^{2+} 440**
- Сокращения гладких мышц сосудов регуляция 500**
- «скиннированных» препаратов регуляция сокращений помощью фосфорилирования легкой цепи миозина 529
- Состав сократительных белков гладкой мышцы 518**
- Состава изоферментного изменения и механическая эффективность 278**
- Соотношение между окислением и фосфорилированием 43**
- Сопротивление мембраны 207**
- Сопряжение фармакомеханическое в гладкой мышце сосудов 471**
- — — — и каналы, управляемые рецепторами 475
- — — электромеханическое 251
- — — система 389
- — — в гладкой мышце сосудов 471
- — — — и потенциалочувствительные кальциевые каналы 472
- Состав ионный 210**

Сосудов гладких мышц механические свойства 500
— — — регуляция сокращения 500
— — — сократительные белки 500
— — — электрофизиология 428
— — — метаболизм 537
— — — энергетика 537
— гладкомышечные клетки истинные 365
— — — — — общая характеристика 365
— — — — — органеллы и клеточные системы 371
— повреждения 357
— — — — — связанные с пероральными контрацептивами 360
— сердца гладкомышечные клетки 365
— — — — — периндотелиальные клетки 365
— структура периндотелиальных клеток 387
Плазм коронарных артерий 593
— — — — — клинические синдромы 597
— — — — — механизм развития 606
— — — — — прогноз 599
— — — — — распространенность 597
Спорные препараты 600
Стадия развития миокарда эмбриона поздняя 227
— — — — — промежуточная 227
— — — — — ранняя 230
Старение сердца 249
Стенка артерий при атеросклерозе 401
— — — — — нормальной артерии 399
Стимуляция адренергической влияние на работу сердца 262
Стимуляция высокочастотная и гиперполяризация 212
— — — — — угнетение автоматизма 212
— — — — — катехоламинами 46
— — — — — мускариновых рецепторов 154
Структура гладкомышечных клеток сосудов 387
— периндотелиальных клеток сосудов 387
и функции миозина 274
Схема регуляции глюкозы 9
Текучесть мембраны 223
Тела кетоновые 38
Теории атерогенеза 405
— — — — — инфилтративно-воспалительная 406
— — — — — тромбогенная 406
— — — — — дегенерации клона 409
— — — — — старения клона 409
— — — — — моноклональная 410
Терапевтические методы 609
Токсичность жирных кислот 35
Трансаминирование 54
Транспорт СЖК через клеточную мембрану 27
Триглицеридов образование 33
Тромбоциты 607
— — — — — роль в атерогенезе 412
— — — — — теория реакции на повреждение 412
Тропомозин 519
Тропонин 520, 524
Увеличения периферического сопротивления мембранные механизмы 494
— — — — — работы сердца 50
Угнетение автоматизма после высокочастотной стимуляции 212
Удаление Ca^{2+} из цитоплазмы 479
— — — — — и расслабление 482
Узел атриоventрикулярных 310
— — — — — синоатриальный 307
Укорочение цикла лимонной кислоты 53
Ультраструктуры сердца 249
— — — — — изменения 225
— — — — — уровень цАМФ 221
Участки blastodermy надсердечные 203
Факторы, вызывающие гипертрофию 174
— — — — — гемодинамические в атерогенезе 415
— — — — — физические 561

Филамин 523
Фосфатаза *листной цепи миозина* 521
Фосфаты микроэргические 49
— — — — — коинторментации 50
— — — — — содержание 539
Фосфорилация и АТФ 48
— — — — — продукты распада 48
Фосфорилирование белков 195
— — — — — гипотеза 235
— — — — — легкой цепи миозина 525
— — — — — регуляция сокращения «скиннированных» препаратов 529
— — — — — — — — — — — роль в регуляции сокращения интактной гладкой мышцы 527
— — — — — и окисление 43
— — — — — тонких миофиламентов 524
Фосфофруктокиназа активность 11
Функции гладких мышц сосудов изменения при гипертензии 489
— — — — — и структура миозина 274
Функция гликогена в миокарде 29
Характеристика внутриклеточных метаболических путей 27
— — — — — общая потенциалов действия 445
Хлор 210
Цепь гликолиза и регуляция потоков 24
Цикл сердечный, регуляция энергетического метаболизма 50
Цикло-ГМФ 148
Цитоплазма, удаление Ca^{2+} 482
Цитоскелета элементы 389
Частоты сердечных сокращений нейрогуморальная регуляция 66
— — — — — парасимпатическая 67
— — — — — симпатическая 66
Челнок глицерофосфатный 41
— — — — — малат-аспаратный 40
Чувствительность к антагонистам кальция 219
— — — — — повышению $[K^+]_o$ 208
— — — — — тетродотоксину 219
Экономичность поддержания силы 551
Эксперименты на животных 323
Электрофизиология гладких мышц сосудов 428
Элемент упругий последовательный 513
Элементы цитоскелета 389
Эмбриона куриного культивируемые клетки ГМС 455
— — — — — миокард в культуре ткани 225
— — — — — на ранней стадии развития 230
Эндотелий 403, 607
— — — — — регенерация 403
— — — — — повреждение 404
Энергетика активации 555
— — — — — гладкой мышцы сосудов 537
— — — — — сердца 38
Энергии количество 42
Энергия гликолиза 46
— — — — — химическая и сократительная активность 548
Эффект *интративный* катехоламинов и роль Ca^{2+} 141
— — — — — Пастера 11
Эффективность механическая и изменения изферментного состава миозина 278
Эффекты аденозина 448
— — — — — блуждающего нерва 80
— — — — — метаболические при гипоксии 50
— — — — — механические 96
— — — — — нитроглицерин 448
— — — — — симпатический 70
— — — — — стимуляции блуждающего нерва коактовременной 67
— — — — — — — — — — — продолжительной 68
— — — — — электрофизиологические 96
Эффекторы симпатических и парасимпатических влияний 71
Эффекторы системы 303
Эффекторы *аутотриггерные*, сопряженные с мускариновыми холинэргическими рецепторами 147