

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

С.А.Афанасьев, Д.С.Кондратьева, Л.П.Цапко, С.В.Попов, Р.С.Карпов

ОСОБЕННОСТИ ИНОТРОПНЫХ РЕАКЦИЙ МИОКАРДЕ КРЫС НА ЭКСТРАСИСТОЛИЧЕСКИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРИ СОЧЕТАННОМ РАЗВИТИИ ПОСТИНФАРКТНОГО КАРДИОСКЛЕРОЗА И САХАРНОГО ДИАБЕТА

Учреждение РАМН НИИ кардиологии СО РАМН, Томск, Россия

С целью оценки аритмогенной резистентности миокарда при сочетанном развитии постинфарктного ремоделирования и сахарного диабета исследовали особенности экстрасистолических и постэкстрасистолических инотропных реакций миокарда у 28 половозрелых крыс-самцов линии Вистар.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, постинфарктный кардиосклероз, сахарный диабет, экстрасистолия, саркоплазматический ретикулум.

To assess arrhythmogenic myocardial resistance in the course of a combination of post-infarction remodeling and diabetes mellitus, peculiarities of extrasystolic and post-extrasystolic inotropic responses were studied in 28 mature male Wistar rats.

Key words: coronary artery disease, post-infarction cardiosclerosis, diabetes mellitus, extrasystole, sarcoplasmic reticulum.

Сочетанное развитие нескольких заболеваний, имеющих общий орган поражения, может значительно повлиять на протекание патологических процессов. Известно, что метаболические изменения, вызванные ишемическим воздействием на сердечную мышцу, провоцируют нарушение ионного транспорта в кардиомиоцитах, в том числе функции Ca^{2+} -транспортирующих систем саркоплазматического ретикулума (СПР), что рассматривается как одна из причин развития аритмий у больных ишемической болезнью сердца [4, 7, 10, 13]. С другой стороны показано, что сократительная дисфункция миокарда при диабетическом поражении связана с ремоделированием мембран кардиомиоцитов конечными продуктами гликозилирования и свободно-радикального окисления [14]. При этом нарушение энергетического метаболизма может служить дополнительным фактором дисбаланса гомеостаза Ca^{2+} в кардиомиоцитах. Вместе с тем, изменение внутриклеточного гомеостаза Ca^{2+} и электромеханического сопряжения при сочетанном развитии ишемической болезни сердца и сахарного диабета не достаточно изучено.

Целью работы было исследовать особенности экстрасистолических и постэкстрасистолических инотропных реакций миокарда при сочетанном развитии постинфарктного кардиосклероза и сахарного диабета в эксперименте.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 28 половозрелых крысах-самцах одного возраста, линии Вистар. Сформировано 3 группы животных: I группа (12 крыс) - интактные животные; II группа (8 крыс) - животные с постинфарктным кардиосклерозом; III группа (8 крыс) - животные с постинфарктным кардиосклерозом и сахарным диабетом. Инфаркт миокарда моделировали путем окклюзии левой нисходящей коронарной артерии, после чего животных содержали в стандартных условиях вивария [11]. Через 6 недель у этих животных морфологически верифицировали постинфарктный кардиосклероз [3].

Развитие гипертрофии сердца оценивали по соотношению массы тела животного к массе сердца, а гипертрофию левого желудочка по соотношению его массы к массе сердца [1]. В III группе через 2 недели после коронароокклюзии животным моделировали сахарный диабет, используя однократную внутривенную инъекцию стрептозотоцина («Sigma», США) в дозе 60 мг/кг [2]. Развитие диабета контролировали по изменению концентрации глюкозы в сыворотке крови, используя ферментно-колориметрический тест («Bioson Diagnostic», Германия).

В сердцах крыс, подвергшихся коронароокклюзии, методом планиметрии, оценивали размер постинфарктных рубцов [6]. Для изучения сократительной активности миокарда использовали папиллярные мышцы левого желудочка [5]. Изолированные папиллярные мышцы, помещали в термостабилизированную проточную камеру. Один конец мышцы фиксировали к стенке камеры, а второй - закрепляли на штоке изометрического датчика (механоэлектрический преобразователь 6MX1C). Перфузию мышц осуществляли при 36,5°C оксигенированным (O_2 - 95%, CO_2 - 5%) раствором Кребса-Хензеляйта. Стимуляцию мышц проводили электрическими импульсами прямоугольной формы длительностью 5 мс. Частота стимулирующих импульсов составляла 0,5 Гц. Экстрасистолическое воздействие оказывали, нанося однократный внеочередной электрический импульс через 0,2-1,5 секунды от начала регулярного цикла [13]. В нашем исследовании, каждое последующее экстрасистолическое воздействие выполняли через 3 минуты, за это время происходило восстановление сократимости мышц до уровня базовых значений. Регистрировали кривые экстрасистолического ЭС и постэкстрасистолического (ПЭС) сокращения (рис. 1), их амплитуды выражали в процентах к амплитуде регулярного цикла сокращения и представляли как $M \pm \text{SEM}$. Достоверность полученных результатов оценивали по непараметрическому критерию U Манна-Уитни.

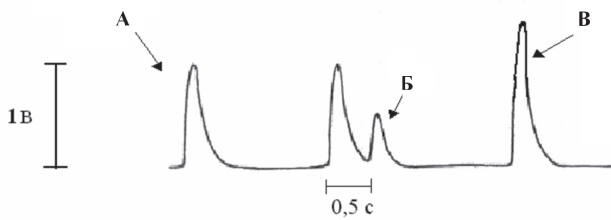


Рис. 1. Инотропная реакция папиллярных мышц на экстрасистолическое воздействие, где А - регулярное сокращение; Б - изменения формы кривой под действием экстрасистолического импульса через 0,5с. от начала регулярного стимула; В - постэкстрасистолическое сокращение.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Формирование постинфарктного кардиосклероза у крыс II группы сопровождалось снижением массы тела на 18,8% и напротив, гипертрофией сердца на 90% по сравнению с интактными животными I группы (см. табл. 1). В тех случаях, когда развитие постинфарктного кардиосклероза сочеталось с индукцией диабета (III группа), у животных было отмечено еще более выраженное снижение массы тела на 26%, тогда как гипертрофия сердца практически отсутствовала. При этом оказалось, что по выраженности гипертрофии левого желудочка и площади зоны рубца различия между опытными группами были не значительны (табл. 1).

При исследовании сократительной активности папиллярных мышц было установлено, что во всех трёх группах, воздействие внеочередным электрическим импульсом, оказываемое не менее чем через 0,25 с. от начала регулярно цикла, вызывало появление экстрасистолического инотропного ответа (рис. 2). Известно, что инотропный ответ сердечной мышцы на внеочередной электрический импульс возникает только в случае попадания этого импульса в фазу относительной рефрактерности потенциала действия [12]. С учетом этого, можно сказать, что миокард животных, исследуемых групп, имел практически равную по длительности фазу абсолютной рефрактерности и, соответственно, плато потенциала действия. Однако уже при таком экстрасистолическом интервале, амплитуда инотропного ответа папиллярных мышц, выделенных из ремоделированных сердец животных II и III групп, была достоверно больше чем у папиллярных мышц интактных животных, но практически не различимы между собой. С увеличением длительности экстрасистолических интервалов, во всех группах было отмечено повышение амплитуды экстрасистолического сокращения. При этом обнаруженное различие между II и контрольной группами заметно усилилось. Так, если при 0,25 с. экстрасистоли-

ческом интервале разница в инотропном ответе составляла 7%, то при интервале в 1,5 с. различие достигало 15%. В группе с сочетанной патологией такой эффект отсутствовал, напротив, с увеличением экстрасистолического интервала было отмечено уменьшение разницы в инотропном ответе мышц III и контрольной групп с 10% при 0,25 с. до 4% при 1,5 с. интервале.

Известно, что при ишемическом поражении в клетках нарушается работа АТФ-зависимых процессов [8]. В кардиомиоцитах одним из основных потребителей АТФ являются ионтранспортирующие системы сарколеммы и СПР. Поскольку экстрасистолические сокращения во всех группах были выявлены при равной минимальной длительности экстрасистолических интервалов, есть основания считать, что исследуемые патологии на рассматриваемом этапе своего развития значимо не повлияли на возбудимость кардиомиоцитов, формирующих папиллярные мышцы левого желудочка. Можно предположить, что обнаруженное различие в большей степени определялось состоянием СПР.

Согласно существующим представлениям об электромеханическом сопряжении, импульс электрической стимуляции, попадающий в 3 фазу потенциала действия не способен вызвать сократительный ответ, но инициирует дополнительное поступление ионов внешнего кальция в миоплазму кардиомиоцитов, которые аккумулируются в СПР и участвуют в первом постэкстрасистолическом цикле сокращение-расслабление. В результате амплитуда ПЭС сокращения превышает значение регулярного цикла [12]. При нанесении возбуждения в фазу относительной рефрактерности, выраженность экстрасистолического сокращения определяется как входящим Ca^{2+} , так и внутриклеточными ионами. Их источником могут являться структуры СПР. В этих условиях, величина ПЭС сокращения отражает эффективность работы Ca^{2+} -транспортирующих систем СПР.

Результаты измерения амплитуды ПЭС сокращений, полученные в нашем исследовании, представлены на рис. 3. Видно, что инотропная реакция на изменение длительности экстрасистолических интервалов, в исследуемых группах была различна. Так в миокарде интактных животных (I группа) при экстрасистолических интервалах, не вызывающих дополнительного инотропного ответа, мы получили выраженное уве-

Таблица 1.

Морфометрические показатели тела и сердца, а так же содержание глюкозы в крови крыс на фоне экспериментальной коронароокклюзии и сахарного диабета ($M \pm SEM$)

Группа	Масса тела (г)	Глюкоза (моль/л)	Масса сердца / масса тела (мг/г)	Масса левого желудочка /масса сердца	Площадь зоны рубца (%)
I	298±23,7	6±0,37	3,29±0,21	0,645±0,013	-
II	242±11,17**	7±0,13	6,27±0,33**	0,687±0,016**	51,3±8,9
III	221±4,51*#	18±1,79*#	3,37±0,11#	0,673±0,019	46,1±9,7

где, I - интактные животные; II - животные после коронароокклюзии; III - животные с сочетанным поражением (коронароокклюзия + сахарный диабет); * - $p < 0,01$, ** - $p < 0,05$ достоверное различие по сравнению с I группой; # - $p < 0,05$ достоверное различие между II и III группами.

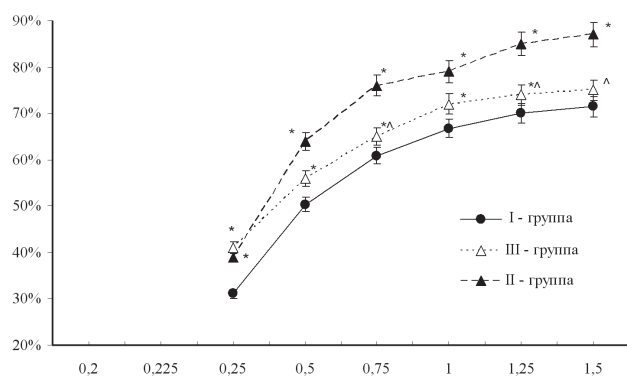


Рис. 2. Динамика амплитуды экстрасистолических сокращений папиллярных мышц исследуемых групп крыс, здесь и далее по оси ординат - амплитуда экстрасистолических сокращений в процентах по отношению к исходным значениям; по оси абсцисс - экстрасистолический интервал (в секундах); * - $p < 0,05$ достоверность различий по отношению к группе интактных животных (I); ^ - $p < 0,05$ достоверность различий между животными с коронароокклюзией (II) и животными с сочетанной патологией (III).

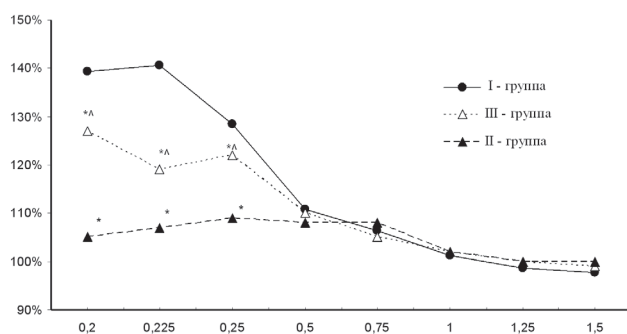


Рис. 3. Динамика амплитуды постэкстрасистолических сокращений папиллярных мышц исследуемых групп крыс.

личение амплитуды ПЭС сокращений. С появлением экстрасистолических сокращений (интервал 0,25 с. и выше), амплитуда ПЭС сокращений снизилась и не намного превышала показатели регулярных сокращений. При исследовании папиллярных мышц животных II группы, сердца которых претерпели ремоделирование после коронароокклюзии, амплитуда постэкстрасистолических сокращений, вне зависимости от длитель-

ности экстрасистолического интервала, достоверно не превышала значения регулярных циклов сокращения. У животных III группы, при сочетанном развитии постинфарктного ремоделирования и диабета мы получили промежуточный результат. В этой группе, как и у интактных животных, внеочередные воздействия электрических импульсов с короткими экстрасистолическими интервалами вызывало хоть и ослабленное, но достоверное повышение ПЭС сокращения на 27-19% (рис. 3). При использовании длительных экстрасистолических интервалов, изменения показателя были аналогичны другим группам.

Результаты, полученные при исследовании миокарда животных I и II групп, не противоречат работам других авторов и свидетельствуют о том, что в условиях постинфарктного ремоделирования в СПР кардиомиоцитов нарушается функция систем, ответственных за захват и удержание ионов кальция [13]. Исследование животных III группы дает основание говорить, что индукция диабета при постинфарктном ремоделировании способна парадоксально сохранять функцию систем ионного транспорта отвечающих, в частности, за работу СПР как внутриклеточного депо Ca^{2+} . Этот результат согласуются с данными о повышении ишемической резистентности миокарда (in vivo и in vitro) животных с небольшим сроком стрептозоточин - индуцированного диабета [6, 9].

ВЫВОДЫ

1. Развитие ремоделирование сердца после экспериментального инфаркта миокарда увеличивает инотропную реакцию миокарда крыс на экстрасистолические воздействия за счет нарушения работы Ca^{2+} -транспортирующих систем СПР кардиомиоцитов.
2. Развитие сахарного диабета одновременно с постинфарктным ремоделированием сердца, сдерживает увеличение экстрасистолического инотропного ответа и напротив сохраняет высокую постэкстрасистолическую сократимость миокарда крыс.
3. Сочетанное развитие постинфарктного ремоделирования сердца и сахарного диабета в эксперименте обеспечивает большую аритмогенную резистентность процесса электромеханического сопряжения, что снижает вероятность развития гемодинамически значимых экстрасистолий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. /Медицинская морфометрия: Руководство. М.: Медицина, 1990, 384 с.
2. Дубилей Т.А., Бадова Т.А., Мигован С.А., Рущкевич Ю.Е. Влияние ишемии/реперфузии на функцию изолированного сердца у крыс разного возраста со стрептозотоциновым диабетом// Пробл. старения и долголетия, 2007, 16, № 1, с. 11-20.
3. Кондратьева Д.С., Афанасьев С.А., Фалалеева Л.П., Шахов В.П. Инотропная реакция миокарда крыс с постинфарктным кардиосклерозом на экстрасистолические воздействия// Бюлл. exper. биол. и мед., 2005, № 6, с. 613-616.
4. Кондратьева Д.С., Афанасьев С.А., Евтушенко А.В. и др. Сравнительная оценка инотропной реакции изо-

- лированного миокарда пациентов с ишемической и ревматической болезнью сердца после кратковременных периодов покоя на фоне амиодарона// Кардиология, 2008, №10, с. 45-50.
5. Усачева М.А., Попкова Е.В., Смирнова Е.А. и др. Адаптация сердечно-сосудистой системы к постинфарктному кардиосклерозу у крыс с разной врожденной адренореактивностью миокарда// Бюлл. exper. биол. и мед., 2007, т.144, №12, с.624-628.
6. Chen H., Shen W.L., Wang X.H. et al. Paradoxically enhanced heart tolerance to ischaemia in type 1 diabetes and role of increased osmolarity// Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.. 2006, v.33(10), p.910-916.
7. Lamberts R.R., Hamdani N., Soekhoe T.W. et al. Fre-

- quency-dependent myofilament Ca^{2+} desensitization in failing rat myocardium // *J. Physiol.*, 2007, v.582(Pt 2), p.695-709.
8. Mackiewicz U., Maczewski M., Konior A. et al. Sarcolemmal Ca^{2+} -ATPase ability to transport Ca^{2+} gradually diminishes after myocardial infarction in the rat // *Cardiovasc. Res.*, 2009, v.81(3), p.546-554.
9. Nawata T., Takahashi N., Ooie T. et al. Cardioprotection by streptozotocin-induced diabetes and insulin against ischemia/reperfusion injury in rats // *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 2002, v.40, № 4, p. 491-500.
10. Palomeque J., Petroff M.V., Sapia L. et al. Multiple alterations in Ca^{2+} handling determine the negative staircase in a cellular heart failure model // *J. Card. Fail.*, 2007, v.13(2), p.143-154.
11. Sun Y.L., Hu S.J., Wang L.H. et al. Effect of β -Blockers on Cardiac Function and Calcium Handling Protein in Postinfarction Heart Failure Rats // *Chest.*, 2005, v.128, c 1812-1821.
12. Vassallo D.V., Lima E.Q., Campagnaro P. et al. Mechanisms underlying the genesis of post-extrasystolic potentiation in rat cardiac muscle // *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 1995, v.28(3), p.377-383.
13. Yano M., Ikeda Y., Matsuzaki M. Altered intracellular Ca^{2+} handling in heart failure // *J. Clin. Invest.*, 2005, v.115, p.556-564.
14. Ziegelhöffner-Mihalovicová B., Waczulíková I., Sikurová L. et al. Remodelling of the sarcolemma in diabetic rat hearts: the role of membrane fluidity // *Mol. Cell Biochem.*, 2003, v.249(1-2), p.175-182.

ОСОБЕННОСТИ ИНОТРОПНЫХ РЕАКЦИЙ МИОКАРДЕ КРЫС НА ЭКСТРАСИСТОЛИЧЕСКИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРИ СОЧЕТАННОМ РАЗВИТИИ ПОСТИНФАРКТНОГО КАРДИОСКЛЕРОЗА И САХАРНОГО ДИАБЕТА

С.А.Афанасьев, Д.С.Кондратьева, Л.П.Цапко, С.В.Попов, Р.С.Карпов

С целью исследования особенностей extrasystolic (ЭС) и post-extrasystolic (ПЭС) инотропных реакций миокарда при сочетанном развитии постинфарктного кардиосклероза (ПИК) и сахарного диабета (СД) проведены эксперименты на 28 половозрелых крысах-самцах одного возраста, линии Вистар, в том числе 12 - интактных, 8 - с ПИК и 8 - с ПИК и СД. Инфаркт миокарда моделировали путем окклюзии левой нисходящей коронарной артерии, через 6 недель у этих животных морфологически верифицировали ПИК. В группе с ПИК и СД через 2 недели после коронароокклюзии моделировали СД, используя однократную внутривенную инъекцию стрептозотоцина, развитие СД контролировали по изменению концентрации глюкозы в сыворотке крови. При стимуляции на папиллярные мышцы левого желудочка наносили ЭС воздействие, регистрировали кривые ЭС и ПЭС сокращения, их амплитуды выражали в процентах к амплитуде регулярного цикла. С увеличением длительности ЭС интервалов, во всех группах было отмечено повышение амплитуды ЭС сокращения. При этом обнаружили различие между интактными крысами и животными с ПИК. В группе с ПИК и СД с увеличением ЭС интервала было отмечено уменьшение разницы в инотропном ответе мышц с контрольной группой. Таким образом ПИК увеличивает инотропную реакцию миокарда крыс на ЭС воздействия за счет нарушения работы Ca^{2+} -транспортирующих систем кардиомиоцитов. Развитие СД одновременно с ПИК сдерживает увеличение ЭС инотропного ответа и напротив сохраняет высокую ПЭС сократимость миокарда крыс. Сочетание ПИК и СД в эксперименте обеспечивает большую аритмогенную резистентность процесса электромеханического сопряжения, что снижает вероятность развития гемодинамически значимых extrasystoles.

PECULIARITIES OF INTROPIC RESPONSE OF THE RAT MYOCARDIUM TO EXTRASYSTOLES IN THE CASE OF COMBINATION OF POST-INFARCTION CARDIOSCLEROSIS AND DIABETES MELLITUS

S.A. Afanasyev, D.S. Kondratyeva, L.P. Tsapko, S.V. Popov, R.S. Karpov

To study peculiarities of extrasystolic (EX) and post-extrasystolic (PEX) inotropic myocardial responses in the case of combination of post-infarction cardiosclerosis (PIC) and diabetes mellitus (DM), the experiments were made on 28 mature Wistar male rats of the same age including 12 intact rats, 8 ones with PIC, and 8 ones with the combination of PIC and DM. The myocardial infarction was caused by occlusion of the left descending coronary artery; the post-infarction cardiosclerosis was morphologically verified 6 weeks later. In the animal group with both PIC and DM, diabetes mellitus was modeled 2 weeks after the coronary occlusion by a single intra-peritoneal injection of Streptozotocin; the DM development was controlled by the change in the serum glucose level.

An EX application was delivered to papillary muscles of the left ventricle; the curves of EX and PEX contractions were then recorded, their amplitudes were calculated in percent of the amplitude of the regular cycle. An increase in EX interval duration resulted in an increased EX contraction amplitude in all animals.

The following difference was found between the intact rats and the animals with PIC. In the rat groups with both PIC and DM, an increased EX interval was characterized by a decreased difference in the muscular inotropic response as compared with the control group. Thus, PIC is associated with an increased inotropic response of the rat myocardium as a result of an altered functioning of Ca^{2+} transport system of cardiomyocytes. The development of DM simultaneously with PIC suppresses an increased EX inotropic response and, on the contrary, preserved a high PEX myocardial contractility of the rat myocardium. Combination of PIC and DM in an experiment provides a more pronounced arrhythmogenic resistance of the electromechanical coupling, which is associated with a decreased possibility of development of the hemodynamically significant extrasystoles.