

Академик АН УССР Е. Б. БАБСКИЙ, С. Ю. БЕРДЯЕВ, В. А. ХОРУНЖИЙ

ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ МАРГАНЦА НА АВТОМАТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ВОДИТЕЛЕЙ РИТМА СЕРДЦА ЛЯГУШКИ

Способность волокон-водителей ритма сердца генерировать спонтанные возбуждения связывают в настоящее время с изменениями ионной проводимости, приводящими к медленной диастолической деполяризации (м.д.д.) этих волокон (^{1, 2}).

Существуют три возможных объяснения механизма м.д.д. и автоматии волокон — водителей ритма сердца (³): 1) постепенное снижение калиевой проницаемости мембраны, 2) медленное увеличение натриевой проницаемости и 3) постепенное снижение активности натриевого насоса.

Мы наблюдали, что воздействия, увеличивающие натриевую проницаемость, вызывают стойкую ритмическую активность волокон миокарда желудочка лягушки. Уменьшение калиевой проницаемости способствует более быстрому развитию авторитмической активности, однако для ее возникновения оно не столь необходимо (⁴). Уменьшение активности натриевого насоса под влиянием оубаина, блокирующего транспортную аденозинтрифосфатазу, также не вызывало появления авторитмической активности волокон миокарда и, равным образом, не подавляло спонтанную активность водителей ритма сердца лягушки (⁵). Мы предположили, что м.д.д. и спонтанная активность обусловлены увеличением во время диастолы медленного входящего натрий-кальциевого тока, ответственного за возникновение плато потенциала действия (п.д.) мышечных волокон сердца (^{6, 7}). С этой целью мы исследовали действие $MnCl_2$ на возникшую в результате примененных нами воздействий авторитмическую активность волокон миокарда желудочка и наблюдали исчезновение ее под влиянием ионов Mn^{2+} (⁸).

Выбор хлористого марганца для наших исследований диктовался тем, что ионы Mn^{2+} подавляют медленный входящий натрий-кальциевый ток, что доказано методом фиксации потенциала мембраны в опытах на сердцах амфибий (⁷) и млекопитающих (^{9, 10}), а также опытами с использованием изотопов (¹¹).

Задачей настоящей работы было выяснение роли медленно входящего натрий-кальциевого тока для развития м.д.д. и автоматии истинных и потенциальных водителей ритма сердца лягушки.

Объектами экспериментов были изолированные синус или мышечные трабекулы предсердия лягушки, диаметром около 100 μ и длиной 10–15 мм, помещенные в кювету, объемом 25 мл, заполненную обычным раствором Рингера ($NaCl$ 110 ммол/л; KCl 2,5 ммол/л; $CaCl_2$ 1,8 ммол/л; $NaHCO_3$ 2,4 ммол/л) либо раствором с измененным ионным составом. $MnCl_2$ применялся в концентрациях 2–5 ммол/л, ЭДТА — в концентрациях 0,03–0,05 ммол/л.

Использовалась стандартная техника отведения внутриклеточных потенциалов; применялись микроэлектроды с кончиком диаметром 0,5 μ и сопротивлением 20–30 мом. Эксперименты проводились при 15–25°; рН растворов был 7,3.

В части опытов для отведения п.д. использовалась система двойного сахарозного мостика. Щелевая камера, подобная описанной (⁶), содержала 5 отсеков. Средний, в котором находилась исследуемая часть препарата, и 2 смежные отсека, которые перфузировались раствором сахарозы, имели ширину 500 μ каждый. Диффузия жидкости из прилежащих отсеков предупреждалась нанесением вазелиновых стенок, толщиной около 100 μ .

Через средний отсек протекал раствор Рингера или раствор с измененным ионным составом. Крайние отсеки заполнялись раствором Рингера или изотоническим раствором KCl. Промежуточные отсеки перфузировались изотоническим раствором сахарозы (214 ммол/л). Отведение п.д. осуществлялось с помощью хлорсеребряных электродов сопротивлением меньше 1 ком. Применялся ламповый катодный повторитель, величина сеточного тока которого была меньше 10^{-11} а. Для измерения ионных токов

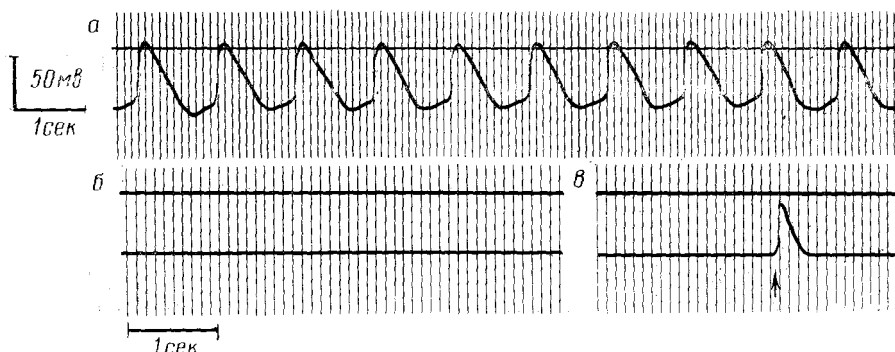


Рис. 1. Автоматическая активность волокна синусного узла лягушки (а) и подавление ее хлористым марганцем (2 ммол/л) (б и в). Ответ на электрический стимул после действия на синус понов Mn^{2+} указан стрелкой. Отведение внутриклеточных потенциалов действия с помощью микроэлектродов

в условиях фиксации напряжения использовалась установка, описанная в специальной статье (¹²). Препарат в этом случае помещался в двойной сахарозный изолятор, в котором разделение отсеков производилось с помощью резиновых мембран (¹³). Система двойного сахарозного мостика с резиновыми мембранами обеспечивает лучшую изоляцию отсеков и предупреждает артефакты, обусловленные сокращением препарата и недостатками пломбирования. Препарат протягивался через крошечные отверстия в центре мембран с помощью приспособления, которое дает возможность увеличивать диаметр отверстия.

Стимуляцию полоски осуществляли импульсами от электронного стимулятора, длительностью 2–5 мсек, и амплитудой, в несколько раз превышавшей пороговую. Всего было проведено 37 опытов.

Результаты опытов. $MnCl_2$ в указанных выше концентрациях подавлял во всех опытах м.д.д. и автоматию истинных водителей ритма синуса и потенциальных водителей ритма предсердий через 1–7 мин. (рис. 1 и 2). Качественно одинаковые результаты были получены как при регистрации с помощью микроэлектродов, так и при отведении потенциалов с помощью двойного сахарозного изолятора. Регистрация при помощи последнего позволяет проследить динамику изменения под влиянием понов Mn^{2+} м.д.д. и автоматию вплоть до их исчезновения. Спонтанная активность синусовых волокон полностью прекращалась после первоначального очень короткого периода замедления, происшедшего вследствие уменьшения скорости м.д.д. Амплитуда вызванного электрическим стимулом п.д. падала под влиянием ионов Mn^{2+} в среднем на 11 мв (20 опытов), потенциал покоя (п.п.) изменялся незначительно (рис. 1в и рис. 2б, в). Длительность п.д. обычно уменьшалась, но в некоторых опытах даже увеличивалась в первые минуты действия ионов Mn^{2+} в 1,5–2 раза. Подобное увеличение длительности п.д., возможно, связано с тем, что ритмическая активность препарата прекращалась и отсутствовал феномен «частота — длительность».

$MnCl_2$ в концентрации 2 ммол/л незначительно повышал порог (в среднем в 1,3 раза); в больших же концентрациях (5 ммол/л и выше) порог значительно увеличивался. В ряде опытов увеличившийся в первые мину-

ты порог стимуляции оставался в дальнейшем на постоянном уровне, тогда как спонтанная активность продолжалась еще 12–15 мин., и, когда она прекращалась, порог раздражения не увеличивался. В ряде опытов порог вообще не изменялся при действии $MnCl_2$.

Эти данные противоречат предположению, что исчезновение автоматии под влиянием ионов Mn^{2+} могло бы быть связано с увеличением порога.

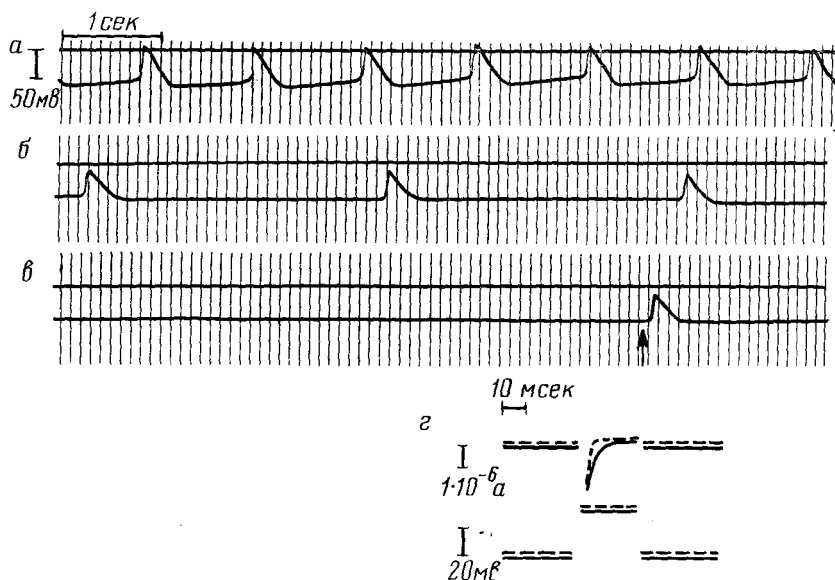


Рис. 2. Автоматическая активность волокон синусного узла лягушки до (а) и после (б и в) действия $MnCl_2$ в концентрации 2 ммол/л. Ответ на электрический стимул после действия ионов Mn^{2+} указан стрелкой. Отведение потенциалов действия с помощью системы двойного сахарозного мостика. В нижней части рисунка (г) запись входящего ионного тока как функции времени до (сплошная линия) и после (пунктирная) действия ионов Mn^{2+} . Верхние кривые — запись тока, нижние — запись напряжения

Данные наших опытов об увеличении в ряде случаев длительности п.д. при действии ионов Mn^{2+} заставили нас провести несколько экспериментов с исследованием действия этих ионов на миокард в условиях фиксации напряжения. $MnCl_2$ в концентрации 2 ммол/л устранял медленную фазу входящего тока при фиксировании потенциала мембраны на уровне плато п.д. (рис. 2). Эти результаты в основном совпали с данными, полученными в опытах на предсердии лягушки (⁷). Таким образом, эффект ионов Mn^{2+} на автоматию волокон-водителей ритма, по-видимому, связан с подавлением медленного входящего тока, который переносится ионами Na^+ и Ca^{2+} .

Известно, что ионы Ca^{2+} увеличивают скорость м.д.д. и частоту автоматических возбуждений волокон синоаурикулярного узла (¹⁴). Принимая это во внимание, некоторые авторы на основании опытов с действием ионов Mn^{2+} на сердечные п.д. пришли к заключению, что пейсмекерный ток, обуславливающий развитие м.д.д., переносится в основном ионами Ca^{2+} (¹⁵).

Мы наблюдали в наших опытах, что удаление ионов Ca^{2+} из внешней среды урежает спонтанный ритм волокон синусного узла и предсердий. Через 30–40 мин. после удаления ионов Ca^{2+} из внешней среды спонтанный ритм волокон синусного узла замедлялся обычно в 4–10 раз (рис. 3б). При этом происходило уменьшение величин п.д. $8 \pm 1,1$ мв и п.п. на $6,4 \pm 0,8$ мв.

Для полного связывания внешнеклеточного кальция мы применяли ЭДТА, который относится к группе комплексонов и связывает ионы Ca^{2+}

на мембране. ЭДТА не только не устранял, как можно было ожидать, автоматию волокон синусного узла, но, наоборот, восстанавливал исходный ритм или даже учащал его (рис. 3в). $MnCl_2$ в концентрации 1–2 ммол/л быстро, в первые же минуты, устранял уреженную удалением ионов Ca^{2+} и учащенную ЭДТА автоматию водителей ритма (рис. 3г, д). Так же, как и при действии ионов Mn^{2+} на водители ритма, находящиеся в обычном растворе Рингера, длительность и амплитуда п.д. уменьшались (рис. 3д).

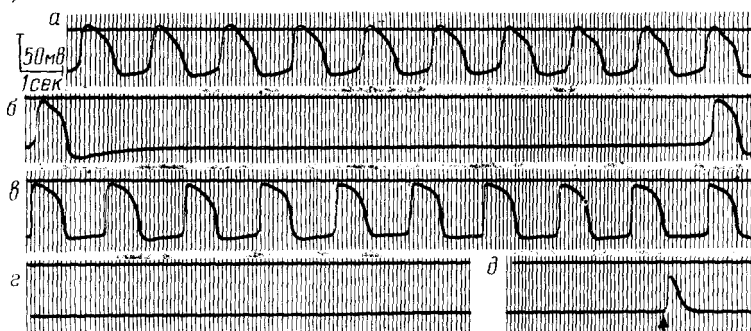


Рис. 3. Автоматическая активность волокна синусного узла лягушки, находящегося в обычном растворе Рингера (а), в растворе Рингера без ионов Ca^{2+} (б), при действии ЭДТА в концентрации 0,05 ммол/л (в) и $MnCl_2$ в концентрации 2 ммол/л (г). П.д. в ответ на электрический стимул — д

Таким образом, результаты, полученные с использованием внутриклеточных микроэлектродов и с использованием системы двойного сахарозного изолятора, выявили следующие факты.

1. Ионы Mn^{2+} подавляют медленную диастолическую деполяризацию и автоматию истинных и потенциальных водителей ритма предсердий через 1–7 мин.

2. Удаление ионов Ca^{2+} из внешней среды урежает спонтанный ритм волокон — водителей ритма сердца.

3. Полное связывание внешнеклеточного кальция с помощью ЭДТА, резко увеличивающего натриевую проницаемость мембраны, не только не подавляет автоматическую активность, но, наоборот, учащает спонтанный ритм и ускоряет медленную диастолическую деполяризацию.

4. $MnCl_2$ подавляет автоматию волокон — водителей ритма сердца лягушки, находящихся в бескальциевом растворе Рингера.

Полученные факты подтверждают предположение, что медленный входящий ток во время диастолы переносится ионами Na^+ и Ca^{2+} . Этот ток, как и медленный натрий-кальциевый ток, ответственный за плато п.д., подавляется ионами Mn^{2+} .

Институт нормальной и патологической физиологии
Академии медицинских наук СССР
Москва

Поступило
3 XI 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Б. Гоффмал, П. Крейффилд, Электрофизиология сердца, М., 1962.
- ² D. Noble, J. Physiol (London), **160**, 317 (1962).
- ³ S. Weidmann, Elektrophysiologie der Herzmuskelfaser, Bern, 1956.
- ⁴ Е. Б. Бабский, С. Ю. Бердяев, В. А. Макарычев, ДАН, **195**, № 2, 496 (1970).
- ⁵ С. Ю. Бердяев, Тр. Инст. нормальной и патологической физиологии АМН СССР, **14**, М., 1971, стр. 184.
- ⁶ O. Rougier, G. Vassort, R. Stämpfli, Pflügers Arch., **301**, 91 (1968).
- ⁷ O. Rougier et al., ibid., **308**, 91 (1969).
- ⁸ Е. Б. Бабский, С. Ю. Бердяев, В. А. Макарычев, Физиол. журн. СССР, № 11, 1591 (1970).
- ⁹ R. Ochi, Pflügers Arch., **316**, 81 (1970).
- ¹⁰ M. Vitek, W. Trautwein, ibid., **323**, 204 (1971).
- ¹¹ S. Sabatini-Smith, W. Holland, Am. J. Physiol., **216**, 2, 244 (1969).
- ¹² В. А. Хорунжий, В сборн. Биологическая и медицинская электроника (Матер. IV Всесоюз. конфер.), 3, Свердловск, 1972, стр. 70.
- ¹³ W. Berger, L. Barr, J. Appl. Physiol., **26**, 3, 378 (1969).
- ¹⁴ E. Seifen, H. Schaeff, J. Marshall, Nature, **202**, 1233 (1964).
- ¹⁵ H. Lu, Ch. McBrooks, Bull. N. Y., Acad. of Med., **45**, 1, 100 (1969).