

крылатые самки-расселительницы, которые разлетаются и заселяют все новые растения. Доля крылатых особей растет в перенаселенных колониях, при прекращении роста побегов, в случае снижения адекватности растений-хозяев потребностям тлей.

На бруснике, подбеле, болотном мирте *A. vaccinii*, как правило, проходит не весь цикл развития, а лишь его часть (рис.2). Они, таким образом, могут рассматриваться как функционально-дополнительные растения-хозяева, которые насекомые используют для переживания неблагоприятного периода. Наблюдения в условиях естественных стадий показывают, что в большинстве случаев эти растения колонизируются крылатыми расселительницами в июне, во время затухания первой волны роста голубики топяной. Основываемые мигрантами колонии быстро проходят этап процветания, прекращая свое существование.

Для развития *A. vaccinii* оптимальна умеренно теплая погода при повышенной относительной влажности воздуха. Напротив, численность вредителя снижается при затухании у растений-хозяев ростовых процессов, жаркой сухой погоде, обильных ливневых осадках, смыывающих насекомых на землю, накоплении энтомофагов. Среди последних следует отметить 14-точечную (*Propylaea 14-punctata* (L.)) и узорчатую (*Coccinella hieroglyphica* L.) коровок, златоглазку обыкновенную (*Chrysopa perla* L.), гемеробиид. Нередко регистрируется высокий уровень зараженности тлей наездниками-афидидами.

1. Heie O. E. Aphidoidea (Hemiptera) of Fennoscandia and Denmark. III. Aphididae: Pterocommatinae et Aphidini. Copenhagen; Leiden, 1986.
2. Szelegiewicz H. // Katalog fauny Polski. 1968. Cz.21. Zesz.4.
3. Рупайс А.А. Тли (Aphidoidea) Латвии. Рига, 1989.
4. Шапошников Г.Х. // Определитель насекомых Европейской части СССР. М.;Л., 1964. Т.1.
5. Ивановская О.И. Тли Западной Сибири. Новосибирск, 1977. Ч.2.
6. Буга С.В. // Эколого-биологическое изучение ягодных растений сем. брусничные и опыт освоения их промышленной культуры в СССР. Ганцевичи, 1991.

Поступила в редакцию 20.09.95.

УДК 612.17:577.352.5

Н.Н.ПЕТРАШЕВСКАЯ, А.П.МАЛЫХИНА, Л.М.ЛОБАНОВ

МОДИФИКАЦИЯ ЧАСТОТНО-ВРЕМЕННОЙ ЗАВИСИМОСТИ В КАРДИОМИОЦИТАХ ПРАВОГО ПРЕДСЕРДИЯ КРЫС ПРИ СТИМУЛЯЦИИ АДРЕНЕРГИЧЕСКИХ РЕЦЕПТОРОВ

The relative influence of α_1 - and β_2 -adrenergic receptor stimulation on action potential duration and on frequency-duration dependence was assessed using intracellular microelectrode in rat right atrium cardiomyocytes.

Электрофизиологическая неоднородность тканевых сред сердца, особенно негомогенность процессов реполяризации, может привести к развитию деполяризующих токов, достаточных для возникновения преждевременной активации кардиомиоцитов и явиться причиной возникновения аритмий по механизму "Re-entry". Известно, что одной из причин нарушения однородности процессов реполяризации в кардиомиоцитах является стимуляция адренергических рецепторов, способствующая развитию электрической нестабильности миокарда в результате индукции ранней и поздней постдеполяризации [1]. В то же время отмечено, что при стимуляции адренергических рецепторов возможен и другой механизм аритмогенного действия: разнонаправленные дозозависимые влияния на временные параметры ПД. Этот механизм особенно важен в условиях неодинаковой плотности постсинаптических рецепторов, например при локальной денервации дистальнее инфарктной зоны [2]. Известно, что стимуляция адренергических рецепторов увеличивает частоту сердечных сокращений, а увеличение частоты сердечного ритма является самостоятельным фактором, изменяющим длительность ПД. Можно ожидать, что частотно-временные соотношения в кардиомиоцитах могут быть модифицированы при активации адренергических метаболических каскадов, и в случае неоднородной дозозависимой модификации возможно развитие электрофизиологической десинхронизации миокарда. Однако конкретные особенности влияния стимуляции адренергических рецепторов на зависимость длительности ПД от величины межстимуляционного интервала не определены.

В данной работе ставилась задача выявить возможное модифицирующее действие стимуляции α_1 - и β_2 -адренорецепторов на частотно-временные взаимоотношения в кардиомиоцитах правого предсердия крыс.

Материал и методика

Исследования проводили на изолированных правых предсердиях белых крыс (5–6 мес.) с иссеченным синусовым узлом. Животных (200–220 гр) наркотизировали внутрибрюшинно тиопенталом натрия (60 мг/кг). Сердце изолировалось, промывалось от остатков крови в ледяном физиологическом растворе. Изолированное правое предсердие помещалось в термостатируемую перфузируемую камеру для электрофизиологических исследований. Для перфузии применялся раствор Кребса–Хензелейта следующего состава: 120 мМ NaCl; 4,0 мМ KCl; 20 мМ Na_2HCO_3 ; 1,2 мМ Mg_2SO_4 ; 1,25 мМ CaCl_2 и 3,0 мМ $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, насыщенный карбогеном (95% O_2 и 5% CO_2). Температура перфузируемого раствора равнялась 37°C и поддерживалась ультратермостатом УТ-4.

Для микроэлектродных отведений применялись плавающие микроэлектроды со стекловолочном внутри сопротивлением 20–50 МОМ. Регистрация внутриклеточных сигналов проводилась микроэлектродным усилителем фирмы Experimetria. Препараты стимулировались с нарастающей частотой 1,2,3 Гц через внеклеточные электроды программируемым стимулятором Experimetria (Венгрия) с продолжительностью стимулирующего импульса 100 мс. Время стимуляции на каждой частоте составляло 5 мин для полного вработывания препаратов. На каждой частоте стимуляции определяли длительность потенциала действия (ПД) на уровне 10%, 50%, 90% реполяризации. Измерялся также уровень диастолического потенциала и амплитуда потенциала действия. Статистической обработке подвергались результаты, при которых уровень потенциала покоя составлял более -70 мВ.

Стимуляцию α_1 -адренорецепторов проводили мезатоном в концентрации 10^{-7} – 10^{-5} М, β_2 -адренорецепторы стимулировали новодрином в тех же концентрациях. Агонисты вводили в перфузирующий раствор при частоте стимуляции препаратов миокарда 1 Гц. При этой частоте определяли их влияние на параметры ПД, а затем на фоне действия агониста определяли изменение параметров внутриклеточной активности при нарастании частоты стимуляции от 1 до 3 Гц. Каждая концентрация тестировалась на одном препарате для избежания десенситизации рецепторов, которая может развиваться при применении на одном препарате нарастающих концентраций агониста.

Компьютерный анализ сигналов проводили в режиме on-line, графическую регистрацию сигналов – в режиме off-line. Визуально внутриклеточные потенциалы действия наблюдали на экране осциллоскопа VM-42 и графически регистрировали самописцем Н3030.

Полученные результаты обработаны статистически и проверены на достоверность с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Стимуляция α_1 -рецепторов мезатоном в диапазоне концентраций (10^{-7} – 10^{-5}) М вызывала бифазное изменение длительности ПД. Как видно из рис. 1а, 10^{-7} и 10^{-6} М агониста пролонгировали ПД на всех измеряемых уровнях, а 10^{-5} М уменьшал длительность ПД на уровнях 10%, 50% и 90% полной реполяризации. Уменьшение длительности ПД в этом случае было довольно значительным. Например, ДПД₉₀ уменьшалась с $70,5 \pm 3,6$ до $62,0 \pm 4,3$ мс ($n=6$, $P<0,05$). Известно, что длительность потенциала действия детерминирована балансом ионных токов через мембрану, особенно формируемых кальциевыми и калиевыми каналами. Наблюдаемое в наших исследованиях увеличение длительности ПД при стимуляции α_1 -адренорецепторов согласуется с описанным ранее и является, вероятно, результатом опосредованного α_1 -адренорецепторами ингибирования K^+ -реполяризующего тока [3]. Есть наблюдения, что стимуляция α_1 -адренорецепторов подавляет и кальциевый медленный входящий ток [4]. В то же время стимуляция α_1 -адренорецепторов вызывает опосредованное инозитол 1-4-5-трифосфатом увеличение внутриклеточной концентрации кальция, что может вызвать уменьшение длительности ПД путем активации кальций-

зависимой компоненты калиевой проводимости. По-видимому, соотношение этих процессов и определяет бифазный ответ стимуляции α_1 -адренорецепторов в отношении длительности ПД.

Двухфазовая реакция изменения длительности ПД в условиях стимуляции α_1 -адренорецепторов лежит, по-видимому, и в основе разнонаправленного влияния мезатона на частотно-временные взаимоотношения в миокарде. Как видно из рис.2а, стимуляция агонистом в концентрации 10^{-7} и 10^{-6} М приводила к усилению зависимости частота стимуляции – длительность ПД. Уменьшение межстимуляционного интервала с 1000 мс до 500 мс вызывало достоверно выраженное изменение ДПД₅₀ и ДПД₉₀ при применении 10^{-7} и 10^{-5} М (на рис.2а приведены данные только для ДПД₉₀), что не регистрировалось в контрольных опытах. Уменьшение межстимуляционного интервала до 330 мс приводило к укорочению ДПД₉₀ при 10^{-7} М мезатона на 20,0 мс ($n=6$, $P<0,05$), а при 10^{-6} М на 30,5 мс ($n=6$, $P<0,01$), тогда как в контрольных опытах уменьшение составило всего 10 мс. Однако применение α_1 -агониста в концентрации 10^{-5} М, вызывающей уменьшение временных параметров ПД, ослабляло зависимость длительности ПД от межстимуляционного интервала (см. рис.2а).

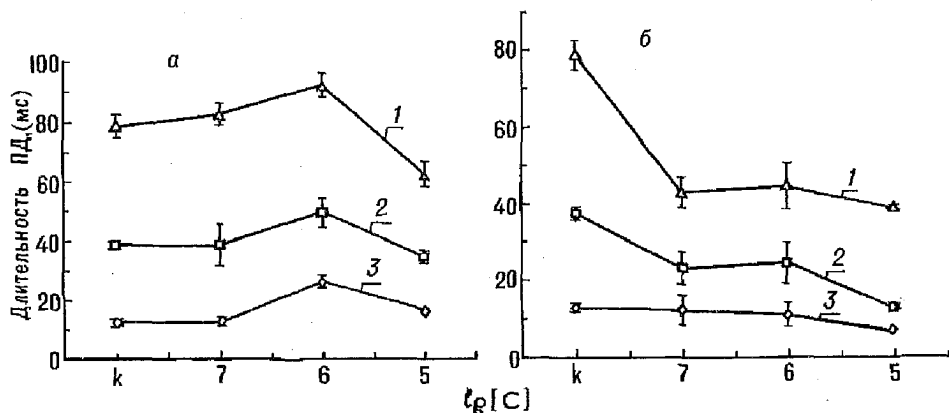


Рис.1. Влияние стимуляции α_1 -адренорецепторов (а) и β_2 -адренорецепторов на длительность потенциала действия кардиомиоцитов правого предсердия крысы. Ось абсцисс – $\log(M)$ концентрации агонистов, ось ординат – длительность ПД (мс) на следующих уровнях реполяризации: 1–90%, 2–50%, 3–10%

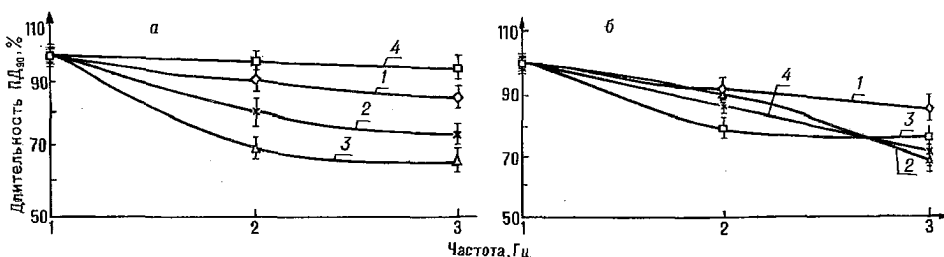


Рис.2. Влияние стимуляции α_1 -адренорецепторов (а) и β_2 -адренорецепторов (б) на зависимость длительности потенциала действия от величины межстимуляционного интервала в кардиомиоцитах правого предсердия крысы. Ось абсцисс – частота стимуляции (Гц), ось ординат – изменение в % длительности потенциала действия на уровне 90% реполяризации: 1 – контроль, 2,3,4 – концентрации агонистов 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} М соответственно

Подобное разнонаправленное влияние α_1 -адреноагониста на зависимость частота стимуляции – длительность ПД в кардиомиоцитах, по-видимому, связано с неоднозначным влиянием цитоплазматического кальция на электрофизиологические параметры клетки. Укорочение ПД при повышении частоты стимуляции связывают с увеличением содержания внутриклеточного кальция, достигаемого как за счет фазы деполяризации ПД, так и за счет активации в этих условиях натрий-кальциевого обмена, что, как уже указывалось, вызывает повышение g_k в покое и ускоряет кинетику активации g_k [5–7]. Чувствительность же процесса реполяризации к интервалу между последовательными возбужде-

ниями сердца может зависеть от способности клеточных кальцийдепонирующих систем обеспечить эффективное депонирование ионов кальция при переходе от одной частоты сердечного ритма к другой. Возможно, что повышение цитозольной концентрации кальция при стимуляции α_1 -адренорецепторов, осуществляемое по метаболитропному пути и связанное с опосредуемым фосфоинозитол 1,4,5-трифосфатом выходом кальция из саркоплазматического ретикулума [4], может оказать стимулирующее действие на реполяризующие калиевые токи. По-видимому, это способно привести к усилению частотно-временной зависимости в миокарде. В то же время колебания концентрации свободного кальция при переходе от одной частоты сердечного ритма к другой могут быть подавлены при приложении больших концентраций агониста, вызывающих массивный выброс кальция в цитоплазму. Вероятно, в таких условиях Ca^{2+} не успевает рециклироваться при укорочении межстимуляционного интервала между последовательными возбуждениями сердца. Известно, что стойкое повышение концентрации кальция, например, в гипоксических кардиомиоцитах нарушает их способность реагировать укорочением ПД на повышение частоты стимуляции [8].

β_1 -адреноагонист изопреналин, вводимый в перфузируемый раствор в концентрации 10^{-7} – 10^{-5} М при частоте стимуляции препаратов 1 Гц, вызывал в условиях наших опытов уменьшение длительности ПД без четкой дозозависимости (рис.1б), но не оказывал выраженного влияния на уровень потенциала покоя и амплитуду потенциала действия. Литературные данные о влиянии стимуляции β_2 -адренорецепторного пути на временные параметры ПД кардиомиоцитов противоречивы: описано как увеличение и уменьшение длительности ПД, так и бифазный ответ в зависимости от концентрации агонистов [1,9]. Такая неоднозначность может быть связана с тем, что и Ca^{2+} -каналы L-типа и задержанные выпрямляющие калиевые каналы, оказывающие разнонаправленное влияние на длительность ПД, активируются цАМФ-зависимыми протеинкиназами при стимуляции адренорецепторов, причем в одинаковой степени и одновременно [10]. Кроме того, высокие концентрации агонистов β_2 -адренорецепторов, применяемые в наших исследованиях, способны активировать цАМФ-зависимый хлорный ток, который может вносить определенный вклад в уменьшение длительности ПД [1]. Полученные нами данные согласуются с литературными: уменьшение длительности ПД, начиная с концентрации 10^{-7} М изопротеренола, описано для изолированных кардиомиоцитов, хотя применение меньших концентраций пролонгировало ПД [1].

Несмотря на уменьшение длительности ПД, которое в случае стимуляции α_1 -адренорецепторов сопровождалось ослаблением зависимости длительности ПД от величины межстимуляционного интервала, для кардиомиоцитов со стимулированными β_2 -адренорецепторами при концентрациях агониста 10^{-6} – 10^{-5} М характерно достоверное уменьшение ДПД₉₀ при увеличении частоты стимуляции препаратов от 1 до 2 Гц, что не наблюдалось в контрольных условиях. Как видно из рис.2б, повышение частоты стимуляции препаратов до 3 Гц увеличивало степень уменьшения длительности ПД₉₀ до $70 \pm 3,6$, $68 \pm 3,8$ и $74 \pm 4,1\%$ от первоначального уровня для 10^{-7} , 10^{-6} и 10^{-5} М агониста соответственно, тогда как в контрольных условиях укорочение достигало $87 \pm 3,5\%$ ($n=6$, $P<0,05$).

Таким образом, стимуляция β_2 -адренорецепторов вызывает определенное повышение чувствительности реполяризации к укорочению интервала между последовательными возбуждениями сердца. Можно предположить, что дополнительное поступление Ca^{2+} при увеличении частоты стимуляции на фоне уже активированного через β_2 -адренорецепторы потока кальция через потенциал-зависимые каналы L-типа способно все же вызвать дополнительное увеличение калиевой проводимости и обеспечить реагирование клетки на укорочение межстимуляционного интервала. Возможно, это связано с тем, что стимуляция β_2 -адренорецепторов улучшает и релаксационные возможности миокарда, а следовательно, и эффективность депонирования ионов кальция. Этот эффект связывают со способностью стимулировать сарколеммальную K^+Na^+ -АТФазу, что, в свою очередь, увеличивает трансмембранный градиент ионов натрия и ведет к активации выхода Ca^{2+} из клетки по механизму $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ обмена [10].

Проведенные нами исследования показали, что проявление зависимости длительности ПД от величины межстимуляционного интервала в миокарде

существенно модифицируется при активации различных типов мембранных рецепторов, контролирующих внутриклеточный уровень кальция с использованием различных биохимических регуляторных путей. Эти регуляторные воздействия, реализующие свои эффекты через системы различных вторичных мессенджеров, способны сами по себе изменить характер интеграции клеточной системы транспорта ионов, учитывая их способность различным образом модулировать состояние ионных каналов. Однако все они тем или иным образом влияют на концентрацию цитоплазматического кальция. Процессы же, в регуляции которых участвует кальций, весьма динамичны, и соотношение между скоростью высвобождения, динамикой функциональных кальцийзависимых процессов и его депонированием могут существенно изменить клеточную электрофизиологическую активность. В зависимости от параметров кальциевого стимула и особенностей изменения внутриклеточного кальция данный катион может явиться триггером, запускающим определенный тип клеточных событий. В условиях наших экспериментов, это, по-видимому, может привести к ослаблению или усилению зависимости длительности ПД от величины межстимуляционного интервала.

Выявленная неоднородность в степени реагирования реполяризации ПД на укорочение интервала между последовательными возбуждениями сердца в случае стимуляции α_1 -адренорецепторов может вызвать в миокарде неомогенное распределение ПД по их длительности, особенно в условиях различной плотности постсинаптических рецепторов. Подобная неоднородная модуляция электрофизиологических свойств миокардиальной мембраны в этих условиях может явиться предпосылкой нарушения сердечного ритма при изменении частоты сердечных сокращений.

1. Priori S. G., Corr P. B. // Amer. J. Physiol. 1990. V.258. Pt.2. P.H1796.
2. Inoue H., Lepes D. P. // Circulation. 1982. V.75. P.877.
3. Levesque P. C., Clarc C. D., Zakarov S. I. et al. // Pflugers. Arch. 1993. V.424. №1. P.54.
4. Miura I., Inui I., Imamura H. // Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 1978. V.301. P.201.
6. Костюк П. Г. Кальций и клеточная возбудимость. М., 1986.
7. Caroni P., Carafoli E. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1982. V.79. P.5763.
8. Ten E., Baumgarten C., Singler D. // Progr. cardiovasc. Dis. 1981. V.24. P.157.
9. Katsahiko H., Toshihiko I. // Amer. J. Physiol. 1994. V.266. P.H1551.
10. Suard J., Pery-Man N., Coirault C. et al. // Amer. J. Physiol. 1994. V.267. P.H184.