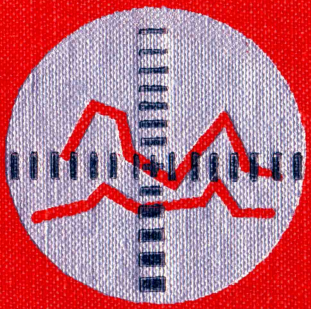
АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА



СВЕРДЛОВСК

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

ВЫП. 92 ТРУДЫ ИНСТИТУТА ЭКОЛОГИИ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ 1974

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА

СВЕРДЛОВСК

УДК 612.172

Клеточные механизмы регуляции сократимости миокарда. Сб. статей. Свердловск, 1974 (УНЦ АН СССР).

В статьях сборника рассматриваются вопросы клеточных механизмов регуляции сократимости миокарда и проблема электромеханического сопряжения ритмически работающего миокарда. Приведены новые данные о влиянии на миокард частоты сердцебиений, температуры, растяжения, ионов, медиаторов. Три статьи сборника посвящены обзору узловых проблем клеточной физиологии сердечной мышцы.

Книга предназначена для физиологов, биофизиков, зоологов, врачей и студентов соответствующих специальностей.

Ответственный редактор **В. Я. Изаков.**

© УНЦ АН СССР, 1974.

ПРЕДИСЛОВИЕ

В настоящее время широко исследуется сердечно-сосудистая система в норме и патологии. Большинство работ посвящено насосной функции сердца и регуляции деятельности миокарда в целом организме. Значительно меньше внимания уделяется основным свойствам миокарда и характеру функционирования клеточных структур. Сведения о них рассеяны по многочисленным изданиям. Процессы регуляции сердечной деятельности и адаптивных сдвигов не будут полностью поняты до тех пор, пока не уяснены клеточные механизмы, управляющие сократимостью миокарда. В сборнике суммируются некоторые результаты исследований клеточных систем регуляции сократимости миокарда, преимущественно холоднокровных, проведенных в Институте экологии растений и животных Уральского научного центра и на кафедре нормальной физиологии Свердловского медицинского института. Экспериментальным работам предпослано несколько обзорных статей, которые помогут понять существо излагаемых вопросов, значение экспериментального материала и некоторых наших обобщений по данной проблеме.

Большинство работ посвящено изучению влияния различных факторов (частоты сердцебиений, температуры, степени растяжения, ионов, медиаторов) на основные этапы электромеханического сопряжения. Исследования выполнены с применением современных методик — микроэлектродной техники, фиксации тока в сахарозном мостике. Авторы стремились не только выявить феноменологическую картину деятельности клеточных регуляторных систем миокарда, но и понять биологический смысл и общефизиологическое значение наблюдаемых сдвигов. В ряде работ исследуются ионные механизмы, которые лежат в основе электромеханического сопряжения — аппарата, через который в свою очередь реализуются нервные и гуморальные влияния. Объект исследования довольно широк — это миокард лягушки, рыбы, черепахи, крысы. Кроме того, сделана попытка сопоставить свойства различных отделов миокарда одного животного. Даже немногочисленные полученные нами сведения говорят о глубоких различиях в характере электромеханического сопряжения и клеточных регуляторных систем в миокарде разных видов, с одной стороны, и между предсердиями и желудочками одного животного — с другой. Авторы надеются, что настоящий сборник будет полезен физиологам, зоологам, врачам и всем тем, кто в своих исследованиях сталкивается с изучением деятельности миокарда.

В. Я. ИЗАКОВ

МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОК МИОКАРДА

Сопоставление данных по ультраструктуре клеток с динамическими характеристиками необходимо. Однако до недавнего времени это сопоставление носило часто внешний характер — осуществлялась «привязка» функции к структуре. В настоящее время возросло число работ с одновременным использованием физиологических (электрофизиологических) и цитологических приемов исследования [1—4], наметилась комплексная разработка проблем деятельности клетки. Применительно к миокарду речь идет о решении проблем электромеханического сопряжения, проведения возбуждения от клетки к клетке, автоматии, гипертрофии миокарда и некоторых других. Цель настоящей статьи — осветить те черты субклеточной архитектуры, которые необходимы для понимания центральной проблемы регулирования сократимости миокарда, проблемы электромеханического сопряжения.

Установлено, что миокард имеет типичное клеточное строение [5—7], а не синцитиальное, как предполагалось ранее. Электронномикроскопические исследования показали, что никогда плазматический материал одной клетки не переходит в другую, а разделяется мембранами того или иного типа, и вследствие особой организации клеточных контактов и особенностей процессов возбуждения, а также высокой синхронной деятельности клеток, миокард является синцитием в физиологическом плане. Основная структурная и функциональная единица миокарда — клетка. Как и в большинстве сократительных клеток, миокардиальные имеют контрактильный материал и другие составляющие: ядро, митохондрии, лизосомы, цитоплазматический ретикулюм и т. д. Ограничимся рассмотрением саркоплазматического ретикулюма и некоторых других органелл. Контрактильный материал не разбирается подробно, ибо этот вопрос достаточно хорошо освещен в литературе.

Сердечная мышца состоит из отдельных клеток диаметром 8—20 *мк*. Размеры волокон варьируют в зависимости от вида животного и отдела миокарда. При гипертрофии размер клеток возрастает, увеличивается число миофибрилл, митохондрий, повышается количество гликогена [8]. Обычно клетки

напоминают цилиндр (длина 50—100 *мк*) и организованы в колонны. Показано, что некоторое количество мышечных волокон окружено микрофасцией [9]. Под световым микроскопом миокардиальные клетки имеют центрально локализованное ядро (реже ядра) и поперечную исчерченность, которая обусловлена организацией контрактильных единиц — миофибрилл. Последние чаще всего ориентированы параллельно длинной оси клеток и обладают повторяющимися саркомерами. Саркомеры разграничиваются *Z*-линиями и являются функциональными единицами акта сокращения. Миофибриллы содержат периодически повторяющиеся *A* и *I*-полосы. Полоса *A* обладает двойным лучепреломлением, анизотропна в поляризованном свете; полоса *I* — с меньшим двойным лучепреломлением, изотропна в поляризованном свете, располагается по обеим сторонам *A*-полосы и внутри саркомера делится пополам *Z*-линией.

В сердце млекопитающих при фиксированной диастолической длине саркомер имеет длину 2,2 *мк*, где на долю *A*-полосы приходится 1,5 *мк* и по 0,35 *мк* на каждую половину *I*-полосы [10—12]. Саркомеры содержат два типа филаментов, степень перекрытия между которыми зависит от начальной длины препарата. Организация саркомеров и протомиофибрилл в миокарде аналогична таковой в скелетной мышце. Однако, в отличие от последней, длина саркомера — не постоянная величина. Толстые миозиновые протомиофибриллы (100 Å в диаметре) идут внутри А-полос, тонкие нити (50—70 Å в диаметре) состоят в основном из актина и располагаются по обеим сторонам *Z*-полосы. Шесть актиновых нитей в *A*-полосе окружают одну миозиновую и равно удалены от нее. Расстояние между соседними миозиновыми нитями около 40 Å. Вблизи *Z*-полосы взаиморасположение нитей актина меняется, и гексагональная организация переходит в квадратоподобную с расстоянием волокон друг от друга 220 Å. Актиновые и миозиновые нити соединяются поперечными мостиками. В пространстве между поверхностной мембраной и миофиламентами располагаются митохондрии, лизосомы и саркоплазматический ретикулюм. Митохондрии представляют собой столбики, в отдельных местах образующие скопления.

Согласно описаниям многих авторов [13—18], сарколемма сердечных клеток состоит из внутренней плазматической мембраны толщиной 60—120 Å, разделенной промежутком 100 Å от наружной, менее плотной основной мембраны толщиной 150—300 Å. Плазматическая мембрана имеет ту же молекулярную архитектуру, что и другие возбудимые мембраны [19—21] — она трехслойна. Два темных наружных слоя разделены светлым, каждый толщиной приблизительно 30 Å. Техника замораживающего протравливания (technique of freeze-etching) по-

зволила изучить особенности поверхностной мембраны клеток миокарда более подробно. Показано, что миокардиальная плазматическая мембрана имеет удлиненные впячивания, складки, круглые ямочки и впадины, а также популяцию маленьких частичек. Круглые ямочки соответствуют открытию Т-тубул [22]. Мембрана около поверхности содержит большое число везикул, которые, вероятно, выполняют функции пиноцитоза и экзоцитоза. Микропиноцитозная активность в субсарколеммальной области коррелирует с развитостью Т-системы. Пиноцитозная активность проявляется в захвате цитохимической метки и хорошо выражена в аурикулярной мышце черепахи и предсердии крыс [23, 24], но ее практически нет в желудочке крысы, клетки которого имеют хорошо развитую Т-систему [24].

Организация ядра в клетках миокарда в общих чертах такая же, как и в других клетках. Оно располагается в центре клетки и окружено двухслойной «элементарной» мембраной толщиной 60—90 Å. Наружный листок ядерной оболочки переходит в мембраны саркоплазматического ретикулюма [25]. В ядерной оболочке имеются крупные поры (200—1000 Å), и она, вероятно, проницаема для крупнодисперсных частиц. При гиперфункции миокарда, когда идет усиленный синтез белков, ядро образует множественные выпячивания. Интересно, что не все ядра гипертрофированного миокарда претерпевают подобные изменения. Это, как предполагается, связано с неравномерным участием в работе органа различных мышечных клеток. Под фазовоконтрастным микроскопом видно, что при сокращении происходит изменение формы ядра — из вытянутой она становится округлой или овальной [26]. Механические деформации ядра не могут не влиять на функцию и метаболизм клетки. Вероятно, механические воздействия на ядро при растяжении или сокращении — важный момент в сопряжении специфической функции клетки с ее метаболическим (пластическим) обеспечением.

Внутренняя архитектоника митохондрий сердца не отличается от структуры «стандартных» митохондрий, однако в клетках миокарда их значительно больше, чем в других органах. Важно подчеркнуть, что форма и внутренняя организация митохондрий в значительной мере определяются их функциональным состоянием. Наружный и внутренний листки митохондрий, как и в ядре, образуются «элементарными» мембранами. От внутренней мембраны отходят многочисленные выпячивания — кристы, на которых фиксированы различные ферменты и ферментные ансамбли. Количество крист в митохондриях сердца сравнительно велико, что свидетельствует об интенсивной выработке энергии [27—29]. Пространство между кристами заполняет мелкозернистый матрикс. В матриксе митохондрий миокарда часто встречаются осмиофильные гранулы диаметром 250—300 Å. Это, видимо, скопление катехоламинов.

Митохондрии сердца эмбрионов по сравнению с митохондриями взрослых животных имеют меньшие размеры, более редкие кристы и большую вариабельность конфигурации внутренней мембраны. Митохондрии сердца человека с явлениями кардиомиопатии по ультраструктуре схожи с митохондриями сердца зародыша [30]. Это обусловлено их повышенной дыхательной активностью и интенсификацией связывания кальция. Предполагается, что приближение митохондрий к эмбриональному типу связано с адаптацией пораженной ткани к кислородной недостаточности.

В саркоплазме миокарда выделяются также микросомы, лизосомы, аппарат Гольджи и цитогранулы. Считается, что микротельца (овальные образования диаметром 0,05—0,5 *мк*) — это скопление катехоламинов [31]. Однако микротельца не дают хромаффинной реакции [32], что отрицает данное предположение. Их особенно много в миокарде предсердий, и при недостатке кислорода количество микротелец еще больше возрастает. Функциональная роль микротелец миокарда изучена недостаточно.

Лизосомы имеют такие же размеры, как и микротельца, и благодаря им осуществляется переработка и удаление продуктов клеточного метаболизма. Так как лизосомы окружены мембраной, их влияние в норме на содержимое цитоплазмы невелико. Накопление некоторых метаболитов, изменение pH и осмотического давления цитоплазмы повышают проницаемость мембран лизосом и приводят к выходу цитолизирующих ферментов в матрикс цитоплазмы. Ультрафиолетовые лучи, токсины микробов, ряд фармакологических веществ увеличивают проницаемость мембран лизосом; гормоны коры надпочечников уменьшают ее. В миокарде детей лизосомы крайне редки, их число увеличивается с возрастом.

Около полюса мышечных клеток располагается аппарат Гольджи, представляющий собой скопление пузырьков и трубочек различной величины. Это, вероятно, часть эндоплазматической сети, состоящая из уплотненных цистерн (диктосом), на которых отсутствуют рибосомы [33]. В миокарде эта структура развита слабо и функция ее не ясна. Кроме того, в клетках сердца обычно много гранул гликогена и рибосом. Рибосомы часто объединяются в группы, или полисомы, в которых идет синтез полипептидных цепей.

САРКОПЛАЗМАТИЧЕСКИЙ РЕТИКУЛЮМ И Т-СИСТЕМА

Данные о существовании сетчатых цитоплазматических структур были получены еще в прошлом веке [34] — под световым микроскопом обнаружены нити, идущие от Z-линий саркомеров к поверхностной оболочке. Эти структуры назвали ретикулярным аппаратом. Под электронным микроскопом они

были описаны в 1953 г. и названы саркоплазматическим ретикулюмом [35]. Их подразделили на две части: 1) поперечные трубочки, идущие к *Z*-линиям или к условным линиям соединения *A*- и *I*-полос (Т-система или трансверзальная тубулярная система); 2) продольные трубкоподобные, реже везикулярные структуры, которые организованы в ярусы и находятся в близком контакте с миофибриллами (собственно саркоплазматический ретикулюм). В настоящее время наметилось четкое терминологическое разделение Т-системы и саркоплазматического ретикулюма.

Классическая схема, выведенная по данным электронной микроскопии, полагает, что полости двух отдельных частей внутренней мембранной системы не сообщаются между собой и между ними, т. е. Т-системой и саркоплазматическим ретикулюмом, всегда имеется пространство до 100 Å — как бы своеобразный электрический синапс. Из этого исходит идея о различной функциональной роли трансверзальных тубул и саркоплазматического ретикулюма. Доказательства в пользу их структурной раздельности являются критическими в проблеме электромеханической связи [36]. Отсутствие морфологического перехода, раздельность двух частей саркотубулярной системы были продемонстрированы в скелетной мышце при экспозиции в изотоническом растворе хлористого калия. Поперечные тубулы при этом набухали, а продольные оставались неизменными. Пока неясно, является сказанное отражением различий в свойствах мембран разных частей тубулярной системы или открытия Т-системы в межклеточные пространства.

По описанию [37], саркоплазматический ретикулюм состоит из ограниченных мембранами пузырьков, трубочек, цистерн, объединенных в непрерывную ретикулярную структуру, которая образует как бы чехол вокруг миофибрилл. В скелетной мышце он обладает организацией, повторяющейся в каждом саркомере, так что вся система сегментирована в соответствии со структурными периодами связанных с нею миофибрилл.

Описаны также участки, где Т-система контактирует с боковыми вздутиями (терминальные цистерны) мембран саркоплазматического ретикулюма, так называемые «триады» и «диады» (рис. 1, 3—5). В понятие триады входит совокупность следующих структур: конечная часть трансверзальной трубки, выпячивания продольных трубочек (терминальные цистерны, или латеральные мешочки) из смежных саркомеров. Указанный контакт располагается в области *Z*-линий. Диадами были названы почти аналогичные структуры с той лишь разницей, что Т-система контактирует с латеральными мешочками только одного саркомера.

Открытие Т-тубул в интерстициальное пространство установлено на скелетной мышце [38, 39]. Частицы ферритина (110 Å

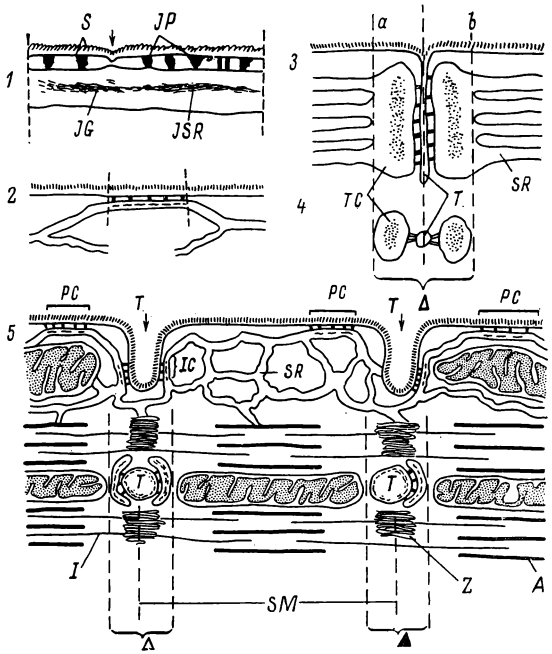


Рис. 1. Схема типов связи ретикулюма с поверхностной мембраной.

1 — тип периферической связи: *S* — сарколемма, *JSR* — контактный саркоплазматический ретикулюм, *JG* — контактные гранулы, *JP* — контактные отростки;
2 — периферическая связь — участок С (саркоплазматический ретикулюм контактирует непосредственно с поверхностной мембраной);
3 — внутренняя связь в скелетной мышце позвоночных: *a* и *b* — два латеральных мешочка смежных саркомеров, Δ — триада, *SR* — саркоплазматический ретикулюм, *T* — трансверзальные тубулы, *TC* — гранулярные включения;
4 — срез через триаду;
5 — периферическая (PC) и внутренняя связь в сердце млекопитающих, ▲ — диада, *A* — *A* — полоса, *SM* — саркомер [57].

в диаметре) обнаруживаются «внутри» клетки, если крупные молекулы поместить во внеклеточную жидкость. Так как маловероятно, чтобы частицы такой величины проходили через интактную мембрану, то следовало предположить, что Т-система прямо открывается в интерстициальные пространства. Аналогичное заключение было сделано и при использовании других крупнодисперсных веществ. Наличие Т-системы, которая представляет собой впячивания поверхностной мембраны в глубь клетки, объясняет данные Хилла [40] о том, что диффузионным процессом нельзя объяснить быструю связь возбуждения и сокращения в скелетной мышце. Если возбуждение проводится по Т-системе, то при этом должно уменьшаться расстояние, на которое возбуждение распространяет свое действие при инициации сокращения: диффузионное расстояние будет равно уже не радиусу волокна, а всего 1—2 *мк* — наибольшему расстоянию, отделяющему мембрану Т-системы от миофибрилл в каждой ассоциации «триада — миофибрилла».

Ряд экспериментов [41—43] показал, что Т-система действительно проводит волну возбуждения внутрь клетки: локальная электрическая деполяризация волокна скелетной мышцы лягушки в области *Z*-линии саркомера вызывала локальный контрактильный ответ. В настоящее время появилась возможность из-

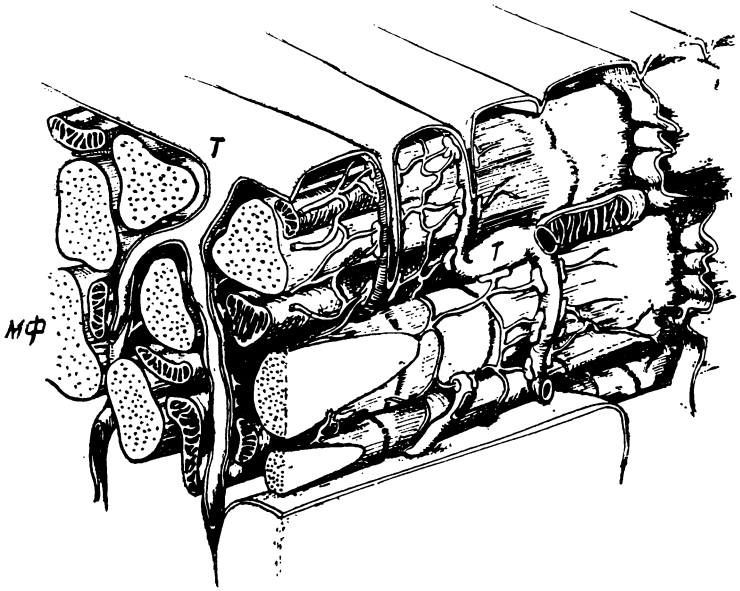


Рис. 2. Схематическая диаграмма внутренних мембранных систем сердечной мышцы млекопитающих.

МФ — миофибриллы, *Т* — Т-система. В местах контакта Т-системы и саркоплазматического ретикулюма видны «колбоподобные» структуры (аналог терминальных цистерн). Они отделены от Т-системы просветом в 100 Å [17].

бирательно разрушать Т-систему: волокно помещается в гипертонический раствор глицерина, а затем вновь переносится в нормальный раствор. Электронномикроскопические исследования таких препаратов показывают повреждение 95% тубул [44—45].

Итак, можно выделить следующие особенности строения саркотубулярной системы скелетной мышцы: 1) она состоит из двух раздельных частей — Т-системы и саркоплазматического ретикулюма, которые контактируют в области «триад» или «диад», 2) Т-система представляет собой полую трубку, которая открывается в межклеточное пространство на уровне *Z*-линий (реже на уровне контакта *A* и *I*-дисков саркомера) и содержимым которой является интерстициальная жидкость; 3) саркоплазматический ретикулюм сегментирован и обычно захватывает несколько саркомеров. Продольные трубочки заканчиваются вздутиями — терминальными цистернами.

Исследования сердечной мышцы теплокровных также показали, что имеются две различные системы саркотубулярной сети — поперечная и продольная [46—48] (рис. 2). В общем виде Т-система состоит из овоидных трубочек, пронизывающих мембрану на уровне *Z*-линий. Иногда видно, что соседние сет-

чатые структуры связаны между собой ориентированными в продольном направлении трубочками того же типа [49—51]. Трансверзальные тубулы в миокарде имеют значительно больший диаметр по сравнению со скелетной мышцей и всегда локализованы на уровне *Z*-линий. Это установлено с помощью техники замораживающего протравливания и электронной микроскопии [52, 53]. Наружные апертуры Т-тубул на поверхности сарколеммы сгруппированы в ряды в соответствии с распределением *Z*-линий саркомеров. В отличие от скелетной мышцы в сердце млекопитающих Т-система значительно короче и покрыта изнутри основной мембраной [54]. Т-система сердец не меняется при глицеринизации, как и параметры внутриклеточных потенциалов действия. Это объясняется тем, что Т-тубулы миокарда широки, коротки и вследствие этого быстро достигается равновесие с омывающей средой. Поэтому разрыва Т-тубул после того, как препарат переносится из гипертонического раствора (глицерина) в нормальный, не происходит.

Согласно одним авторам [55], в миокарде, как и в скелетной мышце, не существует открытых коммуникаций между Т-тубулами и саркоплазматическим ретикулюмом. В ряде работ встречаются сообщения о прямом переходе двух частей саркотубулярной сети [23]. Как и в скелетной мышце, в клетках миокарда имеется непрерывная связь между плазматической мембраной и стенками трубочек Т-системы, и просвет тубул свободно сообщается с внеклеточной средой [53, 56]. Об этом свидетельствуют и исследования с ферритином и продуктами пероксидазной реакции [24, 57]. Т-система, через которую внеклеточная жидкость может проникать «внутрь» клетки, отсутствует в волокнах Пуркинье, предсердиях млекопитающих [23, 24] и, как правило, в сердце холоднокровных [17]. Около трансверзальных тубул часто наблюдаются пиноцитотические пузырьки. Высказано предположение, что они отпочковываются от тубул Т-системы.

Характерная особенность Т-системы миокарда (и это отличает ее от Т-системы скелетных мышц) — боковые ветвления. При использовании продуктов пероксидазной реакции показано [58], что боковые ответвления Т-тубул идут через всю клетку и постепенно уменьшаются до размеров трубочек саркоплазматического ретикулюма. Образуется глубоко разветвленная сеть поверхностной мембраны внутри клетки, через которую экстраклеточная среда очень близко подходит к миофиламентам. Однако указанное строение создает трудности в интерпретации материала и уверенном разделении саркоплазматического ретикулюма и Т-системы. Можно утверждать, что саркоплазматический ретикулюм не может быть идентифицирован без использования экстраклеточных меток. Данный вопрос требует тщательного изучения, поскольку имеет важное значение для проблемы электромеханической связи [59—61].

Если в скелетной мышце саркоплазматический ретикулюм представляет собой внутриклеточную сеть тубул с более или менее четкой топографией по отношению к саркомеру с выраженной сегментарностью, то в сердце млекопитающих — это широковетвящаяся регулярная сеть, окружающая контрактильный аппарат и непрерывная от саркомера к саркомеру с диаметром трубочек 20—60 *нм* [62]. Распространение от саркомера к саркомеру саркоплазматического ретикулюма, а также обильные латеральные ветвления Т-системы в сердечной мышце объясняют, почему в миокарде не смогли обнаружить локализованных сокращений, применяя раздражающий ток [41].

В противоположность саркоплазматическому ретикулюму скелетной мышцы, который около Т-тубул оканчивается так называемыми терминальными цистернами, в сердце теплокровных такие структуры не найдены. Однако некоторые гомологи последних существуют — небольшие колбочкообразные расширения. Такие расширения, кроме того, обнаруживаются вдоль сарколеммы и в тесной связи с интеркалярными дисками [63—65]. В участках, где нет Т-тубул, они заменены системой трубочек саркоплазматической сети и соединены с соседними трубочками, окружающими миофибриллы. Применительно к миокарду аналоги терминальных цистерн предложено обозначать контактным саркоплазматическим ретикулюмом [57] (другие термины — субсарколеммальные цистерны [56], периферический каплинг [62]).

Места сцепления Т-системы и саркоплазматического ретикулюма характеризуются гранулярными включениями, которые подобны найденным в цистернах скелетных мышц [66—68]. Присутствие в них кислых мукополисахаридов позволяет предположить, что хондроитсульфат может обеспечивать связывание кальция в данных участках. Тогда возникает вопрос о роли той доли саркоплазматического ретикулюма, которая не содержит гранулярных включений. Наличие раздельных локусов для высвобождения и поглощения кальция постулируется и на основании физиологических исследований.

Уже давно было известно, что клетки синоатриального, атриовентрикулярного узлов и проводящей системы желудочков как морфологически, так и функционально отличаются от клеток рабочего миокарда. Однако на различия между предсердными и желудочковыми клетками одного животного обращалось мало внимания. Сопоставить же данные разных авторов, изучающих строение предсердий и желудочков раздельно, крайне трудно ввиду многообразия подходов, методики, используемой терминологии и интерпретации полученных данных. Вот почему особый интерес представляют работы, где одновременно изучаются оба отдела сердца, ибо физиологам известны глубокие различия между предсердиями и желудочками в форме внутриклеточных потенциалов, их ионном генезе, параметрах

сокращений, в характере реагирования на фармакологические воздействия и на смену частоты сердцебиений.

Гистохимические наблюдения показали, что предсердные и желудочковые клетки различаются по содержанию холинэстераз [69, 70], сукцинатдегидрогеназы и других ферментов окисления [71, 72]. Установлено, что в предсердиях крысы активность цитохромов и дегидрогеназ меньше, чем в желудочках [71]. Электронномикроскопические исследования показали различия во внутренней структуре цитоплазмы, организации саркоплазматического ретикулюма в предсердиях и желудочках. В желудочке кошки размер клеток 10—12 *мк*, хорошо развит саркоплазматический ретикулюм и обильны Т-тубулы. Клетки предсердий меньшего размера (5—6 *мк*), содержат мало Т-тубул, много субсарколеммальных цистерн, чем напоминают миокард холоднокровных. Аналогично в предсердии крысы слабо выражена Т-система и саркоплазматический ретикулюм [71]. Установлено поразительное сходство между клетками желудочка крысы в первые недели постнатального развития и клетками предсердий взрослой крысы [73]. Сразу после рождения Т-системы еще нет, миофибриллы локализуются преимущественно по периферии клеток, тем не менее скорость сокращения велика. Через две недели постнатального развития миофибриллы появляются и в центре клетки, одновременно становятся видимыми Т-тубулы. Митохондрии в предсердии крысы меньших размеров, с меньшим количеством внутренних крист, что коррелирует с малым уровнем совершаемой механической работы [71].

В ряде работ показано, что в мышце предсердий имеются цитоплазматические гранулы [72, 74]. Высказано предположение, что это продукты секреции предсердных клеток. Секреция мышечных клеток не парадокс, ибо известно, что юкстагломерулярные клетки, которые являются модифицированными гладкомышечными, обладают секреторной функцией. Согласно другому мнению, предсердные гранулы — это участки, где хранятся катехоламины (ввиду внешнего сходства с катехоламинсодержащими гранулами клеток мозгового слоя надпочечников и хромаффинными клетками сердец циклостом). Однако гранулы в надпочечниках уменьшаются при резерпинизации, а в предсердиях слабо реагируют на резерпин. Число гранул увеличивается при действии адреналина и уменьшается под влиянием атропина и гемихолиниума.

Миокардиальные клетки холоднокровных имеют особенности по сравнению с миокардом теплокровных [75—78]: они меньших размеров и отделены друг от друга значительно большими межклеточными промежутками; в клетках амфибий не обнаруживается Т-система; саркоплазматический ретикулюм развит относительно слабо [76]. Об отсутствии Т-системы в миокарде холоднокровных свидетельствуют и физиологические данные [61, 79, 80]. Отмывание после глицеринизации не ведет

к разобщению электромеханического сопряжения, как это наблюдается в скелетной мышце [81, 82].

Саркоплазматический ретикулюм в сердце холоднокровных представлен в виде мелких, рассеянных, окруженных мембранами пузырьков, которые не имеют какого-либо закрепленного отношения к саркомерам. В некоторых участках элементы саркотубулярной мембраны близко прилегают к клеточной мембране. Иногда небольшие везикулы встречаются в межфибриллярных пространствах в области *Z*-линий. Непосредственно под мембраной выявляется большое количество мелких пиноцитотических пузырьков. Можно считать за правило, что количество субсарколеммальных пузырьков обратно пропорционально развитости саркоплазматического ретикулюма и Т-системы. Хотя Т-тубулы в сердце холоднокровных и не встречаются, их морфологическим эквивалентом являются субсарколеммальные впячивания, которые некоторые авторы называют короткими Т-тубулами [83]. Размеры их непостоянны и топографическая связь с *Z*-линией случайна.

Бедность элементов саркоплазматической системы выявлена и в исследованиях миокарда золотых рыбок [78]. У них саркотубулярная система представлена в виде рассеянной по протоплазме сети, не окружающей миофибриллы, а лишь частично располагающейся около них. В этих клетках не обнаружено какого-либо специализированного расположения саркотубулярных элементов, как в клетках теплокровных. Так же, как и в клетках амфибий, здесь отсутствует Т-система. Примечательно, что наряду со слабовыраженным саркоплазматическим ретикулюмом в сердце рыб выявляются саркоплазматические цистерны в непосредственной близости от внутренней поверхности клеточной мембраны. Структура таких примембранных цистерн не похожа на плоские мешочки, располагающиеся в клетках теплокровных,— их контуры извилисты. Такого рода взаимоотношения между «цистернами» и поверхностной мембраной напоминают связь между тубулой Т-системы и терминальной цистерной у теплокровных [84]. Необходимо подчеркнуть, что различия между миокардом холоднокровных и теплокровных в целом весьма относительны; неменьшие различия имеются между клетками различных отделов миокарда одного и того же животного.

Характерная особенность организации внутренних мембранных систем миокарда — тесная связь ретикулюма с поверхностной мембраной [85]. Соммер и Джонсон [55, 57] предложили называть ту часть ретикулюма, которая подходит к поверхностной мембране, контактным саркоплазматическим ретикулюмом (junctional sarcoplasmic reticulum) (см. рис. 1, *1*, *2*, *5*). В нем найдены малые плотные гранулы неясной природы. В участках с тесной топографической связью между сарколеммой и контактным ретикулюмом отмечаются плотные постоянные мостики — контактные отростки. Таким образом, этот

структурный комплекс содержит сарколемму, контактный саркоплазматический ретикулюм и контактные мостики.

В сердце рептилий Т-система отсутствует, а вместо нее наблюдаются небольшие впячивания мембраны в области *Z*-линий. У черепахи саркоплазматический ретикулюм находится на расстоянии 80—100 Å от мембраны и напоминает субсарколеммальные цистерны, которые описаны недавно в сердце крысы [71]. Аналогичные структуры найдены в миокарде жабы, в сердце оболочечников и в нервных клетках вообще. В желудочке ящериц имеется хорошо развитый саркоплазматический ретикулюм, представляющий собой систему анастомозирующих трубочек, которые распространяются от саркомера к саркомеру [86]. Т-тубул здесь нет, но саркоплазматический ретикулюм находится в тесном контакте с плазмолеммой. Клетки диаметром 2—7 *мк*. Сердце птиц напоминает по основным свойствам миокард рептилий [87, 88]. Здесь также нет Т-системы и клетки диаметром 3—7 *мк*. Однако у птиц обильны миофибриллы и митохондрии; саркоплазматический ретикулюм хорошо развит, что можно связать с большой скоростью сокращения сердца птиц.

Для выяснения природы электромеханического сопряжения принципиально установить, какая часть поверхностей мембраны (сама мембрана или Т-система) устанавливает контакт с саркоплазматическим ретикулюмом. В скелетной мышце такая связь осуществляется через трансверзальные тубулы (внутренний тип связи), и непосредственное сопряжение ретикулюма с сарколеммой (периферическая связь) отсутствует. Периферическая связь является, вероятно, инвариантным свойством мышечных волокон сердца. В *P*-волокнах всех животных и в некоторых сократительных волокнах предсердий и желудочков это единственный тип связи. В других мышечных сердечных клетках (*V*-клетки) оба типа связи сочетаются (см. рис. 1, 5). Инвариантная черта в обоих случаях — гранулы, которые располагаются в центре контактного саркоплазматического ретикулюма. Контактные гранулы — гомолог гранулярного материала терминальных цистерн скелетных мышц [89], которые содержат ионы кальция. Радиоавтографические исследования позволяют предполагать, что кальций хранится в терминальных цистернах, из которых он высвобождается при возбуждении [90].

В сердце мелких млекопитающих (кролика, мыши, морской свинки, кошки, крысы) найдено две популяции волокон и в предсердиях, и в желудочках. Они отличаются наличием или отсутствием Т-системы [57]. Локализация одного типа волокон в желудочке соответствует распределению сети волокон Пуркинье, которые известны как часть проводящей системы (*P*-волокна). Различие между классическими волокнами Пуркинье и *P*-волокнами состоит в том, что последние имеют намного меньший диаметр и обладают хорошо выраженным контрак-

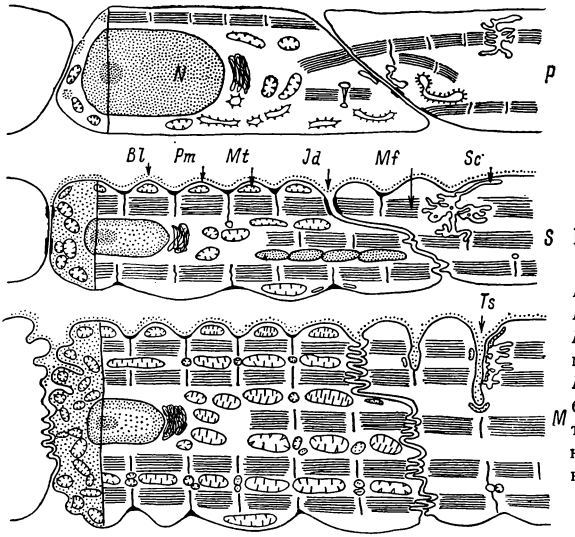


Рис. 3. Схема типов миокардиальных клеток.

Bl — основная мембрана, *Id* — интеркалярный диск, *Mf* — миофибриллы, *Mt* — митохондрии, *N* — ядро, *Pm* — плазматическая мембрана, *Sc* — саркоплазматический ретикулюм, связанный с поверхностной мембраной, *Ts* — трансверзальная тубулярная система [88].

тильным аппаратом. В свою очередь *P*-волокна значительно (в 3—4 раза) больше в диаметре сократительных волокон в сердце цыпленка, но малое отличие в диаметре между *P*-волокнами и сократительными волокнами в миокарде мелких млекопитающих. Можно предположить, что более быстрая скорость проведения в *P*-волокнах связана с уменьшением мембранной емкости за счет отсутствия Т-тубул.

По мнению авторов [57], наличие или отсутствие Т-системы — наиболее существенный критерий для различения *P*-волокон и сократительных *V*-волокон. Интересно, что около *P*-волокон расположены нервные волокна, у сократительных *V*-волокон их нет. Мионевральные контакты в обоих случаях отсутствуют. Если Соммер и Джонсон [57] предлагают делить волокна на *P*- и *V*-типы, то Хираков [88] выделяет три типа миокардиальных клеток (рис. 3): 1) примитивный, эмбриональный — тип *P*; 2) вентрикулярный, или тип М (волокна млекопитающих); 3) S-тип.

Так как одни сократительные клетки имеют Т-систему, а другие нет, возникает вопрос о ее функциональной роли. В толстых волокнах, например в скелетных мышцах, трансверзальные тубулы необходимы, вероятно, для уменьшения расстояния диффузии вещества, которое активирует сокращение. В волокнах малого диаметра в этом нет необходимости. Согласно другому мнению [57], Т-система миокарда является важным эволюционным приспособлением, ибо обеспечивает возможность существования компенсаторной гипертрофии. Интересно, что наличие или отсутствие Т-тубул коррелирует не с размерами

клеток, а с количеством в них контрактильного материала. В целом следует признать, что роль Т-системы в миокардиальных клетках далеко не ясна, несмотря на то, что их структура изучена неплохо. Можно предположить, что через саркоплазматический ретикулюм осуществляется выделение кальция из клетки по механизму экзоцитоза.

В заключение можно отметить следующее. Саркоплазматический ретикулюм хорошо развит в мышцах, в которых полный цикл сокращения протекает достаточно быстро. Удлинение цикла коррелирует с уменьшением диаметра клеток и более слабым развитием саркотубулярной сети. Анатомические параллели между скелетной мышцей и миокардом и терминология, используемая для описания, часто оказываются неадекватными, особенно в сердце холоднокровных. Характер субклеточной архитектоники контролирующих систем миокарда заставляет предполагать глубокие различия в механизме электромеханического сопряжения в сердце разных животных и в разных отделах сердца одного животного.

МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Эберт в 1866 г., импрегнируя серебром сердца взрослых животных, нашел, что серебро локализуется в участках между клетками, и предположил, что оно окрашивает межклеточный цемент. Однако это не обнаружено в эмбриональных сердцах. Так как участки фиксации серебра в сердце (интеркалярные диски) появлялись в онтогенезе довольно поздно, это интерпретировалось как доказательство в пользу их внутриклеточного происхождения и синцитиальной природы сердечной ткани. Закон «все или ничего», бездекрементное проведение возбуждения, напоминающее свойства одиночного нерва и волокна скелетной мышцы, свидетельствовали, что сердечная мышца и в функциональном плане является синцитием. Это представление существовало до 50-х годов. Когда применили электронный микроскоп, нашли, что в области интеркалярных дисков мембраны соседних клеток разделены расстоянием 150—200 Å [91—93]. Аналогичные, но менее развитые структуры были обнаружены в эмбриональных сердцах млекопитающих [46]. В межклеточном пространстве этих структур найден электронноплотный материал. В области интеркалярного диска миофибриллы *I*-полосы прикреплялись к плазматической мембране. Область интеркалярного диска с межклеточным пространством 130 Å получила название L-пространства, а затем десмосомы [94].

Последующие электронномикроскопические исследования выявили морфологическую неоднородность межклеточных контактов. В частности, было показано наличие в сердце сплавленных мембран, которые получили название нексусов [95—98]. Они фигурируют также под названием tight junction, close

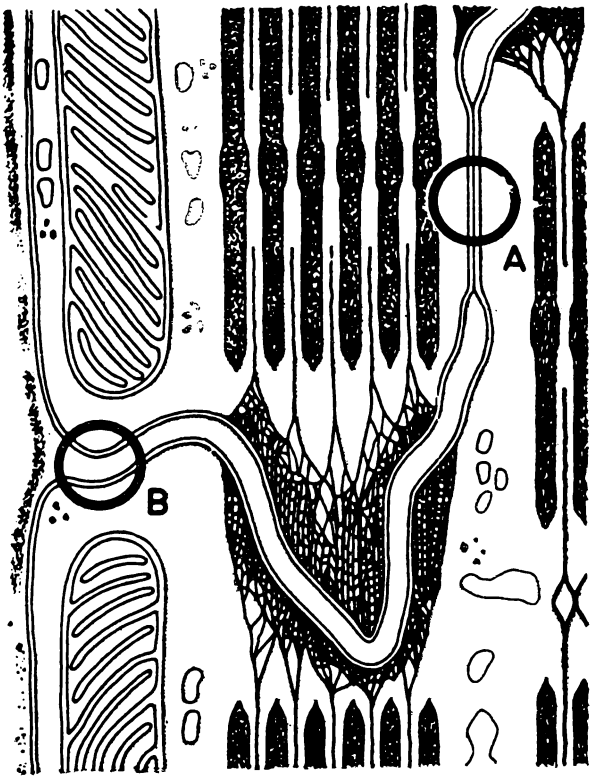


Рис. 4. Схема межклеточных контактов в миокарде млекопитающих.

А — нексус, *В* — недифференцированная область, в центре — fascia adherens [93].

junction, gag junction, fascia occludens. Многочисленность терминов отражает эволюцию в интерпретации этого типа контактов. После открытия нексусов клеточные контакты сердца млекопитающих могут быть подразделены на четыре группы (рис. 4, 5): 1) fascia adherens (область клеточных контактов, видимая в световом микроскопе); 2) десмосомы (macula adherens); 3) нексусы (macula occludens); 4) недифференцированная область. Первые три типа представляют собой специфические структуры соседних мембранных контактов. Размеры и выраженность четырех типов контактов значительно отличаются в рабочем миокарде и проводящей системе.

Необходимо подчеркнуть, что термин «интеркалярный диск» введен на основании данных световой микроскопии, а структуры, видимые в световой микроскоп (fascia adherens) являют-

ся лишь частным случаем клеточных контактов. Другие виды клеточных контактов находятся вне разрешения светового микроскопа. До сих пор этот термин широко распространен и чаще всего обозначает вообще область клеточных контактов без конкретной дифференцировки на подвиды. Большую часть интеркалярного диска в первоначальном смысле занимает fascia adherens. Для проводящей системы, в частности для ткани синусного и атриовентрикулярных узлов, термин «интеркалярный диск» вообще не применим, так как клеточные контакты не видны в световой микроскоп.

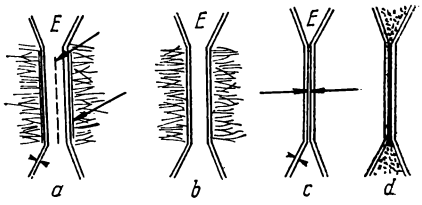


Рис. 5. Виды межклеточных контактов

a — десмосома; *b* — fascia adherens; *c*, *d* — нексус (черным показан лантан, который проникает в узкое пространство между нексусами); *E* — внеклеточное пространство.

В последнее время стали придавать большое значение патологии межклеточных контактов [99—100]. Чаще всего нарушения проявляются в той или иной степени диссоциации мембран в участках контакта. Степень этих сдвигов варьирует: иногда расхождение происходит в недифференцированной области, в других случаях — в области fascia adherens, нексусов или одновременно в нескольких участках. Вероятно, непосредственная причина диссоциации — дефицит ионов кальция [101]. Кроме того, гипоксия, повышение осмотичности среды, гипотермия вызывают значительное увеличение пространства между клетками в миокарде теплокровных. Часто межклеточная диссоциация связана с другими цитопатологическими изменениями, но пока трудно сказать, в чем первопричина. Например, расхождение мембран может быть следствием клеточных изменений или предшествовать им. При митральном стенозе ревматической этиологии наблюдали расширение (до 400—900 Å) вставочных дисков левого желудочка человека. Было сделано предположение, что локальные расширения вставочных дисков являются патоморфологическим субстратом мерцательных аритмий. Непосредственная причина расширения, по мнению автора, — гипоксия. Так как количество вставочных дисков при длительных аритмиях возрастает, допускается новообразование их при длительной гиперфункции. Образование вставочных дисков начинается на ранних стадиях эмбриогенеза и идет одновременно с формированием миофибрилл. По мере развития плода количество вставочных дисков увеличивается и усложняется их ультраструктура.

Fascia adherens. Переменны по величине и занимают основную часть интеркалярного диска. Две смежные клеточные мембраны идут параллельно с расстоянием 250—300Å [75]. Экстраклеточная жидкость в участке контакта непрерывно

переходит в интерстициальное пространство, ибо ферритин легко входит в щель интеркалярного диска [102]. Щель заполнена тонким фибриллярным веществом и обычно не имеет центральной плотной полосы. Цитоплазматические поверхности мембран аккумулируют фибриллярный материал, который носит название филаментозного мата [103]. Тонкие нити *I*-полосы, которые идут от последних *Z*-полос, входят в филаментозный мат, но не входят в macula adherens. Эта разница между fascia и macula adherens устанавливается в ранний эмбриональный период. Филаментозный мат обусловливает повышенную плотность противостоящих мембран. Именно эта плотность и пальцевидные выпячивания смежных клеток длиной в 1 *мк* и менее — два основных фактора, которые обусловливают видимость интеркалярных дисков в световом микроскопе. В области fascia adherens найдены структуры, обеспечивающие электромеханическое сопряжение (Т-система, саркоплазматический ретикулюм [103, 104] и катехоламиноподобные гранулы [75]). У большинства позвоночных (кроме млекопитающих) интеркалярные диски в световой микроскоп не видны, вероятно, ввиду отсутствия пальцевидных выростов мембран.

Десмосомы. Наиболее характерная черта десмосом — наличие очень плотных структур (около 200 Å), которые прилежат к внутренним слоям противостоящих мембран. В щели между мембранами (200 Å) просматривается нитчатый материал, дающий при окрашивании темную полосу в середине. Принято считать, что межклеточный материал необходим для осуществления механической связи клеток (отсюда и его название — «цемент»). Для эпителия общепринято, что цемент — это мукополисахарид, в миокарде его природа неизвестна.

Нексусы. Первоначально нексус представляли как участок тесного контакта двух наружных мембран с пятислойной структурой: темный цитоплазматический слой одной мембраны и ее светлое пространство; темная линия, где сливаются две наружные мембраны смежных клеток; светлое пространство второй мембраны и ее темный цитоплазматический слой. Общая толщина нексуса от внутренней поверхности одной мембраны до внутренней поверхности второй составляла 150 Å. Эти данные были получены при использовании OsO_4 и перманганата. Нексусы были найдены в сердце, гладкой мышце, эпителии и в нервной ткани. Обычно нексусы параллельны длинной оси волокна, однако встречаются и латеральные нексусы [15], особенно в предсердиях. При мягкой фиксации между наружными мембранами нексуса иногда выявлялась щель в 20—30 Å. При использовании лантана было показано, что в сердечной мышце вообще нет сплавленных мембран [105], ибо лантан проникает в пространство между мембранами в области нексуса. Истинное сплавление мембран с облитерацией

экстраклеточного пространства, куда лантан не проникает, имеется только в эпителии некоторых желез, в связи с чем для нексусов сердца синоним tight junction не совсем точен. Обработка гиперосмотическим раствором нарушает нексусы в сердце и в гладких мышцах, но не в эпителии. Существование таких участков с небольшим мостиком теперь показано в сердце многих животных [56, 106].

Нексусы, вероятно, обладают низким сопротивлением для проведения потенциала действия, благодаря чему сердечная мышца работает как функциональный синцитий. Десмосомы и fascia adherens — участки, где осуществляется физическая адгезия клеток [107]. Отсутствие нексусов в миокарде цыпленка и лягушки [62, 108] как будто бы противоречит постулату, что электрическая связь клеток реализуется через нексусы. Можно предположить, что в сердце амфибий нексусы слишком лабильны и разрушаются при изготовлении препаратов. Однако другие [109] считают, что, поскольку нексусы не выявлены у лягушек и цыплят, они вообще не являются участками с низким сопротивлением или, во всяком случае, не играют в проведении потенциала действия приписываемой им критической роли.

На тангенциальных срезах контактов были выявлены субъединицы диаметром 70—75 Å с расстоянием между центрами 90—90 Å. В центре каждой субъединицы имеется электронноплотный сердечник диаметром около 10 Å [106]. Найденная гексагональная организация [105] идентична организации электрического синапса мозга золотой рыбки [110—112]. При использовании техники замораживающего протравливания в дополнение к гексагональной организации на поверхности мембраны нексуса были обнаружены маленькие ямки [106]. Предположили, что ямки в 20—25 Å соответствуют водным порам, которые пересекают мембрану в области нексуса. Если это в дальнейшем подтвердится, то мы вновь должны признать миокард синцитием (и не только с электрофизиологической, но и с морфологической точки зрения). Однако такая синцитиальность крайне ограничена по площади и зависит от величины и свойств водных пор субъединиц нексуса (рис. 6).

Функция раздельных частей интеркалярного диска была выяснена при параллельном электронномикроскопическом и электрофизиологическом исследовании в гипокальциевых растворах [107]. Кратковременная перфузия сердца крысы солевым раствором без кальция приводила к обратимому разобщению возбуждения и сокращения, но не нарушала внутриклеточные системы и межклеточные связи. Более продолжительная перфузия вела к необратимой потере возбудимости и сократимости. Под электронным микроскопом клетки сердца были разъединены только в области «вставочных дисков». Нек-

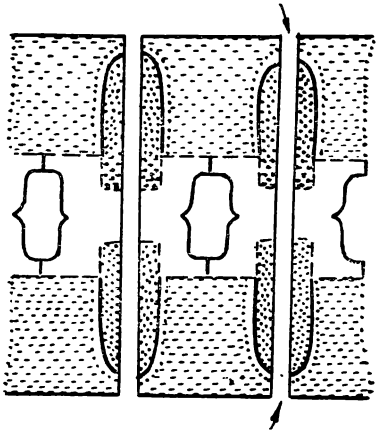


Рис. 6. Организация гидрофильных каналов субъединиц нексуса [106].

сусы и внутриклеточные структуры практически не изменялись. Другие ионы (селен, барий) не заменяли кальций в функции обеспечения межклеточных связей. При использовании двух микроэлектродов было показано, что форма потенциалов действия и скорость межклеточного проведения не менялись при перфузии сократительного миокарда низкокальциевым раствором или раствором с ЭДТА [113]. Напротив, перфузия миокарда гиперосмотическим раствором вела к разрушению нексусов, сохраняя интактными десмосомные участки [47, 114, 115]. В этих условиях электрическая непрерывность клеток нарушалась. Это еще раз доказывает, что нексусы действительно являются участками с низким сопротивлением, которые приспособлены для электрического проведения. Кроме того, эти наблюдения ясно указывают, что биохимическая природа когезии между плазматическими мембранами нексуса качественно отлична от таковой в других участках клеточных контактов. В ряде работ произведена количественная оценка площади нексуса [15]. Так, в предсердии собаки 6% длины клеточных контактов падает на долю нексусов, в желудочке до 10—40%. Возможно, что существует корреляция между количеством нексусов и скоростью проведения возбуждения.

С помощью микроэлектродной техники было показано, что проведение возбуждения в предсердиях, желудочках и проводящей системе осуществляется электротоническим путем [116—120]. Эти данные и результаты опытов с фиксацией напряжения на мембране подтверждают предположение, что клетки миокарда связаны через низкое сопротивление. Аналогичная ситуация в гладкой мышце. И здесь нексусы выполняют функцию проводящего участка. Они могут разрушаться и образовываться в физиологических условиях. Так, мышца матки крысы становится электрически невозбудимой в отсутствие адекватных количеств эстрагенов. Это коррелирует с отсутствием нексусов между гладкомышечными клетками кастрированных крыс и появлением нексусов при последующей обработке эстрагенами.

Эксперименты с диффузией K^{42} в волокнах желудочка овцы [121—123] показывают, что проницаемость межклеточных контактов в 500 раз больше, чем проницаемость поверхностных

мембран к наружунаправленному движению K^{42}. На основании изучения диффузии K^{42} было рассчитано, что верхний предел для диффузионного сопротивления 30 *ом·см*². По другим расчетам [116] он равен 1,0 *ом·см*². При использовании значений постоянной длины, мембранного и цитоплазматического сопротивления, количества нексусов на клетку и площади нексусов вычислили [15], что сопротивление нексусов составляет 1,4 *ом·см*². Таким образом, потенциалы действия распространяются за счет локальных токов через низкое сопротивление межклеточных контактов. Это следует сопоставить с данными о возможном существовании водных пор, которые связывают внутренние поверхности двух клеток в области нексусов. Такие поры могут легко пропускать K^{42} и быть ответственными за электрическую связь сердечных клеток. Аналогичная ситуация и в электрическом синапсе ракообразных [124]. Таким образом, структура нексуса позволяет избежать шунтирования тока межклеточным пространством, вследствие чего миокард ведет себя функционально как синцитий.

В сердце взрослых млекопитающих мышечные клетки имеют цилиндрическую форму и чаще всего связаны друг с другом «конец в конец», хотя иногда — и «бок в бок» [71, 125, 126—128]. В желудочках расположение контактов довольно периодическое. Большая часть их приходится на fascia adherens. Между этими участками разбросаны десмосомы и нексусы. В продольных контактах нексусы большей протяженности. В предсердиях соотношение продольных и поперечных сегментов иное, чем в желудочках, интеркалярные диски располагаются косо по отношению к длинной оси клетки, на значительном расстоянии друг от друга [56], не имеют взаимовпячиваний. Количество нексусов одинаково в рабочем миокарде и в волокнах Пуркинье. Разница, вероятно, состоит в отношении площади нексусов к общей площади клеточных контактов, общей поверхности мембраны, чем, в свою очередь можно объяснить разницу в скорости распространения возбуждения. В синусном и атриовентрикулярном узлах нексусы меньше в размерах и встречаются значительно реже, чем в других участках миокарда, что обусловливает медленную скорость проведения возбуждения в ткани узлов.

Долгое время считалось, что нексусы встречаются только в сердце млекопитающих. Вопрос об их наличии в миокарде птиц и холоднокровных оставался неясным. Так, нексусы не были найдены в сердце миноги, золотой рыбки [77, 78], лягушки [57, 76], жабы [129], саламандры, аксолотля, черепахи [75], змеи [130], цыпленка. Электронномикроскопическими исследованиями [131] на сердце золотой рыбки, черепахи, аксолотля, цыплят были обнаружены короткие нексусы. Трудности идентификации нексусов в сердцах холоднокровных связаны с малой длиной этих участков. Кроме того, нексусов здесь мно-

го меньше, чем других видов клеточных контактов. Интересно, что нексусы у холоднокровных плохо идентифицируются не только в миокардиальных клетках, но и в эпителиальных. Таким образом, во всех сердцах имеется общая структурная основа для распространения возбуждения.

ЛИТЕРАТУРА

1. K. M. Baldwin. J. Cell Biol., 1970, **47**, 455—476.
2. M. E. Anderson, D. Smith. Tissue Cell, 1971, **3**, 191—206.
3. L. J. DeFelice, C. E. Challice. Circulation Res., 1969, **24**, 457—474.
4. F. Denoit-Mazet, G. Vassort. J. Microscop., 1971, **12**, 413—424.
5. Д. Смит. Электронномикроскопическая анатомия. М., «Мир», 1967, стр. 141—155.
6. А. И. Струков, В. С. Пауков. Архив патологии, 1969, **4**, 3—17.
7. В. В. Глаголева, Ю. С. Чечулин. Ультраструктурная основа нарушений функций сердечной мышцы. М., «Медицина», 1968.
8. Y. Grosgogeat, G. Roubelakis. Ann. Cardiol. et Angeol, 1971, **20**, 581—589.
9. B. Kisch. Exper. Med. Surg., 1966, **24**, 220—228.
10. E. H. Sonnenblick, D. Spiro, H. M. Sponitz. Amer. Heart. J., 1964, **68**, 336.
11. D. Spiro, E. H. Sonnenblick. Circulation Res., 1964, **14**, 11—14.
12. E. H. Sonnenblick. Circulation, 1968, **38**, 29—44
13. D. H. Moore, H. Ruska. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1957, **3**, 261—268.
14. H. Ruska. Electrophysiology of the heart. Milan, 1965, 1—19.
15. A. W. Spira. J. Ultrast. Res., 1971, **34**, 409—425.
16. R. J. Stenger, D. Spiro. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1961, **9**, 325—351.
17. D. A. Nelson, S. S. Benson. J. Cell Biol., 1963, **16**, 297—313.
18. A. R. Muir. J. Anat., Lond., 1957, **91**, 251—258.
19. Н. А. Боровягин. Биофизика, 1971, **16**, 746—766.
20. J. B. Finean. Progr. Biophys., 1966, **16**, 143—170.
21. R. W. Hendler. Phys. Rev., 1971, **51**, 66—97.
22. L. V. Leak. J. Uitrast. Res., 1970, **31**, 76—94.
23. W. G. Forssman, L. Girardier. Zs. Zellforsch., 1966, **95**, 249—275.
24. W. G. Forssman, L. Girardier. J. Cell Biol., 1970, **44**, 1—19.
25. Д. С. Саркисов, Б. В. Втюрин. Электронная микроскопия деструктивных и регенеративных внутриклеточных процессов. М., «Медицина», 1967.
26. P. Gallo. Riv. Biol., 1971, **64**, 413—427.
27. Current aspects of bochemical energetics. Ed. N. O. Kaplan, E. P. Kennedy. N.Y., 1966.
28. B. T. Storey. J. Theor. Biol., 1971, **31**, 533—552.
29. A. L. Lehninger. Bioenergetics. The molecular basis of biological energy transformation. Baltimore, 1965.
30. L. A. Sordahl, A. L. Crow, J. Kraft, S. Schwartz. Arch. Biochem., 1972, **132**, 404—415.
31. S. Bloom. J. Cell Biol., 1970, **44**, 218—223.
32. B. A. Kisch. Exp. Med. Surg., 1963, **21**, 193—221.
33. D. J. Moore, H. H. Mollenhauer, C. E. Bracker. Resulta and Probl. Cell. Diff., 1971, **2**, 82—126.
34. G. Retzius. Biol. Untersuch., 1881, **1**, 1—26.
35. H. S. Bennet, K. P. Porter. Amer J. Anat., 1953, **93**, 61—105.
36. A. Sandow. Pharm. Rev., 1965, **17**, 265—318.
37. K. R. Porter, G. E. Palade. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1957, **3**, 269—300.
38. H. E. Huxley. Nature, 1964, **202**, 1067—1071.
39. A. Huxley. Proc. Roy. Soc., ser. B, 1964, **160**, 486—488.

40. A. V. Hill. Proc. Roy. Soc., ser. B, 1948, **135**, 446—453.
41. A. F. Huxley. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1959, **81**, 446.
42. A. F. Huxley, R. W. Straub. J. Physiol., 1958, **143**, 40—41p.
43. A. F. Huxley, R. E. Taylor. J. Physiol., 1958, **144**, 426.
44. J. N. Howell, D. J. Jenden. Fed. Proc., 1967, **26**, 553.
45. J. N. Howell. J. Physiol., 1969, **201**, 515—533.
46. A. R. Muir. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1957, **3**, 193—202.
47. A. R. Muir. J. Anat., 1965, **99**, 27—46.
48. F. O. Simpson, S. J. Oertelis. J. Cell Biol., 1962, **12**, 91—100.
49. F. O. Simpson. Amer. J. Anat., 1965, **117**, 1—18.
50. F. O. Simpson. XXIV Int. Congress JUPS. Washing., 1968, **6**, 141—142.
51. F. O. Simpson, D. J. Rayns. Amer. J. Anat., 1968, **122**, 193—208.
52. D. G. Rayns, F. O. Simpson, W. S. Bertaud. Sci., 1967, **156**, 656.
53. D. G. Rayns, F. O. Simpson, W. S. Bertaud. J. Cell. Sci., 1968, **3**, 467—474.
54. G. Niemer, W. G. Forssmann. J. Cell Biol., 1971, **50**, 288—299.
55. Sommer J. R., E. A. Johnson. Там же, 1968, **36**, 497—526.
56. D. W. Fawcett, McNutt N. S. Там же, 1969, **42**, 1—45.
57. J. R. Sommer, E. A. Johnson. Zs. Zellforsch., 1969, **98**, 437—468.
58. E. H. Sonnenblick, A. C. Stam. Ann. Rev. Physiol., 1969, **31**, 645—674.
59. E. Page. J. Gen. Physiol., 1968, **55**, 212—220.
60. E. Page. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1971, **68**, 1465—1466.
61. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков. Успехи физиол. наук, 1971, **2**, 3—23.
62. J. R. Sommer, E. A. Johnson. Amer. J. Cardiol., 1970, **25**, 184—194.
63. E. Page. J. Cell Biol., 1965, **26**, 477—497.
64. E. Page. Fed. Proc., 1966, **25**, 580.
65. E. Page. J. Ultrast., Res., 1967, **17**, 72—83.
66. L. D. Peachey. J. Cell Biol., 1965, **25**, 209—231.
67. L. D. Peachey. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1966, **137**, 1025—1037.
68. L. D. Peachey. Ann. Rev. Physiol., 1968, **30**, 401—440.
69. T. N. James, C. A. Spence. Anat. Rec., 1966, **155**, 151—161.
70. E. S. Hegab, V. J. Ferrans. Amer. J. Anat., 1966, **129**, 235—262.
71. R. G. Hibbs, V. J. Ferrans. Amer. J. Anat., 1969, **124**, 251—279.
72. R. G. Hibbs, V. J. Ferrans, J. J. Walsh, G. E. Burch. Anat. Rec., 1965, **153**, 173—186.
73. T. H. Schiebler, H. H.. Wolf. Zs. Zellforsch., 1966, **69**, 22—40.
74. J. D. Jamieson, G. E. Palade. J. Cell Biol., 1964, **23**, 151—172.
75. D. W. Fawcett, C. C. Selby. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1958, **4**, 63—72.
76. N. A. Staley, E. S. Benson. J. Cell Biol., 1968, **38**, 99—114.
77. T. Yamamoto. J. Electron Microsc., 1965, **14**, 134.
78. T. Yamamoto. Electrophysiology and ultrastructure of the heart Ed. T. Sano, V. Mizuhira. Tokyo, 1967, 1—13.
79. R. A. Chapman. J. Physiol., 1971, **218**, 147—162.
80. A. M. Strosberg, B. G. Katsung, J. C. Lee. J. Mol. Cell Cardiol., 1972, **4**, 39—48.
81. P. W. Gage, R. S. Eisenberg. J. Gen. Physiol., 1969, **53**, 265—278.
82. P. W. Gage, R. S. Eisenberg. Там же, 298—310.
83. S. Okuta. J. Elect. Microsc., 1971, **20**, 107—119.
84. D. W. Fawcett. Circulation, 1961, **24**, 336—348.
85. E. A. Johnson, J. R. Sommer. J. Cell Biol., 1967, **33**, 103—129.
86. M. S. Forbes, N. Sperelakis. J. Ultrastr. Res., 1971, **34**, 439—451.
87. J. Hirakow. Arch. Histol. Jap., 1966, **27**, 485—499.
88. J. Hirakow. Amer. J. Cardiol., 1970, **25**, 195—203.
89. J. J. Costantin, R. J. Podolsky. J. Gen. Physiol., 1967, **50**, 1101—1124.
90. S. Winegrad. Biophysics of Physiological and Pharmacological actions. Ed A. M. Shanes. Waschington, 1961, 247—258.
91. F. S. Sjöstrand, E. Andersson. Experientia, 1954, **10**, 369—370.

92. F. S. Sjöstrand, E. Andersson-Cedergren, M. M. Dewey. J. Ultrastruct. Res., 1958, **1**, 271—287.
93. F. S. Sjöstrand, E. Andersson-Cedergren. Structure and function of Muscle, v. 1. Ed. G. Bourne. N. Y., Acad. Press., 1960, 421—445.
94. D. W. Fawcett. Circ. Res., 1961, **24**, 336—348.
95. M. M. Dewey. Comparative physiology of the heart. Ed. McCann. Balt., 1969, 10—28.
96. K. Goschima. Exp. Cell Res., 1970, **63**, 124—130.
97. M. M. Dewey, L. Barr. Sci., 1963, **137**, 670—672.
98. M. M. Dewey, L. Bar. J. Cell Biol., 1964, **23**, 553—585.
99. П. Я. Мульдияров. Ультраструктура миокарда при различных режимах нагрузки. Автореф. дисс. М., 1967.
100. Б. Жапаров. Ультраструктура миокарда в условиях измененной газовой среды и барометрического давления. Автореф. дисс. Фрунзе, 1970.
101. Т. Н. Белоусова. Вестн. Акад. мед. наук СССР, 1971, 10, 44—48.
102. W. G. Forrssman, L. Girardier. Zs. Zellforsch., 1966, **95**, 249—275.
103. S. McNutt. Amer. J. Cardiol., 1970, **25**, 169—183.
104. J. Rostgaard, O. Behnke. J. Ultrast. Res., 1965, **12**, 579—591.
105. J. P. Revel, M. J. Karnovsky. J. Cell Biol., 1967, **33**, C7—C12.
106. S. N. McNutt, R. S. Weinstein. J. Cell Biol., 1970, **47**, 666—688.
107. A. R. Muir. J. Anat., 1967, **101**, 239—261.
108. N. A. Staley, E. S. Benson. J. Cell Biol., 1968, **38**, 99—114.
109. N. Sperelakis, R. Rubio. J. Mol. Cell. Cardiol., 1971, **2**, 211—220.
110. J. D. Robertson. Bioch. Soc. Sympos., 1959, **16**, 3—43.
111. J. D. Robertson. Progr. Biophys., 1960, **10**, 343—418.
112. J. D. Robertson. J. Cell Biol., 1963, **19**, 201—221.
113. K. Kawamura, T. Konishi. Jap. Circ. J., 1967, **31**, 1533—1543.
114. L. Barr, W. Berger, M. M. Dewey. J. Gen. Physiol., 1968, **51**, 347—368.
115. L. Barr, M. M. Dewey, W. Berger. J. Gen. Physiol., 1965, **48**, 797—823.
116. J. W. Woodbury, W. E. Grill. Nervous inhibition. Ed. D. Florey. N.Y., 1961, 124—135.
117. S. Weidmann. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1966, **137**, 540—542.
118. I. Tanaka, Y. Sasaki. J. Gen. Physiol., 1966, 49, 1089—1110.
119. J. Tille. J. Gen. Physiol., 1966, **50**, 189—202.
120. A. Kamiama, R. Matsuda. Jap. J. Physiol., 1966, **16**, 407—420.
121. S. Weidmann. Harvey Lect., 1967, **61**, 1—15.
122. S. Weidmann. J. Physiol., 1966, **187**, 323—342.
123. S. Weidmann. Progr. Brain Res., 1969, **31**, 275—281.
124. B. W. Payton, M. V. L. Bennet, G. D. Papass. Sci., 1969, **166**, 1041—1043.
125. K. Hama, T. Kanaseki. Electrophysiology and ultrastructure of the heart. Ed. T. Sano, V. Mizukira, K. Matsuda. Tokio, 1967, 27—40.
126. N. S. McNutt, D. W. Fawcett. J. Cell. Biol., 1967, 35, 185—190 A.
127. G. E. Burch, R. S. Sonal. Amer. Heart. J., 1969, **78**, 358—368.
128. K. Kawamura, H. Mitsui, K. Hsyashi, Y. Nohauay, M. Takayasu. Cardiology-current topics and progress. Ed. M. Eliakim, H. N. Neufeld. N.Y., 1970, 269—273.
129. W. C. De Mello, N. Motta, W. Chapeau. Circul. Res., 1969, **24**, 475—487.
130. L. V. Leak. Amer. J. Anat., 1967, 120, 553—559.
131. A. Martinez-Palomo, R. Mendez. J. Ultrastr. Res., 1971, **37**, 592—600.
132. K. Kawamura, H. Mitsui, K. Hayashi, Y. Nohara, M. Takayaasu, Y. Higasawa, H. Koie, K. Tsushimi, H. Abe. Jap. Circ. J., 1969, **33**, 1141.
133. J. W. Emberson, A. R. Muir. Qurt. Journ. Exp. Physiol. Gognate Med. Sci., 1969, **54**, 36—40.

✦✦✦

АКАДЕМИЯ НАУК СССР·УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА 1974

В. Я. ИЗАКОВ

ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКОЕ СОПРЯЖЕНИЕ В МИОКАРДЕ

Когда мышца отвечает на стимулы, которые сами являются результатом интегративной деятельности нервной системы, в каждой мышечной клетке возникает цепь электрических, химических и механических процессов. Вне зависимости от природы стимула первая реакция клетки — изменение трансмембранного электрического поля, затем напряжения мышцы, а также биохимические процессы, предшествующие механической активности и возникающие вслед за ней. Электрический ответ может быть локальным или распространяющимся, а механический — проявляться в виде контрактуры или обычного одиночного сокращения. В любом случае должна существовать цепь реакций — внутрь направленная волна активности, которая связывает первично возникающий ответ мембраны с механическим процессом в контрактильной системе и с метаболическими реакциями внутри клетки. Основная задача проблемы электромеханического сопряжения — выяснение физико-химической природы этого промежуточного звена. Вход системы (потенциал действия) и выход (мышечное напряжение или укорочение) рассматриваются лишь постольку, поскольку они имеют отношение к данному вопросу.

Общепризнано, что посредником между электрической и механической активностью являются ионы кальция, причем появление достаточно малых количеств их выше некоторого порога внутри клетки вызывает укорочение миофибрилл, а исчезновение — расслабление. Постулируется, что цикл укорочение — расслабление отражает (возможно, и нелинейным образом) динамику содержания ионизированного кальция в определенных участках миоплазмы. Это справедливо как для сердечной, так и для скелетной мускулатуры.

Электромеханическая связь состоит из двух моментов [1]: 1) высвобождение кальция электрическим процессом на мембране — электрокальциевая связь (электрохимическое преобразование); 2) укорочение миофибрилл под влиянием ионизированного кальция — кальциймеханическая связь (химико-механическое преобразование). Выделяют и третий компонент — механохимическое разобщение [2]. В связи с этим мышцу можно условно разделить на две системы [3]: контрактиль-

ную, которая имеет общие черты для всех мышц и запускается ионизированным кальцием, и контролирующую, которая ответственна за механизм высвобождения и реабсорбции кальция. Устройство последней, вероятно, различно в разных мышцах и у животных, стоящих на разных ступенях эволюционного развития. Выяснение природы контролирующего механизма — основная задача в проблеме электромеханической связи. Именно эти системы — контрактильная и контролирующая — включены в механизмы клеточной регуляции сократимости миокарда: первая — в гетерометрический, вторая — в гомеометрический.

Критический момент в проблеме электромеханического сопряжения — открытие с помощью электронного микроскопа саркоплазматического ретикулюма и Т-системы, которая представляет собой впячивание поверхностной мембраны в скелетной и сердечной мышцах [4, 5], и выяснение вопроса, является ли саркоплазматический ретикулюм тем внутриклеточным участком, откуда происходит высвобождение кальция, а в последующем — его реабсорбция. К контролирующим механизмам (это особенно важно в случае миокарда), помимо саркоплазматического ретикулюма, следует отнести все те образования, которые регулируют высвобождение кальция, его свободную концентрацию и обратное поглощение.

В результате исследований на волокнах скелетной мышцы получена следующая схема событий в электромеханическом сопряжении. Деполяризация поверхностной мембраны проводится внутрь клетки через Т-систему и передается на мембрану ретикулюма. Это высвобождает ионизированный кальций, который вызывает скольжение протофибриллярных нитей относительно друг друга. После деполяризации кальций реаккумулируется вновь, в результате чего наблюдается расслабление. Эта схема послужила отправным моментом для аналогичных исследований на миокарде, стала классической и рассматривает электромеханическую связь как результат взаимодействия трех основных структурных элементов мышц. Первый из них включает контрактильные белки — актин, миозин и нативный тропомиозин (тропонин+тропомиозин). Второй — поверхностная мембрана, которая может иметь впячивания — Т-систему (хотя и не обязательно). Третий — саркоплазматический ретикулюм (система внутренних тубулярных и везикулярных мембранных образований), основная функция которого — регуляция концентрации ионизированного кальция внутри клетки. При отсутствии Т-системы и слабой выраженности саркоплазматического ретикулюма (сердце холоднокровных) функции последнего выполняет поверхностная мембрана. Некоторые авторы выделяют четвертый элемент — мышечные митохондрии, действующие как второй участок регуляции внутриклеточного кальция.

Приведенная классическая схема часто без должного основания переносится на электромеханическую связь в миокардиальных клетках. Мы полагаем, что экстраполяция механизмов электромеханического сопряжения со скелетной мышцы на сердечную может быть произведена с большой осторожностью, так как классическая схема выполняется не во всех миокардиальных клетках. Это и не удивительно, если учитывать особенности их строения — малые размеры, характер межклеточных соединений, морфологическую неоднородность популяций волокон и особенности функционального плана — постоянные ритмические сокращения, большую длительность потенциала действия и активного состояния, высокую чувствительность к химическим веществам и изменение электромеханической связи от сокращения к сокращению. Основные и наиболее достоверные сведения получены на волокнах скелетных мышц. Последние будут эталоном при сравнении соответствующих данных по миокардиальным клеткам. Вначале изложим свойства отдельных узлов электромеханической связи, а затем рассмотрим деятельность системы в целом при естественной ритмической работе миокарда.

Обычно термины «электромеханическая связь» и связь «возбуждение — сокращение» рассматриваются как синонимы. Однако второй (связь через естественный потенциал действия) — означает частный случай электромеханического сопряжения, ибо электрическая активность, вызывающая сокращения, может быть и нерегенеративной. В последнее время увеличилось число работ с фиксацией напряжения на мышцах, а зажим напряжения не эквивалентен потенциалу действия. Нами термин связь «возбуждение — сокращение» используется в случае, когда на мембране развивается потенциал действия.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА СИСТЕМ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКУЮ СВЯЗЬ

Физико-химические и ферментативные свойства саркоплазматического ретикулюма в настоящее время анализируются на изолированных с помощью дифференциального центрифугирования фрагментах микросомальной фракции. Электронномикроскопический контроль показывает идентичность ультрацентрифугата и саркотубулярной системы in vivo. Хотя нельзя отрицать сложность и гетерогенность получаемых дифференциальным центрифугированием структур, некоторые фундаментальные исследования были осуществлены и дали обнадеживающие результаты: 1) гомогенат способен поглощать из окружающего раствора ионы кальция; 2) изолированный ретикулюм обладает АТФ-азными свойствами; 3) существует корреляция между способностью гомогената поглощать кальций и расщеплять АТФ.

Исследование ферментативных и сорбционных свойств ретикулюма берет свое начало из изучения природы механизма расслабления. Известно, что АТФ способна переводить водяной гель актомиозина в сжатое состояние (суперпреципитация) и укорачивать глицеринизированные мышечные волокна. Хотя АТФ есть причинный фактор для сокращения, ее удаление не вызывает расслабление. Таким образом, актомиозиновая система не обладает важным физиологическим свойством мышцы — способностью расслабляться. Сент-Дьерди [6] выдвинул гипотезу о «двойной функции АТФ», согласно которой АТФ обладает и сокращающим, и расслабляющим действием в зависимости от условий (ионной среды, pH, концентрации и т. д.). Изменяя эти условия, можно изменить состояние суперпреципитации и привести препарат в диссоциированную форму. Однако указанные условия не выполняются в живой мышце и не могут рассматриваться как каузальные факторы. Вначале господствовала мысль, что физиологический расслабляющий фактор представляет собой небольшую молекулу, которая прямо взаимодействует с актомиозиновой системой. Но логически вполне возможна и другая альтернатива — удаление сокращающего фактора из контрактильных элементов.

Наличие расслабляющего вещества, способного контролировать реакцию сократительных белков с АТФ, следует из работ [7, 8]. Суспензия миофибрилл в гомогенате при добавлении АТФ не сокращается, а расщепление АТФ АТФ-азой идет крайне медленно. В противоположность этому на хорошо отмытых миофибриллах наблюдаются сокращение и высокая скорость расщепления АТФ. Несколько позже было найдено, что кальцийхелатный агент (ЭДТА) в присутствии АТФ расслабляет глицеринизированные мышцы [9, 10]. Авторы подчеркнули, что ЭДТА имитирует эффект физиологического расслабляющего фактора. Простейшим объяснением этих результатов было предположение, что ЭДТА удаляет кальций из контрактильной системы.

Выявление четкого параллелизма между расслабляющей активностью различных хелатов на глицеринизированных волокнах и способностью адсорбировать кальций из контрактильной системы сыграло важную роль в развитии представлений о расслабляющем факторе [11, 12]. Было высказано предположение, что расслабляющий субстрат связан с некоторыми субмикроскопическими структурами,— ультрацентрифугат (микросомальная и частично митохондриальные фракции) обладал расслабляющей активностью. Электронномикроскопические исследования показали, что центрифугат содержит пузырьки (600—3000 Å) и трубкоподобные структуры (150—300 Å). Везикулы и тубулы ограничены мембранами и очень напоминают саркотубулярную сеть клетки. Интересно, что изолированные везикулы имели утолщения на одной стороне. Такие же

утолщения характерны для терминальных цистерн интактного саркоплазматического ретикулюма. Замкнутость везикул и трубок доказана с помощью инулина [13, 14].

Так как изолированный ретикулюм способен поглощать кальций в присутствии АТФ и магния [15], сделано заключение, что физиологически расслабляющим фактором является сам ретикулюм и его действие связано с удалением кальция из контрактильной системы in vivo и in vitro. Из этого следует, что саркоплазматический ретикулюм — место сопряжения возбуждения и сокращения и главный узел механизма электромеханического сопряжения [11, 13, 15, 16—19].

Основной компонент везикулярных мембран, как и других метаболически активных мембран,— белки и фосфолипиды. Химический анализ ретикулюма из сердечной и скелетной мышц показал, что они содержат приблизительно одинаковое количество белка (60% сухого веса) и фосфолипидов (20% сухого веса). Кардиолипин, холестерол, эфиры холестерина найдены в них в небольших количествах. Ингибирующая активность везикул необратимо устраняется протеолитическими ферментами, фосфолипазой, растворителями липидов, SH-реагентами. Это говорит о том, что белковый и липидный компоненты везикулярных мембран вовлекаются в «тормозную активность». В саркотубулярной системе найден ряд ферментов — аденилциклаза, холинэстераза.

Как же происходит поглощение кальция везикулами? Есть основания считать, что это активный процесс. Об этом свидетельствует следующее:

1. Концентрация кальция в пузырьках может быть в сотни и тысячи раз выше, чем в окружающей среде, причем транспорт кальция осуществляется против предполагаемого концентрационного градиента. Указанное правило справедливо для везикул скелетной [20] и сердечной [21, 22] мышц.

2. Для поглощения кальция необходимы затраты энергии АТФ. Более того, сам ретикулюм обладает АТФ-азной активностью.

Считается, что кальциевый насос располагается исключительно в элементах саркоплазматического ретикулюма, а мембрана Т-системы кальций не поглощает. Предположили наличие на наружной поверхности везикулярных мембран переносчика, который при фосфорилировании резко увеличивает свое сродство для кальция. После диффузии внутрь комплекс дефосфорилируется, и сродство его уменьшается — кальций высвобождается, несмотря на относительно высокую концентрацию его внутри везикул.

Представляет интерес изучение взаимосвязи энергетического обмена и поглощения кальция. Так, добавление оксалата ингибирует фосфорный обмен, АТФ-азную активность и поглощение кальция в изолированных пузырьках [14]. В растворах,

содержащих 5 *мМ* оксалата и при отсутствии кальция, везикулярная мембрана расщепляет АТФ очень медленно. Эта АТФ-аза была названа основной. До сих пор нельзя исключить, что основная АТФ-аза неспецифическая и обусловлена загрязнениями препарата, хотя этому нет прямых доказательств [23]. При добавлении кальция к системе скорость расщепления АТФ резко увеличивается. АТФ-азная активность во время поглощения кальция может быть связана с так называемой «супер-АТФ-азой». Активность последней увеличивается одновременно с возрастанием фосфорного обмена. Субстратами супер-АТФ-азы изолированного ретикулюма, помимо АТФ, могут быть иноэиндифосфат, тиаминфосфат, аденозинмонофосфат. Гистохимические исследования показывают, что в саркоплазматическом ретикулюме АТФ-аза распределена по всем отделам равномерно [2, 24].

Приведем некоторые расчеты связи обмена макроэргов и поглощения кальция. При расщеплении одной моли АТФ выделяется 10—12 *ккал*. Около 5000 *кал* необходимо для транспорта одного моля кальция из раствора в везикулу. Таким образом, к. п. д. насоса составляет 40—50% (при низких концентрациях кальция к. п. д. уменьшается до 30—40%). При указанном к. п. д. и частоте сердцебиений 80 ударов в минуту приблизительно 6,5% общей энергии клетки будет идти на деятельность кальциевого насоса [2]. Даже если к. п. д. in vivo 20%, то кальциевый насос требует не менее 15% общей энергии клетки.

Представление, что поглощение кальция саркоплазматическим ретикулюмом осуществляется благодаря деятельности кальциевого насоса, широко распространилось в литературе. Однако появляются работы, где поглощение кальция рассматривается не как активный процесс, а как катионный обмен [25—27]. Причем сумма ионов (калий, магний, кальций, натрий, водород), связанных с ретикулюмом, составляет 350 *мэкв/г* ретикулярного белка, и эта величина является постоянной. Показано также, что только половина кальция может из него высвобождаться [26]. При отсутствии АТФ ретикулюм лучше связывает магний. Постоянство суммы ионов говорит о возможности взаимозаменяемости их. В присутствии АТФ связывание ионов заметно меняется, и селективность к кальцию возрастает тысячекратно.

Предполагается, что связывание катионов осуществляется электростатически (возможно, через имидазол протеинов и фосфатидилсерин и лецитин мембранных липидов). Вероятно, АТФ вызывает конформационные изменения центров адсорбции кальция. Рассчитано, что приблизительно 80% кальция связано электростатически и не может участвовать в сокращении. Если остальная его часть свободна, то интравезикулярная концентрация кальция составляет только 1—2 *мМ* (такая же, как

во внеклеточной жидкости). Это согласуется с данными наблюдений, согласно которым саркоплазматические везикулы прямо сообщаются с внеклеточной средой.

Известно, что кофеин (1—10 *мМ*) уменьшает способность изолированного ретикулюма поглощать кальций и кальциевую емкость везикул [17], на интактной скелетной мышце он вызывает контрактуру. По данным работы [27], кофеин эффективен при внеклеточном применении, внутриклеточная инъекция кофеина неэффективна. Следовательно, места, из которых он высвобождает кальций, связаны с внеклеточными, а не внутриклеточными отсеками. Однако кальций при действии кофеина высвобождается не весь. Можно считать, что кальций саркоплазматического ретикулюма находится в двух формах: электростатически связанной (80%, на него кофеин не действует) и лабильной. В лабильную фракцию он поступает тогда, когда все места электростатического связывания заполнены. При одновременном измерении АТФ-азной активности и поглощения кальция в изолированном ретикулюме скелетной мышцы показано, что поглощение начинается сразу же после его добавления и идет экспоненциально, тогда как образование неорганического фосфора в этот период остается постоянным [28]. Отсюда вытекает, что сначала происходит связывание кальция, затем — его транспортирование.

Таким образом, первый критический шаг в расслаблении мышцы — поглощение кальция с мембраной ретикулюма. Затем часть начально связанного кальция транспортируется в протоки ретикулюма, что регулируется концентрацией свободного кальция в протоках. На обоих этапах необходимы затраты энергии АТФ.

Из приведенных данных сделан вывод, что саркоплазматический ретикулюм несет в основном функцию быстрого связывания, а выталкивание кальция из клетки осуществляется, вероятно, другим путем.

В сердце также обнаружены аналогичные явления. Особенно следует обратить внимание на взаимоотношение ионов кальция и натрия в мембране ретикулюма, ибо входящие ионы натрия или в общем случае концентрация натрия в миоплазме может быть физиологическим регулятором активности ретикулюма и контролировать высвобождение и поглощение ионов кальция. Так, на изолированном ретикулюме сердца кролика нашли, что натрий уменьшает количество связанного кальция [22]. Это обусловлено не ингибированием поглощения, а быстрым высвобождением связанного кальция. Расчеты показывают, что 1 *мМ* натрия в везикулярной области способен высвободить 0,02 *мкМ* кальция.

Проведена работа по выяснению субклеточной локализации кальция в миокарде млекопитающих [29] по аналогии с [30], осуществленной на скелетной мышце. В последней показано,

что кальциевые преципитаты (электронноплотные соли оксалата кальция) локализованы в латеральных мешочках, которые должны рассматриваться как участки высвобождения кальция при возбуждении. В сердце при перфузии бескальциевым раствором количество кальциевых преципитатов резко уменьшается над *I*-полосами. Аналогичный эффект давала перфузия с ЭДТА. Но количество кальциевых преципитатов не изменялось или даже возрастало при перфузии безнатриевым раствором. Это согласуется в тем, что в гипонатриевом растворе поглощение кальция увеличивается [31—33]. Авторы сделали вывод, что места конкуренции кальция и натрия принадлежат саркоплазматическому ретикулюму. Мысль о возможности высвобождения кальция ионами натрия, входящими при возбуждении, легла в основу гипотезы хроноинотропии миокарда [33]. Следует обратить внимание на то, что в миокарде ионы натрия вызывают именно высвобождение кальция, но не влияют на силу его связывания [22].

Если способность ретикулюма поглощать кальций in vitro не вызывает сомнений, то это еще не говорит о том, что он в состоянии обеспечить расслабление в живой мышце. Однако ряд расчетов подтверждают это [34, 35]. Вероятно, свойства ретикулюма in vitro и in vivo существенно отличаются.

Разность потенциалов и другие условия в интактной мышце могут увеличивать скорость связывания кальция.

В сердце саркоплазматического ретикулюма меньше, чем в скелетных мышцах, и кальций поглощается микросомальной фракцией значительно медленнее [36]. Это может быть связано с физиологическими особенностями сердечной мышцы, где сокращения более медленные, чем в скелетной, или с тем, что сердечный ретикулюм менее устойчив и теряет активность во время препарирования. На сердечной мышце быка показано, что ретикулюм аккумулирует 0,3 *мкМ* кальция на 1 *мг* белка в течение 90 *мин*, а фрагменты ретикулюма скелетной мышцы — 0,65 *мкМ* в течение 3 *мин*, т. е. в сердце кальций поглощается приблизительно в 60 раз медленнее, чем в скелетных мышцах.

Несколько позднее [37] нашли, что ретикулюм миокарда может поглощать 0,8 *мкМ* кальция на 1 *мг* белка за 20 *мин*, т. е. степень поглощения кальция ретикулюмом сердца только в 5 раз меньше, чем скелетной мышцы. Согласно другим данным, скорость связывания в сердце составляет 15% таковой в скелетной мышце, но вполне достаточна для объяснения полного расслабления в сердце [35].

Помимо некоторых количественных отличий между ретикулюмом сердца и скелетной мышцы, имеются и качественные расхождения. Установлено, что в сердечной мышце поглощение кальция усиливается, если в среду добавляется креатинфосфат+креатинфосфокиназа (КФК-система) [38]. Без неорга-

нического фосфата и КФК-системы аккумуляция кальция очень слаба. Добавление одного неорганического фосфата увеличивает поглощение кальция на 19%, а КФК-системы — до 24%. Если же в среде находится и неорганический фосфат, и КФК-система, то наблюдается резкий прирост способности ретикулюма накапливать кальций (до 80%). Тесная анатомическая связь саркоплазматического ретикулюма и миофибрилл позволяет думать, что концентрация неорганического фосфора, высвобождаемого при расщеплении АТФ в миофибриллах, повышается у ретикулюма раньше, чем он вовлекается в механизм ресинтеза АТФ в митохондриях. Следовательно, рост количества неорганического фосфора в результате сокращения может автоматически увеличивать скорость поглощения кальция ретикулюмом сердца, работая как часть системы сокращение — расслабление с обратной связью.

В работе [38] также найдено, что поглощение кальция ретикулюмом сердца осуществляется в две отчетливо различимые фазы: начальную — быструю и конечную — более медленную. Начальная фаза не зависит от неорганического фосфата и КФК-системы, и поглощение является линейной функцией концентрации кальция в среде. Вероятнее всего, это физическое связывание. Влияние потенциаторов КФК-системы и других агентов направлено на транспортирование, которое представлено второй медленной фазой.

Для выяснения свойств саркоплазматического ретикулюма миокарда и его отличий от соответствующих структур скелетной мышцы интересные факты дает изучение «потенциаторов сокращений», в том числе и гуанидина. Последний, как известно, увеличивает амплитуду одиночных сокращений в быстрых скелетных волокнах, а в больших концентрациях приводит к развитию контрактуры [39]. С другой стороны, в миокарде гуанидин подавляет сократимость [40]. В присутствии АТФ он ингибирует кальциевое поглощение и в скелетной, и в сердечной мышцах. Аналогичным эффектом обладают NO_3, Zn^{2+}, UO_2^{2+}.

Если предположить, что в скелетной мышце гуанидин (так же, как и кофеин) вызывает контрактуру и потенциацию, действуя прямо на ретикулюм, высвобождая кальций или ингибируя его поглощение (т. е. повышая концентрацию свободного кальция), то непонятно, почему при аналогичном механизме влияния на ретикулюм обеих мышц в одном случае он увеличивает, а в другом — подавляет сократимость. Для миокарда выдвинуто предположение о зависимости сократимости от абсолютного содержания кальция в ретикулюме [41]. Тогда любой агент, который ингибирует саркотубулярный транспорт кальция, будет уменьшать количество кальция, доступного для высвобождения, а значит, уменьшать развиваемое мышцей сердца сокращение. Такая разница в поведении сердечной и

скелетной мышц, вероятно, связана с особенностями процесса электромеханической связи.

Некоторые моменты молекулярных механизмов деятельности везикул были выяснены в опытах с резерпином [42, 43]. Установлено, что резерпин, соединяясь с ненасыщенными жирными кислотами мембранных фосфолипидов, ингибирует кальциевый транспорт саркоплазматических везикул. Те же кислоты ответственны за кальциевый транспорт и кальцийиндуцируемое расщепление АТФ в миокарде. Из этих наблюдений можно сделать вывод, что изменение сродства фосфолипидов ретикулюма к кальцию является моментом, определяющим молекулярные механизмы действия кардиоактивных веществ. Однако о влиянии сердечных гликозидов и адреналина на свойства сердечного ретикулюма четких данных нет [41, 44, 45].

Для понимания функционирования ретикулюма in vivo важно наблюдение, что поглощение кальция и АТФ-азная активность сердечного ретикулюма (а также и скелетного) ингибируются при пропускании через фрагменты ретикулюма интенсивного электрического тока [46, 47]. Активность кальцийнечувствительной АТФ-азы при действии тока не меняется. Однако интерпретация опытов по электрической стимуляции ретикулюма in vitro довольно затруднительна, ибо при сильной и длительной стимуляции может иметь место денатурация ретикулюма, изменение pH среды, высвобождение тепла и продуктов электролиза на электродах.

На первых этапах изучения процесса расслабления в миокарде появились сообщения о том, что расслабляющее вещество находится в клетке в растворенном состоянии [48—52] и может играть физиологическую роль, уменьшая свободную концентрацию кальция в миоплазме. Современные данные показывают, что это маловероятно и принципиальные отличия в конечной части электромеханической связи в сердечной и скелетной мышцах отсутствуют. Отличия, вероятно, касаются только механизма высвобождения кальция и его доставки к контрактильным белкам.

До сих пор нет общего мнения о роли другой внутренней системы, контролирующей содержание кальция,— митохондрий. Многие исследователи считают, что изолированные митохондрии могут поглощать кальций из среды [53—62] и так же, как и саркоплазматический ретикулюм, ингибировать синеризис миофибрилл. Кроме того, опыты с Ca^{45} показывают, что кругооборот кальция в митохондриях сердца даже выше, чем в ретикулюме [63—65]. В сердце крысы ретикулюм поглощает кальция больше, чем митохондрии (в расчете на 1 *г* белка), но общее количество аккумулируемого кальция в последних почти такое же, как и в первом. Оубаин не влияет на поглощение кальция в обоих случаях. Найдено много других аналогий в поглощении кальция митохондриями и ретикулюмом. Так,

инкубация при низкой температуре в отсутствие АДФ заметно уменьшает поглощение кальция в обеих фракциях. Это связано с гидролизом АТФ.

По мере развития (эмбрионального и постэмбрионального) способность ретикулюма сердца поглощать кальций возрастает, а митохондрий — уменьшается. По-видимому, митохондриальный «кальциевый насос» играет основную роль в регуляции внутриклеточного кальция на начальных фазах развития сердца. Однако скорость поглощения слишком мала, чтобы объяснить физиологические эффекты. Если митохондрии и являются клеточным звеном регуляции кальция, то только в смысле определенного резервного механизма.

Как уже упоминалось, в саркоплазматическом ретикулюме сердца найдена аденилциклаза [48]. В связи с этим была выдвинута гипотеза о том, что 3,5-АМФ — важный фактор регуляции проницаемости мембран ретикулюма к кальцию. Действительно, кальциевый транспорт увеличивается в присутствии циклической АМФ [65]. Однако, по другим данным [66], циклические аденилмонофосфаты таким действием на саркоплазматический ретикулюм не обладают ни в сердце, ни в скелетных мышцах [66]. Только в высоких концентрациях (1×10^{-3} *M*) 3,5-АМФ действовала на поглощение кальция. Это позволяет считать, что положительный инотропный эффект адреналина не связан с аденилциклазой и даже, вероятно, вообще с функцией саркоплазматического ретикулюма. Не следует пока отрицать влияние циклической АМФ на уровень плазматической мембраны как фактора, регулирующего ее проницаемость.

Ряд заболеваний сердца связан с тем, что микросомальная фракция хуже потребляет кальций. Сообщалось, что способность ретикулюма поглощать кальций уменьшается при недостаточности сердца, ишемии, генетической дистрофии [41].

Суммируем данные по свойствам изолированного ретикулюма сердца:

1. Ретикулюм сердца по основным свойствам не отличается от изолированного ретикулюма скелетных мышц. Он способен поглощать значительные количества кальция при затрате энергии АТФ или КФК-системы, снижать свободную концентрацию кальция до 10^{-7} *M*, т. е. до той критической величины, ниже которой активность актомиозиновой АТФ-азы и сокращения блокируются.

2. Кальциевая емкость и скорость поглощения кальция в ретикулюме миокарда значительно меньше, чем в скелетных мышцах, но вполне достаточны, чтобы объяснить расслабление в физиологических условиях.

3. Ионы натрия могут быть важным регулятором концентрации кальция в саркоплазматических пузырьках.

4. Исходя из свойств изолированного ретикулюма сердца, количество кальция, находящегося в местах связывания,—

величина переменная (впрочем, как и количество кальция, высвобождаемого из запасов при возбуждении) и зависит от ряда физиологических и фармакологических параметров, модулирующих уровень сократимости миокарда. Это отличает сердце от скелетной мышцы, где интенсивность сокращений существенно инвариантна. Следует, однако, признать, что до сих пор нет прямых данных о механизме высвобождения кальция из ретикулюма (в отличие от поглощения). Это в равной мере применимо к сердечной и скелетной мышцам.

Можно предположить, что расслабление в тех миокардиальных клетках, где саркоплазматический ретикулюм развит слабо, связано частично с деятельностью мембранного кальциевого насоса. Подобная кальцийактивируемая АТФ-аза найдена в мембране эритроцитов, что заставляет искать аналогичный механизм в сарколемме сердца. До сих пор неизвестно, осуществляется в миокарде активный транспорт кальция и натрия отдельными или совместными системами. Более того, не известна ни емкость такой системы, ни конкуренция с другими ионами. Эти вопросы, вероятно, в скором времени будут центральными в проблеме сопряжения возбуждения и сокращения, поскольку через примембранные концентрации ионов натрия и кальция осуществляется контроль за ионным транспортом [67, 68].

Если в работе кальцийпоглощающей системы ретикулюма участвуют КФК-система и АТФ, то кальциевый мембранный насос способен использовать натриевый градиент для выталкивания кальция из клетки [69]. Печень, почки, мозговая ткань также способны поглощать кальций, хотя и много медленнее, чем сердце. Можно считать, что способность аккумулировать кальций является общим свойством эндоплазматического ретикулюма вне зависимости от вида клеток. Саркоплазматический ретикулюм является, видимо, специальным случаем, выделяющимся не столько своей емкостью, сколько быстротой связывания.

КАЛЬЦИЙМЕХАНИЧЕСКАЯ СВЯЗЬ

В настоящее время установлено, что сокращение в миокарде обусловлено взаимодействием четырех контрактильных белков: миозина, актина, тропомиозина и тропонина; скольжение тонких и толстых нитей регулируется свободной концентрацией кальция в околомиофибриллярных пространствах. Вначале предполагали, что кальций непосредственно активирует актомиозиновую АТФ-азу. Известно, что изолированные миофибриллы способны сокращаться в присутствии АТФ, а активность миофибриллярной АТФ-азы контролируется малыми количествами кальция. Кривая связи силы укорочения (так же, как и АТФ-азной активности) с концентрацией кальция имеет S-образный вид. Однако очищенные актин и миозин и рекон-

струированный актомиозиновый комплекс обладают малой чувствительностью к ионам кальция. В противоположность этому естественный актомиозин, экстрагированный из мышцы, имеет такую же чувствительность к кальцию, как и интактные миофибриллы.

Установлено [12], что ключевую роль во взаимодействии кальция и контрактильных белков играет комплекс тропонин — тропомиозин (нативный тропомиозин), а ион кальция первично рецептируется тропонином. Это верно как для скелетной, так и для сердечной мышцы [70]. Тропомиозин, который связан с тонкими актиновыми нитями, морфологически действует как белок, обеспечивающий локализацию тропонина, а функционально — как посредник сигнала от тропонина к актину. Сочетая электронномикроскопическую технику и иммунологические тесты, удалось показать, что молекулы тропонина распределены вдоль тонких филаментов с интервалом 400 Å. Таким образом, тонкие нити — это не только актин, но и ассоциация актина, тропонина и тропомиозина. Из них только тропонин является специфическим кальций-рецептивным белком, что подтверждается следующим [12]:

1. Только тропонин среди всех структурных контрактильных белков обратимо связывает кальций при концентрации последнего ниже 10^{-6} *М*. Константа связывания транспортной системы кальция совпадает с таковой для сердечного тропонина [70], а также с той, которая контролирует взаимодействие актина и миозина in vitro.

2. Чувствительность контрактильной системы к кальцию полностью определяется тропонином:

	Связанный кальций, *моль* на 10^5 *г*	Связанный кальций в миофибриллах, %
Миозин В	0,086	—
Реконструированный актомиозин	0,009	—
Миозин	0,006	6
F-актин	—	2
Тропомиозин	0,04	—
Тропонин	1,78	87
α-актин	0,001	—

3. Чувствительность к кальцию варьирует параллельно с константой связывания тропонина, содержащегося в контрактильной системе.

Высказано предположение [12], что при отсутствии кальция тропонин через тропомиозин блокирует те участки актина, которые взаимодействуют с миозином (репрессия). В процессе сокращения не происходит образования комплекса актомиозин — кальций, а за счет кальция осуществляется снятие ре-

прессорного эффекта тропонина. Таким образом, кальций выступает в роли фактора, устраняющего репрессию сокращений, тропонин — в роли рецептора кальция, а тропомиозин действует как проводник информации от тропонина к актину (ибо тропонин прямо не вовлекается в участки, где происходит взаимодействие актина и миозина). Тропомиозин является при этом прямым ингибитором магнийактивируемой актин-миозиновой реакции. Если кальций удаляется из комплекса тропонин — тропомиозин, то вновь возникает репрессия сокращения, сохраняющаяся до следующего поступления кальция. Таким образом, для расслабления требуется не только саркоплазматический ретикулюм для удаления кальция из филаментов, но и реакция восстановления репрессии в самих миофибриллах.

Указанные предположения вытекают из опытов, где было показано, что актин и миозин взаимодействуют друг с другом в присутствии магния и АТФ, но при полном отсутствии кальция. При наличии тропонина этого не наблюдалось, но взаимодействие стимулировалось добавлением кальция. Чувствительность миофибрилл к стронцию объясняется исключительно связыванием его с молекулами тропонина. Это позволяет понять эксперименты [71], в которых наблюдали сильные сокращения при введении стронция через микропипетку внутрь волокна.

Используя терминологию аллостерических реакций, можно сказать, что тропонин является аллостерическим участком для взаимодействия актина и миозина. Кальций выполняет функцию репрессора, тропонин вызывает кальцийзависимые сдвиги. При отсутствии кальция (10^{-7} *М*) тропонин образует агрегаты, которые распадаются на мономеры при концентрации кальция 10^{-5} *М*. Хотя эти изменения четвертичной структуры не вовлекаются в физиологические механизмы, конформационные сдвиги, несомненно, могут играть важную роль в контрактильных процессах [72]. Сказанное в равной мере применимо и к скелетной, и к сердечной мускулатуре.

Для сердца тропонинзависимое торможение актин-миозинового взаимодействия снимается кальцием на эквимолярной основе. Поскольку в миокарде приходится 70 *мкМ* тропонина на 1 *кг* веса сердца, то это же количество кальция на 1 *кг* веса сердца должно обеспечить активацию всего актомиозина миокарда.

Для понимания природы электромеханической связи принципиальное значение имеет установление чувствительности актомиозиновой системы к кальцию и выяснение его свободной концентрации в миоплазме. Так как система требует наличия тропомиозин — тропонина, то связь напряжения со свободной концентрацией кальция лучше всего изучать на препаратах Натори (скарифицированные волокна). В этом случае связь мышечного напряжения с концентрацией свободного кальция S-образна. Порог реакции достигается при $P_{Ca}=5{,}4$ *мМ* [73].

Другие авторы получили аналогичную зависимость, но несколько иные цифры.

Таким образом, кальций-механическая связь имеет четкий порог и срабатывает при концентрации свободного кальция 10^{-7} *М*. Это подтверждается и опытами с микроинъекцией ионов кальция внутрь волокна — для инициации сокращений в живых клетках необходима концентрация 2×10^{-5} *М* [71]. Следовательно, концентрация свободного кальция значительно меньше. Однако в опытах с микроинъекцией ионов внутрь волокна не исключено, что микропипетка не повреждает саркоплазматический ретикулюм. В изолированную гигантскую мышцу *Maia squinado* микропипеткой вводили кальций-ЭДТА буфер [74]. Сокращение развивалось при концентрации $5\div10\times10^{-7}$ *М*, а его максимум — при 10^{-5} *М*. Таким образом, данные, полученные на живых и неживых мышцах, хорошо совпадают.

ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКОГО СОПРЯЖЕНИЯ

О главной роли кальция в механизме электромеханического сопряжения впервые сообщил Майнс [75], установив, что изъятие кальция из раствора вызывает разобщение между электрической и механической активностью в миокарде. Работами Гейльбрунна [76] обосновано участие кальция в образовании клеточных мембран и высвобождении гормонов и передатчиков из внутриклеточных везикул. В опытах с микроинъекцией ионов кальция в протоплазму амебы было обращено внимание на их двойную роль: удаление кальция из внешнего раствора вело к прекращению двигательной активности; к аналогичному эффекту приводила микроинъекция кальция внутрь клетки. Уже в двадцатые годы имелись данные о том, что внутриклеточные гранулы могут связывать кальций, а в определенных случаях — высвобождать его.

В 1952 г. Сандоу предположил, что потенциал действия, или деполяризация мембраны, вызывает увеличенный вход кальция в миоплазму, инициируя реакции, ведущие к возникновению механической активности. Эта гипотеза, судя по современным данным, не справедливая в целом для волокон скелетной мышцы, нашла многочисленные подтверждения для миокарда. Приведем следующие доказательства:

1. Кальций — единственный ион, который, будучи инъецированным внутрь волокна, дает его укорочение; из всех исследованных ионов только стронций и барий напоминали в своем действии кальций [76]. Это противоречит идее Сент-Дьерк, высказанной несколько ранее, что ионы калия ведут к инициации сокращений. Гейльбрунн [76] считал, что кальций, необходимый для сокращения, вероятно, черпается из «поверхностных областей клетки». Эта зона была обозначена «корой»,

или «кортикальной зоной». К миокардиальным волокнам микропипеткой подводили различные ионы и установили, что только кальций способен быстро и значительно укорачивать миокардиальные волокна [77]. Был сделан вывод о том, что локальное высвобождение ионов кальция в области миофиламентов ответственно за начало сокращения.

2. Изменение внеклеточной концентрации кальция сильно влияет на силу сокращений в миокарде. Впервые на необходимость присутствия ионов кальция во внеклеточной жидкости для нормального функционирования сердечной мышцы указал Рингер [78]. Если кальций удалить, сердце вскоре останавливается, но механическая активность может быть восстановлена, если в среду вновь добавить ионы кальция.

Однако эксперименты Рингера, естественно, не отвечали на вопрос — на каком этапе деятельности клетки необходим кальций: для поддержания автоматии, проведения возбуждения, генерации электрической активности или непосредственно для осуществления сокращения. Последующие многочисленные исследования показали, что калиевые и иные виды контрактур отсутствуют или мало выражены в бескальциевой среде. Аналогично и в гладкой мышце — контрактуры, вызванные ацетилхолином, серотонином, адреналином, окситоцином, требуют для своей реализации ионов кальция. Даже кофеиновые контрактуры, которые в скелетной мышце могут возникать и в бескальциевой среде (кофеин способен прямо высвобождать кальций из внутренних мембранных систем), зависят от концентрации кальция. Опытами на сердце черепахи показано [79], что повышение содержания кальция во внеклеточной жидкости в течение одиночного сокращения увеличивает силу этого сокращения. Следовательно, внеклеточный кальций прямо активирует сокращения.

3. Вход ионов кальция во время сокращения усиливается, что показано при изучении потоков Ca^{45} [80—84].

Согласно классической точке зрения, ион натрия не играет специфической роли в электромеханическом сопряжении. Если ввести в мышечное волокно значительное количество ионов натрия (0,123 *мМ*), то механического ответа при этом не наблюдается, в то же время введение гораздо меньшего количества ионов кальция обусловливает быстрое укорочение мышцы. Деполяризация мышцы хлористым калием вызывает контрактуру при полном отсутствии натрия в растворе [85]. Таким образом, считается, что роль натрия заключается в обеспечении деполяризации, а вхождение натрия в клетку не является специфическим фактором для активации сократительного механизма.

Приведенные факты предполагают высвобождение кальция при деполяризации. Кальций затем оказывает влияние на миофибриллы. Для миокардинальных клеток особенно подчеркивается роль внеклеточного кальция, как фактора, запускающего сокращения. Сомнения в том, что внеклеточный кальций запу-

скает сокращения, высказанные Хиллом [86] относительно крупных волокон скелетной мышцы после того, как он рассчитал, что диффузия вещества переносит возбуждение внутрь клетки, ибо диффузия слишком медленна, чтобы ею можно было объяснить быстрое развитие активного состояния, распространили на сердце. После открытия Т-системы (которую следовало ожидать, учитывая теоретические расчеты Хилла) возникло предположение, что она выполняет роль проводника возбуждения внутрь клетки. Это подтвердили эксперименты по локальной стимуляции скелетных мышц [87—90]. Микроэлектродом к различным участкам поверхности волокна подводили ток. Гиперполяризующий ток не вызывал сокращений, деполяризующий ток достаточной интенсивности вызывал локальные сокращения только в тех случаях, когда электрод находился в определенных участках мембраны с интервалом 5 *мк*. Сокращения распространялись на 10 *мк* в пределах одного-двух саркомеров. Число таких «чувствительных» к току участков было 4×10^6 на 1 $см^3$ мышцы.

Аналогичные результаты получили на мышце краба с той лишь разницей, что локальные сокращения возникали, когда электрод находился над линией, соединяющей *A* и *I*-диски (здесь Т-тубулы открываются на плазматической мембране на уровне наружной части *A*-полосы) [91]. Следовательно, один из первых этапов электромеханической связи — распространение деполяризации через трансверзальные тубулы, как это несколько раньше предположили морфологи. Действительно, при избирательном разрушении Т-системы после отмывки от гипертонического раствора глицерина регистрируются полноценные потенциалы действия, которым не сопутствуют сокращения [92—95]. Деполяризующие толчки тока также не вызывают сокращения в глицеринобработанных мышцах. Интактность внутренних контролирующих систем и миофибриллярного аппарата доказывается тем, что после отмывки глицерина можно вызвать кофеиновую контрактуру [96].

В сердце млекопитающих отмывка от глицерина не ведет к разобщению электромеханического сопряжения — потенциалы действия и сокращения после этой процедуры не меняются [97]. Электронномикроскопические исследования показывают, что Т-система в миокарде при этом остается интактной. Аналогично поведение и тонической скелетной мышцы [96]. Отличительная особенность Т-системы сердца — бо́льшие размеры по сравнению с клетками скелетной мышцы [98]. Видимо, при переносе в нормальный раствор после глицеринизации в узкой щели Т-системы скелетных мышечных клеток возникает резкий осмотический перепад, набухание и разрыв Т-тубул. Так происходит в скелетной мышце. В клетках сердца, где Т-система короче и шире, осмотическое равновесие наступает быстро.

Исходя из того, что Т-тубулы — это впячивания поверхност-

ной мембраны, можно предположить, что электрические свойства и проницаемость мембраны Т-тубул те же, что и у поверхностной. Однако при изучении калиевой и хлорной проводимости в нормальных и глицеринизированных клетках на волокнах портняжной мышцы лягушки нашли, что вся хлорная проводимость мышцы сосредоточена в поверхностной мембране, а калиевая — и в мембране Т-системы, и в плазмолемме [99]. Следовательно, в мембране Т-системы имеются отрицательные фиксированные заряды [100], чем, кстати, можно объяснить разницу в ходе калиевых и хлорных контрактур в скелетной и сердечной мышцах.

Электрические свойства Т-системы влияют на некоторые функциональные характеристики. Во-первых, значительная часть емкости мышечного волокна сосредоточена в тубулярной мембране [93, 100, 101]. Во-вторых, из-за высокого отношения поверхности тубулярных мембран к объему протока тубулы очень малый ток будет вызывать значительные изменения концентраций ионов, что должно сказаться на последующей активности при ритмической стимуляции.

Механизм, посредством которого электрический сигнал проводится в центр волокна, еще не ясен. Можно предположить два способа. Вдоль Т-тубул распространяется потенциал действия (регенеративный сигнал) или электротон (даже электротонический сигнал может объяснить быстроту активации контрактильной системы). Большинство экспериментальных данных свидетельствует об электротоническом распространении. Это следует и из ряда теоретических моделей [101—103]. Постоянная длины тубул зависит от их диаметра [104]. Это согласуется с расчетом, что поверхностная проводимость трубки с линейно-расположенными фиксированными зарядами зависит от диаметра трубки.

С другой стороны, скорость распространения возбуждения по Т-системе составляет 3—8 *м/сек*, что отрицает электротоническое распространение [105, 106]. Для внутреннего распространения активации Q_{10} больше двух. Это также неожиданно для электротонического распространения и предполагает наличие регенеративного процесса. Электрические характеристики Т-системы таковы, что полноценные потенциалы действия достаточны для активации центральных миофибрилл. Если распространение по Т-системе пассивное, то падение потенциалов действия в гипонатриевом растворе будет вести к неполной активации волокон и уменьшению амплитуды сокращений; если в тубулах имеются потенциалы действия, то сокращения с падением внеклеточной концентрации натрия должны уменьшаться при ритмической стимуляции. Это доказано экспериментально [107].

Согласно некоторым авторам [108—110], не деполяризация мембраны ответственна за запуск сокращения, а возникающий при распространении потенциала действия продольный ток:

$$i=\frac{1}{r_i}\cdot\frac{\partial V}{\partial x}=\frac{1}{r_i u}\cdot\frac{\partial V}{\partial t}, \qquad (1)$$

где u — скорость распространения возбуждения, v — потенциал, t — время, x — расстояние, r_i — внутреннее сопротивление. На основании анализа кабельных свойств мышцы установлено, что продольный ток не может активировать мышцу в той мере, чтобы запустить сокращение [111—113]. Создавая продольные токи внутри волокна с помощью двух микроэлектродов, нашли, что механический ответ не наблюдается при токах $3\cdot10^{-6}$ *а* (при естественном потенциале действия $1\cdot10^{-6}$ *а*), если мембрану заблокировать прокаином. С другой стороны, миофибриллы способны сокращаться под действием электрического тока [114]. Иногда это удавалось получить и на глицеринизированных волокнах, но примененные токи были велики —10^{-5} *а*. Можно создать такие условия, когда значительный продольный ток отсутствует (применением массивных раздражающих электродов), а мышечные сокращения возникают. Данный факт — серьезное опровержение теории активирующей роли продольных токов. Об этом же говорит наличие калиевых и гальванических контрактур.

Сейчас можно выдвинуть еще более сильные опровержения теории продольных токов. С самого начала предполагалось, что продольный ток течет по гомогенной среде с одной и той же плотностью тока во всех точках. Указанное предположение, очевидно, некорректно, если исходить из внутриклеточной морфологии и наличия Т-системы с высоким сопротивлением. Следовательно, любой внутренний ток должен делиться по крайней мере на две ветви. Одна идет через высокое сопротивление Т-тубул, другая — через низкое сопротивление саркоплазмы и миофибрилл. Кроме того, активация АТФ-вызванных сокращений под влиянием тока может быть понята, если учесть наличие в глицеринизированных препаратах остатков внутренних мембранных систем, содержащих кальций. Сказанное применимо и к скелетной, и к сердечной мышцам. В последней роль продольных токов еще меньше из-за синхронности работы миокарда и длительности фазы устойчивой деполяризации.

Второй этап электромеханического сопряжения — высвобождение кальция из некоторых мест внутри клетки под влиянием деполяризации, распространяющейся по Т-тубулам. Близкое соседство Т-системы и терминальных цистерн ретикулюма, содержащего кальций, говорит о том, что возбуждение высвобождает кальций именно из этих участков. Справедливость такого предположения подтверждена авторадиографическими исследованиями [115—118], где показано, что кальций при возбуждении движется из межфибриллярных структур от *I*-полосы к *A*-полосе. Этого следовало ожидать, если бы кальций высвобождался из саркоплазматического ретикулюма в области

триад и двигался к миофиламентам, вызывая их сокращение. Механизм передачи возбуждения к концевым цистернам до сих пор не ясен. Морфологические данные свидетельствуют о возможности существования своеобразного электрического синапса [119]. Соединение в области триад может быть интерпретировано как tight junction [120, 121].

Известно, что септальные контакты имеют низкое электрическое сопротивление [122]. Тем не менее электрические свойства триад до сих пор не исследованы. Наименее изучена способность одних и тех же структур высвобождать и поглощать кальций, пусть даже с некоторым разделением во времени. Этот момент объясняет гипотеза Бианхи [123] об изменении константы связывания кальция в участках хранения, однако постановка экспериментов, подтверждающих или опровергающих данную точку зрения, в настоящее время не представляется возможной. Механизм высвобождения кальция — самое уязвимое звено в современной концепции о сопряжении электрических и механических процессов.

При деполяризации увеличивается свободная концентрация кальция в миоплазме, затем уменьшается (кальциевый переход — *calcium transient*). Это показано на портняжной мышце лягушки с использованием мирексида, чей спектр адсорбции изменяется при комбинации с кальцием [124], и на одиночных волокнах *Balanus nubilis* посредством кальцийчувствительного фотопротеина акворина, который люминесцирует, соединяясь с кальцием [125—129]. Остановимся более подробно на исследовании [128], где одновременно регистрировали изменение мембранного потенциала, кальциевый переход и мышечное напряжение, поскольку они имеют принципиальное значение для проблемы электромеханического сопряжения.

Кальциевый переход при относительно кратковременных деполяризующих толчках нарастает и падает вслед за реполяризацией, а форма его кривой напоминает первую производную фазы нарастания изометрического сокращения. Последнее позволило авторам предположить, что скорость развития механического напряжения пропорциональна зависимой от кальция световой эмиссии, т. е. свободной концентрации кальция:

$$\frac{dP}{dt} = k_1 [\mathrm{Ca}]_0, \qquad (2)$$

где P — изометрическое напряжение, $[\mathrm{Ca}]_0$ — концентрация свободного кальция внутри клетки, k_1 — константа пропорциональности. Из этого следует, что напряжение пропорционально площади под кривой кальциевого перехода. Поэтому

$$P(t) = k_1 \int_0^t [\mathrm{Ca}]_0 (t)\, dt. \qquad (3)$$

Рост интенсивности деполяризации увеличивает скорость нарастания, максимум и площадь кальциевого перехода. Параллельно увеличивается максимальная скорость и максимальная амплитуда соответствующего изометрического ответа. Удлинение деполяризации сказывается и на кальциевом переходе, и на характеристиках изометрического напряжения — кривая кальциевого перехода расширяется. При очень длительной деполяризации кривая состоит по крайней мере из трех фаз: быстрого нарастания, медленного падения при продолжающейся деполяризации и быстрого падения при реполяризации. То, что кальциевый переход значительно опережает развитие механического напряжения, авторы интерпретировали так: кальций необходим для генерации механического напряжения, но не обязателен для его поддержания. Иными словами, пик напряжения достигается тогда, когда кальций уже реаккумулируется саркоплазматическим ретикулюмом. Сказанное означает, что расслабление не связано с удалением свободного кальция.

Видимо, высвобожденный из контрактильных белков кальций находится в замаскированной форме, например в форме некоторого комплекса. Указанное предположение несколько неожиданно, если исходить из установившейся концепции о механизме расслабления. Следует также учесть, что изометрическое напряжение значительно отстает от хода активного состояния мышцы. Площадь под каждой кривой кальциевого перехода связана с максимумом развиваемого напряжения *S*-образной зависимостью. В гипертонических растворах, где происходит разрушение Т-тубул, наблюдается уменьшение кальциевого перехода и одновременно развиваемого механического напряжения.

Механизм высвобождения кальция до сих пор не ясен. Возможно, увеличивается проницаемость мембраны саркоплазматического ретикулюма к ионам кальция (но для этого необходимо принять, что кальций внутри протоков находится в ионизированной форме) [130]. Второй вариант — при деполяризации высвобождается кальций, связанный с мембраной ретикулюма, вследствие конформационных изменений в ней. Пока трудно сделать выбор между двумя этими альтернативами.

Заманчиво предположить, что активация сокращений происходит за счет входящего кальция (из протоков саркоплазматического ретикулюма или внеклеточной среды), а реабсорбция производится мембраной ретикулюма. Тогда в последней должны быть участки, контролирующие проницаемость к кальцию и места его реабсорбции. Возможно, отсутствует четкое пространственное разделение мест контроля и реабсорбции, но указанное функциональное разделение могло бы, с нашей точки зрения, объяснить некоторые моменты электромеханического сопряжения (особенно для миокарда), и в частности зави-

симое от кальция и потенциала выделение и поглощение кальция.

О тесной связи между двумя постулируемыми участками внутренних мембранных систем контроля кальция свидетельствуют следующие данные. Известно, что кофеин высвобождает кальций из мест хранения, но не влияет на его поглощение (во всяком случае на изолированном саркоплазматическом ретикулюме). Вызванная кофеином контрактура не поддерживается, а через некоторое время расслабляется. Обычно вслед за первым физическим сокращением следует другое, которое также расслабляется или переходит в длительные осцилляции, причем указанные явления не связаны ни с деполяризацией ретикулюма, ни с инактивацией. Потенциал существенно изменяет взаимоотношение между двумя участками ретикулюма, так как вызванное кофеином высвобождение кальция из деполяризованного ретикулюма более интенсивно, а результирующая контрактура не дает расслабления [131]. Пик напряжения при осцилляторных сокращениях обычно достигает 80% от максимального напряжения, что свидетельствует о синхронности высвобождения кальция ретикулюмом. Есть основания полагать, что некоторый сигнал для кальциевого высвобождения распространяется по ретикулюму.

Найдено, что концентрации кальция в миоплазме ниже пороговых значительно увеличивают кальцийвысвобождающий эффект кофеина. Следовательно, кальций может способствовать высвобождению кальция [3]. Это подтверждается данными по изучению кальциевых токов в миокарде теплокровных методом фиксации напряжения на мембране [132]. Таким образом, если кальций высвобождается из некоторых малых частей ретикулюма, то высвободившиеся ионы стимулируют соседние участки. Кальций как бы стремится к образованию петли положительной обратной связи, формируя механизм высвобождения по типу «все или ничего» [133—135]. Однако процесс высвобождения кальция происходит медленно и физиологический смысл его для скелетной мышцы не совсем ясен. Для сердца вполне вероятно, что кальций, который поступает в клетку при возбуждении, запускает кальциевое высвобождение из внутриклеточных запасов или остаточные концентрации его увеличивают высвобождение (или поступление) при последующих возбуждениях, т. е. выделение и сорбция кальция должны рассматриваться как относительно независимые процессы. Возможно также, что свойства терминальных цистерн или их аналогов и остальной части саркоплазматического ретикулюма различны. С помощью авторадиографии показано изменение распределения кальция: после кратковременного тетануса его количество в продольных тубулах увеличивается [117], во время покоя — его больше в терминальных цистернах. Следовательно, либо кальцийаккумулирующие свойства

терминальных цистерн и остальной части ретикулюма отличаются (первые имеют к кальцию более высокое сродство), либо продольные тубулы не деполяризуются во время возбуждения.

После того как в миоплазме тем или иным образом увеличивается концентрация кальция, вероятно, происходят следующие процессы: диффузия кальция к контрактильным белкам, связывание его с белками (тропонином). Диффузия вряд ли является лимитирующей реакцией, так как расстояние для нее невелико при условии, что коэффициент диффузии в миоплазме такой же, как и в обычном растворе. Наиболее узкое звено данной цепи — реакция кальций — тропонин. Параллельно с перечисленными выше процессами уменьшается свободная концентрация кальция в связи с поглощением его внутренними мембранными структурами или выталкиванием активным транспортом из клетки. Однако до сих пор неизвестно, когда начинается реабсорбция кальция: в начале, в течение или после окончания потенциала действия.

Суммируя все сказанное, выведенное в основном из работ, выполненных на скелетной мышце, можно утверждать, что электромеханическая связь опосредуется через внутрьнаправленное распространение потенциала и выделение кальция из мест связывания, а кальциевый обмен действует в замкнутом контуре и относительно независим от внеклеточного кальция. В принципе такой же механизм связи, конечно, с определенными модификациями, действует в тех миокардиальных клетках, где имеется развитая Т-система. Различия между миокардиальными и скелетными клетками скорее количественные, чем качественные [136—137]. В таких волокнах электромеханическую связь условно можно разделить на следующие этапы [138]:

1) распространение деполяризации по Т-тубулам;

2) передача электрического сигнала на саркоплазматический ретикулюм — команда для высвобождения кальция в цитоплазму;

3) увеличение концентрации свободного кальция в непосредственной близости от миофибрилл, ведущее к развитию силы в саркомерах;

4) под влиянием еще неидентифицированного сигнала удаление кальция и спад активного состояния.

Для миокарда эта схема нуждается в подтверждениях. Во всяком случае, проведение возбуждения внутрь волокна до сих пор для клеток сердца не установлено [139]. Кроме того, относительно малые размеры миокардиальных клеток опровергают доводы Хилла о том, что диффузия активатора через поверхностную мембрану — событие маловероятное. Для сердца определить такую задержку трудно, но даже грубые расчеты показывают, что нельзя исключить диффузию активатора (Ca^{++}) из межклеточной среды как механизм сопряжения

электрических и механических процессов. В дальнейшем этот тезис будет развит более подробно.

В тех мышцах, где саркоплазматический ретикулюм развит слабо (миокард холоднокровных, гладкая мышца, тонические мышцы), системы более чувствительны к изменению наружного кальция и демонстрируют более прямую связь между трансмембранным потоком кальция и мышечным напряжением (контрактильная сила линейно зависит от наружного кальция). То, что часть этого кальция расходуется на сокращение в самой скелетной мышце, маловероятно, так как обычные сокращения не меняются при изменении содержания наружного кальция, и нормальное сокращение можно получить в бескальциевом растворе. Однако определенную роль трансмембранный поток кальция играет и здесь.

По данным [140—141], при калиевых контрактурах увеличивается вход Ca^{45}. Это, по-видимому, количественно не связано с развиваемой контрактурой. В растворе с $[Ca]_o=0{,}1$ *мМ* вход кальция уменьшается на 90%, а развиваемое напряжение — только на 30%. Кроме того, в бескальциевом растворе калиевая контрактура исчезает, несмотря на достаточные внутриклеточные запасы кальция, но в данном случае трудно исключить изменение свойств поверхностной мембраны. Возможно и другое толкование этого явления. Кальций, входящий в клетку из поверхностного пула во время деполяризации, ведет себя так, как если бы он запускал высвобождение кальция из саркоплазматического ретикулюма. Удаление его из среды устраняет запускающее действие внешнего кальция, но внутриклеточный кальциевый пул остается интактным.

Особенно четко влияет внешний кальций на порог контрактуры. В скелетной мышце *e*-кратное увеличение его содержания в наружном растворе вызывает сдвиг порога на 10—20 *мв* в область меньшего мембранного потенциала. В миокарде наблюдается обратное явление. Это напоминает действие кальция на электрические свойства возбудимых мембран. Вероятно, ион кальция адсорбируется на наружной поверхности и изменяет электрическое поле на мембране. Вход кальция при возбуждении имеется и в нервах, но его величина на порядок меньше, чем в сердце, и он связан с изменениями проницаемости во время потенциала действия [142].

Многочисленные исследования показали, что в миокарде сокращениям сопутствует увеличенный вход кальция по отношению к уровню покоя [143—150], который в 10—20 раз больше трансмембранного входа кальция в скелетной мышце. Это справедливо для миокарда и теплокровных, и холоднокровных животных. Аналогичные данные получены на скелетной мышце: изотопный поток кальция наружу возрастал при электрической стимуляции, однако был равен входу ионов кальция [140]. На желудочке лягушки вход кальция в состоянии покоя

Таблица 1

Поглощение Ca^{45} в активно сокращающейся сердечной мышце в зависимости от концентрации кальция, натрия и частоты стимуляции [154]

Препарат	Внеклеточная концентрация, *мМ*,		Частота стимуляции, *мин*$^{-1}$	Дополнительный вход, *pM* Ca/*см*^{2} на сокращение
	Ca	Na		
Предсердие морской свинки	2,5	145	30	0,55
	2,5	145	6	0,15
	1,25	145	15	0,13
	2,5	145	15	0,30
	3,75	145	15	0,44
Желудочек лягушки	1	116	10	0,15
	2	116	10	0,23
	0,5	58	10	0,27

составляет 0,009 *pM/мм*^{2}·*сек* [149], при сокращениях поток существенно возрастает. Дополнительный вход кальция на сокращение доходит до 0,15 *pM/см*^{2} $[Ca]_o = 1$ *мМ*). При концентрации кальция в два раза выше нормальной или в растворе с уменьшенной концентрацией натрия (50% NaCl + 50% холинхлорида) вход кальция возрастал. Согласно расчетам, количество входящего кальция составляет только 10% того минимального заряда, который необходим для перезарядки мембранной емкости при возбуждении, т. е. этот ток дает малый вклад в потенциал действия.

На небьющемся предсердии морской свинки найдено [145], что изотоп кальция аккумулируется в количестве 0,50 *мМ* на 1 *кг* ткани, а при уменьшении кальция в окружающей среде в два раза — до 0,22 *мМ*. Поглощение его в покоящейся мышце прямо пропорционально концентрации кальция и обратно пропорционально концентрации натрия. В папиллярной мышце собаки поглощение доходит до 0,92 *pM* Ca^{45}/*см*^{2} на одно сокращение по отношению к уровню покоя. Это связано с частотой сердцебиений и концентрацией натрия (табл. 1).

При калиевой контрактуре (100 *мМ KCl*) поглощение кальция доходит до 0,11 *pM/см*^{2}·*сек*, что в 20 раз превышает аналогичную величину в покоящейся мышце, хотя развитие во времени контрактуры и входа Ca^{45} не полностью совпадает [149]. Следует заметить, что увеличение входа кальция при возбуждении — общая черта большинства возбудимых тканей (табл. 2).

Во время активности изменяется также выход кальция. При нормальной концентрации кальция дополнительный прирост внутриклеточной концентрации его отсутствует.

Сравнительные физиологические исследования показали, что поглощение кальция мышечными клетками тем меньше, чем больше в них развит ретикулюм. В этом отношении можно вы-

Таблица 2

Сравнение входа кальция в возбудимых тканях, в покое и при возбуждении

Ткань	$[Ca]_o$	Вход в покое, *pM/см²·сек*	Стимулируемый вход, *pM/см²* на 1 импульс
Гигантский аксон кальмара	10,7	0,076	0,0062
	1,0	0,094	0,20
	1,0	0,096	—
Желудочек лягушки	1,0	0,09	0,15
Предсердие морской свинки	1,25	0,016	0,13

делить следующий ряд: фазные скелетные волокна, тонические волокна, сердце теплокровных, сердце холоднокровных, гладкая мышца. Не обнаружено корреляции между степенью эволюционного развития животного и типом электромеханического сопряжения. Рассчитано, что отношение ионов кальция, поглощаемых при максимальном сокращении, к числу толстых протомиофибрилл (одна толстая протофибрилла содержит около 400 молекул миозина) составляет 1,6 : 1, т. е. практически каждый ион кальция взаимодействует с одной молекулой миозина.

Несмотря на то, что при деполяризации значительно возрастает трансмембранный поток кальция (об этом же свидетельствует обнаружение кальциевого тока в опытах с фиксацией напряжения), по мнению большинства авторов, количество входящего кальция слишком мало для инициации и поддержания мышечного напряжения. Поэтому важно выяснить количество кальция, необходимое в физиологических условиях для активации сокращений. Расчет показывает следующее. Пороговая концентрация кальция для активации актомиозиновой системы скелетной мышцы равна 10^{-7} *М*, а максимум активности наблюдается при 10^{-6} *М*. Количество кальция, связанного с актомиозином, возрастает при этом от 0,9 до 2,2 *мкМ/г* [151].

Таким образом, количество кальция, необходимое для активации, составляет 1,3 *мкМ/г* актомиозина. В одном литре миокарда содержится 56 *г* актомиозина. Отсюда следует, что для активации сокращения необходимо 72,8 *мкМ* кальция на 1 *л* миокарда, а максимальный вход составляет всего 3 *мкМ/л*, т. е. входящего кальция явно недостаточно для активации сокращений. Вклад внешнего кальция будет тем больше, чем меньше диаметр волокна. Отсюда следуют два важных вывода: 1) в клетках, где саркоплазматический ретикулюм развит слабо, должны существовать другие участки хранения (и высвобождения) кальция, ибо даже в бескальциевых растворах наблюдаются сокращения; 2) даже при внутренней транслокации кальция существенную роль выполняет и внешний кальций.

Считается, что поток кальция через мембраны при возбуждении контролирует влияние возбуждения на высвобождение внутриклеточного кальция из определенных участков [152]. Совсем недавно появилась еще одна возможность толкования несоответствия между количеством входящего в клетку миокарда кальция и его способностью вызывать сокращение. Показано, что напряжение в желудочке крысы в 5—6 раз меньше максимального. То же отношение (5 : 1) получается при сравнении максимального напряжения в препарате Натори с нормальным напряжением. Видимо, для начала сокращения миофибриллярным белкам не надо насыщаться кальцием полностью, т. е. его ввод может быть меньше 10 *мкМ/л* для каждой контрактуры. Вполне вероятно, что большее количество кальция высвобождается последовательно во время деполяризации из мембраны и удаляется во время реполяризации поверхностными или внутренними мембранными системами, тесно связанными с внешней мембраной. Задержка начала сокращения на 100 *мсек*, наблюдаемая в этих опытах, вполне допустима, и хотя большое количество Ca^{++} в таком комплексе будет циркулировать между миофиламентами и мембраной под воздействием потенциала действия, приблизительно 20% его могут поставляться во время деполяризации из внеклеточного пространства. Вероятно, время, необходимое для изменения концентрации кальция в миофибриллярном пространстве, зависит от пути диффузии кальция и быстроты его поглощения (выведения). Значит, роль внешнего кальция будет тем больше, чем меньше диаметр волокна и хуже развиты везикулярные структуры. Прямой механизм электромеханической связи (через внешний кальций) возможен в очень малых клетках, где сокращения развиваются медленно.

Какие же структуры клеток миокарда могут выполнять роль мест хранения кальция там, где имеются лишь рудименты ретикулюма? Вероятно, справедливо предположение, что сарколеммальная мембрана выполняет функции саркоплазматического ретикулюма, тем более что ее площадь достаточно велика (11400 *см²/г* [153]). Как правило, при уменьшении диаметра волокна все бóльшие клеточные функции выполняются поверхностной мембраной. Тогда можно ожидать, что мембрана желудочка лягушки должна обладать свойствами саркоплазматического ретикулюма, т. е. ингибировать сокращения изолированных миофибрилл и их АТФ-азную активность, аккумулировать кальций. Однако сведения о таких свойствах пока отсутствуют. Некоторую роль могут играть митохондрии, но вряд ли из них кальций высвободится под влиянием потенциала действия. Электромеханическую связь миокарда холоднокровных можно назвать прямой, ибо деполяризация непосредственно ведет к высвобождению кальция из мест связывания, в отличие от непрямой связи, где для нормальной реализации электромеханического сопряжения требуется интактность триадных структур.

В миокарде теплокровных прямой и непрямой типы электромеханической связи могут сочетаться. Несмотря на наличие специализированных мест хранения в саркоплазматическом ретикулюме, места связывания кальция дополнительно располагаются вдоль цитоплазматической поверхности сарколеммальной мембраны [153—155].

Такие участки лежат в непосредственной близости от мест генерации потенциалов действия. Особенность сердца состоит в том, что интеркалярные диски и нексусы не содержат кальциевых депо. Отсюда следует вывод, что участки, в которых хранится кальций, связаны с мембраной, обладающей высоким сопротивлением, и отсутствуют там, где мембрана имеет низкое сопротивление. Наличие субсарколеммальных кальциевых депо подтверждено изучением кинетики изотопного обмена кальция. На предсердии морской свинки найдено три компоненты кальциевого обмена: быстро обмениваемая, медленно обмениваемая и необмениваемая [156]. Эти фракции содержали соответственно 59, 15 и 26% кальция. Полупериод быстрой фракции 4, 5 *мин*, что значительно больше величины, ожидаемой для внеклеточного пространства. В папиллярной мышце собаки и кролика выделено пять кинетических фаз [157—160]. Причем вторая фаза является «поверхностным» кальцием по Ниэдергерке и «промежуточным» по Винеграду [150].

Факторы, ведущие к росту сократимости (низкая концентрация натрия, высокая концентрация калия, возрастание частоты стимуляции) увеличивают количество кальция в быстрой фракции. Электронномикроскопический контроль при перфузии гиперкальциевым и гипонатриевым растворами показывает расширение саркоплазматического ретикулюма [161]. Если емкость этой фракции превышает некоторый уровень, развивается контрактура. Большинство работ показывает, что общее количество обмениваемого кальция коррелирует с функциональной активностью миокарда, а быстрообмениваемая фракция прямо связана с сокращениями. Этот пул либо мал, либо отсутствует в остановленном (небьющемся) сердце [162—163]. Вероятно, концентрацию кальция в кальциевом пуле определяют следующие моменты: внутрь направленный поток ионов кальция во время потенциала действия, внутриклеточное освобождение и поглощение его; наличие факторов, модифицирующих связывание внутриклеточного кальция и его перераспределение.

Электромеханическая связь не была бы так эффективна, если бы кальций, помимо функции запуска сокращений, не регулировал метаболические реакции, продуцирующие макроэргические соединения, обеспечивающие приспособление обмена веществ к нуждам сократимости миокарда. Однако вопрос об электрометаболическом сопряжении изучен мало. Известно, что кальций играет роль триггера гликогенолиза. Так как концентрация свободного кальция контролируется внутренними мем-

бранными системами, то можно предположить, что и гликогенолиз также регулируется этой системой. Действительно, частицы гликогена локализованы вблизи саркоплазматического ретикулюма. Возможно, кальций является медиатором связи возбуждения с энергиюпродуцирующими и энергиюпоглощающими реакциями, сопрягая функцию и метаболизм. Предложены следующие варианты связи деполяризации, сокращения и биохимических реакций для миокардиальных волокон:

А	Б	В
Деполяризация	Деполяризация	Деполяризация
↓	↓	↓
Внутрь направленное движение кальция	Внутрь направленное движение кальция	Внутрь направленное движение кальция
↓	↓	↓
Расщепление макроэргов	Расщепление макроэргов ↓ Сокращение	Сокращение
↓		↓
Сокращение		Расщепление макроэргов

Согласно первому варианту, кальций прямо вызывает расщепление макроэргических соединений, согласно двум другим — распад макроэргов является следствием сокращений. Большинство данных подтверждают интенсификацию обмена АТФ в восстановительный период. Более гармоничным представляется вариант Б, ибо установлено, что частично деполяризованные волокна (увеличением внеклеточной концентрации калия) резко усиливают поглощение кислорода без улавливаемых изменений механической активности. Все три варианта экспериментально подтверждены.

Количественное изучение величины и скорости высвобождения кальция в зависимости от потенциала мембраны — важный аспект понимания природы электромеханической связи. Показано, что в скелетной мышце минимальная контрактура (в ответ на увеличение внеклеточной концентрации калия) появляется при потенциале на мембране —50 *мв* (потенциал покоя —90 *мв*), а максимальное напряжение развивается при мембранном потенциале —20 *мв*. Кривая связи максимума контрактуры и потенциала на мембране *S*-образная [164, 165]. Из этих данных следует, что потенциал действия начинает участвовать в активации сократительных белков, достигнув значения — 50 *мв* (пороговый потенциал). Объяснить это можно следующим образом [105]. При промежуточных концентрациях калия происходит активация миофибрилл у поверхности, тогда как внутренние не сокращаются. При калиевой контрактуре мышечное напряжение не поддерживается и, несмотря на постоянство мембранного потенциала, начинает уменьшаться. Последнее не связано с из-

менениями в самой контрактильной системе или аккомодацией ее к кальцию, так как в высококалиевом растворе вновь можно вызвать активацию кофеином.

Таким образом, деполяризация двояко действут на саркоплазматический ретикулюм: быстро высвобождает кальций, позднее — поглощает его. Поздний эффект был назван инактивацией зависимого от потенциала высвобождения кальция (или просто инактивацией) по аналогии с инактивацией натрийпереносящей системы в процессе генерации потенциала действия. Высвобождение кальция нечувствительно к последующей деполяризации, и способность давать следующую контрактуру восстанавливается только после реполяризации. Восстановление от инактивации требует определенного времени после окончания реполяризации. Скорость и величина восстановления также зависят от потенциала [166].

Более подробные исследования показали наличие двух типов инактивации — быстрого и медленного [167]. Вероятно, один тип связан с уменьшением деполяризации ретикулярной мембраны. Он возможен, если сопротивление между мембранами Т-системы и терминальной цистерны постепенно увеличивается при поддерживаемой деполяризации по аналогии с инактивацией задержанного выпрямления [168—170].

Второй тип — истинная инактивация, т. е. поглощение кальция, несмотря на удерживаемую деполяризацию. Задержанное выпрямление ведет себя аналогично высвобождению кальция [130]. Пороговый потенциал его близок к таковому для инициации сокращения. В течение поддерживаемой деполяризации задержанное выпрямление постепенно инактивируется. Это напоминает инактивацию кальцийвысвобождающего механизма. Восстановление от инактивации и задержанного выпрямления и кальциевого высвобождения достигается при реполяризации. И здесь минимальный период восстановления задержанного выпрямления совпадает с таковым для кальцийвысвобождающего механизма. Однако имеются некоторые количественные различия, что делает прямую каузальную связь маловероятной. Согласно недавним исследованиям, механизм инактивации сокращения подобен аналогичному механизму во время нервного импульса. После реполяризации процесс медленно возвращается к исходному уровню, т. е. высвобождение кальция зависит от двух раздельных процессов: активации и инактивации [167].

Часто возникает вопрос о законности описания электромеханической связи для потенциала действия — сокращения по данным устойчивая деполяризация — контрактура, ибо предполагается, что калий, помимо изменения мембранного потенциала, может независимо влиять на сокращение через что-то другое. Калий вызывает сильные метаболические эффекты (значительную теплопродукцию, усиление дыхания и т. д.) [171]. Механизм

такой индукции не известен, но считается, что она реализуется через деполяризацию. Однако кинетика теплопродукции и контрактуры совершенно различна, и вряд ли метаболические реакции, вызываемые калием, прямо вовлекаются в активацию контрактуры. Эксперименты по фиксации напряжения в скелетной мышце [172—177] подтвердили выводы, полученные при изучении калиевых контрактур:

1) существует определенный мембранный потенциал для механического порога и механического насыщения; при коротких толчках для активации необходима бо́льшая деполяризация, чем при длительных;

2) механический порог уменьшается кофеином и липотропными анионами и увеличивается кальцием;

3) величина активации пропорциональна длительности деполяризации;

4) после длительной деполяризации наблюдается явление «механической рефрактерности».

Следует заметить, что электромеханическая связь подчиняется зависимости сила — длительность (по аналогии с кривой сила — длительность для возбудимости). Вероятно, для механической активации необходимо определенное количество зарядов, которое должно сместиться к сокращающимся структурам.

В опытах с калиевыми контрактурами в миокарде [177—178] оценили связь потенциала и сокращения в сердечной мышце. Увеличение концентрации KCl от 10 до 100 *мМ* вызывает деполяризацию от 70 до 20 *мв*. При нормальной концентрации натрия имеется приблизительно S-образная связь между мембранным потенциалом и величиной механического напряжения. Пороговый потенциал для контрактуры равен 55 *мв*. Связь потенциала и сокращения в надпороговой области очень крутая. При уменьшении концентрации натрия в наружном растворе на 50% кривая мышечное напряжение — мембранный потенциал сдвигалась на 30 *мв* в сторону большего потенциала, так что порог для контрактуры был равен 85 *мв*. Удаление всего натрия из околоклеточной среды и замена его на изоосмотические количества сахарозы приводили к возникновению максимальной контрактуры при нормальном потенциале покоя. При использовании 100 *мМ* KCl, который вызывает деполяризацию до 20 *мв*, выявляется Ca — Na-антагонизм (точно такой же антагонизм наблюдается на одиночных сокращениях). Это согласуется с данными, согласно которым сила сокращений сердца лягушки определяется соотношением Ca^{++}/Na^{+} в наружном растворе [179—181]. Это объяснено тем, что кальций и натрий конкурируют за анионную группу R на клеточной мембране, причем CaR некоторым образом влияет на сокращение. Реакция идет по типу

$$2Na + CaR \rightleftharpoons Na_2R + Ca. \qquad (4)$$

Предполагая общее число анионных групп равным единице и группы занимаются либо натрием, либо кальцием, по закону действующих масс

$$[Na^+]^2 \cdot [CaR] = [Ca^{++}](1 - [CaR]) \quad (5)$$

или

$$\frac{[CaR]}{[1 - CaR]} = \frac{[Ca^{++}]}{[Na^+]^2} = \text{const}.$$

Это уравнение объясняет облегчающее действие гипонатриевых растворов как результат увеличения CaR. Предположим, что радикал R, который комбинируется с натрием или с кальцием, несет один отрицательный заряд. Тогда его распределение между сторонами мембраны при потенциале E (предполагается, что сокращение пропорционально появлению комплекса CaR_1 внутри клетки), согласно уравнению Больцмана, должно быть следующим:

$$\frac{[CaR]_i}{[CaR]_0} = \exp(zFE/RT). \quad (6)$$

Если [CaR] в избытке и натрий заменяет места кальция, то

$$[CaR]_i + [CaR]_0 = [CaR] = \alpha \frac{[Ca^{++}]}{[Na^+]^2}. \quad (7)$$

Предположив, что $[CaR]_0 \gg [CaR]_i$, т. е. $[CaR] \approx [CaR]_0$, тогда

$$[CaR]_i = \alpha [Ca^{++}]/[Na^+]^2 \cdot \exp(zEF/RT). \quad (8)$$

Из уравнения (8) следует, что уменьшение содержания натрия в окружающей среде резко увеличивает $[CaR]_i$ и наблюдаемую контрактуру без деполяризации. Можно рассчитать сдвиг порога при уменьшении концентрации натрия, например на 50%. При постоянстве $[Ca]^{++}$ изменение деполяризации ΔV, которое вызывает то же самое увеличение $[CaR]_i$, при вариации $[Na]_0$ должно быть:

$$\Delta V = \frac{RT}{ZF} \ln \frac{[Na^+]_1}{[Na^+]_2}.$$

Если $Z = 1$, то уменьшение концентрации натрия снаружи на 50% должно привести к следующему сдвигу:

$$0{,}58 \times \lg 4 = 34{,}9 \text{ мв}.$$

Экспериментально найденная величина составляет 30 *мв*, откуда вытекает хорошее соответствие между расчетными и экспериментальными данными. Эти данные и их интерпретация несколько нетрадиционны, потому что, во-первых, связывают активацию не с ионизированным кальцием, а с комплексом CaR, а во-вторых, подразумевают роль в запуске сокращения

кальция, идущего только из внеклеточной жидкости. Таким образом, общая схема электромеханического сопряжения для миокарда может быть представлена в следующем виде:

1. Распространение потенциала действия по сарколемме и внутрь направленное распространение возбуждения через Т-систему.
2. Трансмембранный поток Са и высвобождение его из внутриклеточных мест связывания.
3. Диффузия Са к контрактильным элементам и связывание его тропонином.
4. Взаимодействие АТФ с актомиозином.
5. Реабсорбция Са и трансмембранный, наружу направленный транспорт его.
6. Перераспределение Са в местах связывания.

Более подробно вероятная схема последовательности событий представлена ниже:

РОЛЬ ПОТЕНЦИАЛОВ ДЕЙСТВИЯ В РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА

По аналогии со скелетной мышцей можно предположить, что в миокарде потенциал действия выполняет роль триггера сократительного аппарата. Постепенно накапливаются данные о том, что роль потенциалов действия в клетках сердечной мышцы значительно бóльшая, чем простой запуск сокращения: помимо включения они выполняют функцию регулятора контрактильного процесса. На первых этапах исследований об этом свидетельствовали отмечаемые многими авторами корреляции между

параметрами потенциала действия и сокращения [182, 183]: высота спайка — пик механического напряжения, скорость нарастания деполяризации — скорость укорочения, площадь под кривой потенциала действия — механическая работа сокращения, длительность потенциала действия — время нарастания напряжения.

Наибольшее внимание уделено корреляции между длительностью фазы плато и длительностью изометрического сокращения. Пропусканием толчков деполяризующего тока через полоску мышцы желудочка установлена прямая связь между длительностью потенциала действия и временем нарастания контрактильного ответа до максимального значения [184]. Об этом же свидетельствовал факт, что при постоянной температуре с увеличением частоты стимуляции в миокарде лягушки происходит параллельное падение и длительности плато, и времени нарастания сокращения до максимума [185,186]. Однако в папиллярных мышцах корреляция между длительностью потенциала действия и временем развития напряжения при изменении интервала между стимулами не такая жесткая, как в желудочке: первая снижалась иногда более быстро по сравнению со временем нарастания до пика изометрического сокращения [182].

В течение лестничного феномена и длительность потенциала действия, и время до максимума напряжения уменьшались параллельно [187]. Аналогичное явление наблюдается при уменьшении внеклеточной концентрации натрия [179, 188,189] и при изменениях содержания наружного калия. В гипонатриевых растворах корреляции между длительностью ПД и временем нарастания сокращения теснее, когда заменителем натрия является холин (а не сахароза).

Применение разнообразных фармакологических воздействий: строфантина [190], тетродотоксина [191—193], катехоламинов, изменений внеклеточной концентрации кальция [194], ионов марганца и других —показало, что, за редким исключением, удлиненным потенциалам сопутствует длительное сокращение. Указанное соотношение очень трудно проследить в клетках предсердия, где фаза плато отсутствует, а реполяризация почти экспоненциальна. На предсердиях контрактильное напряжение не поддерживается при пропускании тока через мембрану, и последнее может быть следствием неспособности сократительного аппарата предсердной ткани генерировать поддерживаемое напряжение.

Значительные извращения связи длительность потенциалов действия — длительность сокращений наблюдаются и при понижении температуры [195]. Так установлены различия в длительности потенциала действия и длительности нарастания сокращений до максимума в изолированных волокнах Пуркинье. Здесь при температуре 37° потенциал длился 500 *мсек*, а время до пика напряжения составляло 150—200 *мсек*; при 10° время

до максимума сокращений возросло до 2—3 *сек*, тогда как плато потенциала действия было менее 1 *сек*. Это не удивительно, ибо температурные характеристики, и в частности эмпирическая энергия активации разных фаз потенциала действия и сокращений, существенно различаются [196—197].

При увеличении внеклеточной концентрации ионов калия потенциалы действия уменьшаются в длительности, тогда как сокращения практически меняются мало (время до максимума напряжения вообще остается постоянным). То, что различные ионные и фармакологические воздействия способны изменять электромеханическое сопряжение через то или иное звено, вряд ли нуждается в доказательствах. Поэтому значимость коррелятивной зависимости между длительностью потенциалов действия и сокращений должна приниматься в расчет только в том случае, когда применяемое воздействие меняет длительность деполяризации, не затрагивая иных звеньев механизма электромеханической связи, или в случае наличия развитой количественной модели, где можно точно указать, как и в каком направлении меняются параметры всех звеньев системы при заданном воздействии. Пока же наиболее убедительны данные, когда длительность потенциала действия изменяется с помощью катодных и анодных стимулов. Они прямо показывают, что миокардиальное напряжение поддерживается, пока существует деполяризация (мы не имеем в виду очень длительные деполяризующие воздействия, где выражен процесс инактивации). Можно считать, что деполяризация увеличивает поступление или высвобождение кальция, создавая условия для удержания напряжения.

Вопрос о корреляции ПД и сокращения исследован недавно [198—200]. Установлена положительная связь между длительностью ПД и амплитудой сокращения, хотя иногда усиление сократимости наблюдалось при укорочении ПД. При фиксации тока на трабекулах правого желудочка овцы найдено, что корреляция длительность ПД — время до пика напряжения сохраняется, если длительность ПД не более 500 *мсек*, ибо при длительной деполяризации наблюдается спонтанное расслабление. Детальный анализ на миокарде морской свинки показал, что постоянный уровень величины реполяризации, с которого начинается расслабление, отсутствует. Если в сердце ввести внеочередной стимул, наблюдается постэкстрасистолическая потенциация, максимальная в первом экстрасистолическом сокращении и постепенно экспоненциально падающая в предсердии в течение 5—10 сокращений, а в желудочках — 4—7.

Сумма увеличенной общей площади сокращений линейно связана с общей длительностью дополнительной деполяризации. Если ПД удлинить деполяризующим током, то дополнительная активация в очередном и последующих сокращениях будет линейно связана с временем действия деполяризующего тока [201, 202]. Увеличение частоты стимуляции укорачивает ПД, но

одновременно наблюдается рост сокращения. Падение частоты дает противоположный эффект. Мгновенное охлаждение от 31,5 до 24° быстро удлиняет ПД, тогда как параметры сокращения меняются медленно.

Дополнительный прирост сокращений в сердцах теплокровных под влиянием деполяризации, который продолжается в течение последующих сокращений (тот же эффект дает внеочередное возбуждение), свидетельствует о существовании компартмента между мембраной и контрактильным аппаратом, работающего как дополнительный пул. Из этого пула активатор расходуется при последующих сокращениях. Количество активатора здесь прямо пропорционально длительности потенциалов действия. Действительно, инактивация кальциевого тока во время потенциала действия протекает крайне медленно [203].

Укорочение потенциалов действия и усиление сокращений наблюдается в некоторых сердцах при увеличении частоты сердцебиений, увеличении внеклеточной концентрации кальция [204], после применения строфантина [205]. Вероятно, в этом случае происходит загрузка промежуточного кальциевого пула. Ионы кальция могут поступать к миофиламентам из трех основных источников: 1) из мест связывания в саркоплазматическом ретикулюме, 2) из наружного раствора (трансмембранный поток кальция); 3) из мест связывания в плазматической мембране.

При возбуждении в зависимости от типовых и видовых особенностей миокардиальной ткани, от степени развитости внутриклеточных мембранных систем возможно доминирование того или иного пути. Видимо, в сердцах холоднокровных, где саркоплазматический ретикулюм развит слабо, основное значение в инициации сокращений имеет внеклеточный и мембранный кальций. По мере развития внутриклеточных мембран и совершенствования проведения возбуждения от мембраны к миофиламентам все большее значение приобретает кальций саркоплазматического ретикулюма. Длительность потенциалов действия при этом определяет как бы время, в течение которого происходит выделение кальция из того или иного участка, а в сердце холоднокровных длительность плато — это время, в течение которого мембрана пропускает кальций.

Величина высвобождаемого кальция зависит от предыстории контрактильной активности и движения кальция во время паузы [206]. В свою очередь, уровень свободного кальция при очередном возбуждении определяется входом кальция во время потенциала действия и количеством внутриклеточного кальция в местах связывания. Таким образом, потенциал действия оказывает двойной эффект на кальций — пополняет его клеточные запасы и высвобождает кальций из этих запасов.

Показано [207], что в определенных условиях сокращение состоит из двух компонент: быстрой, связанной с высвобожде-

нием активатора и последующей медленной, обусловленной прямым входом трансмембранного кальциевого тока. Относительная величина их в сокращении зависит от инотропного состояния препарата. При малом количестве кальция в запасах первая компонента воздействует только на скорость нарастания сокращений, тогда как пик напряжения в основном определяется второй. Когда запасы кальция повышаются, первая компонента также начинает давать вклад в пик развиваемого напряжения. При этом медленная и быстрая компоненты при укорочении толчка с 300 до 100 *мсек* ведут себя по-разному: быстрая не меняется, а медленная — падает.

Отличительная особенность электромеханического сопряжения клеток миокарда в том, что ион кальция является регулятором длительности возбуждения. Предположено [208], что во время начальной части потенциала действия происходит быстрое вхождение ионов кальция в миокардиальные клетки и кальций детерминирует длительность фазы плато, являясь как бы регулятором калиевой проводимости. Поддерживаемая деполяризация способствует дальнейшему входу кальция. Однако параллельно идет диффузия кальция и его реаккумуляция цитоплазматическими системами. С ростом концентрации кальция калиевая проводимость будет увеличиваться, что приведет к реполяризации мембраны, к прекращению входа кальция и выключению сокращений. Так как системы с обратной связью имеют тенденцию к осцилляциям, существование альтернаций потенциалов действия не удивительно [209—213]. До недавнего времени эта гипотеза экспериментально не была подтверждена. Косвенные доказательства в ее пользу вытекают из экспериментов с микроинъекцией кальция в крупные одиночные мышечные волокна. Потенциалы действия в них не возникают, если концентрация внутриклеточного кальция превышает $2 \cdot 10^{-6}$ *М* [214]. Из опытов с внутриклеточной перфузией также следует, что большие количества ионов кальция в аксоплазме подавляют активность [215].

Если считать, что длительность деполяризации при наличии трансмембранного потока кальция определяет время, в течение которого происходит заброс кальция в клетку, то, очевидно, величина деполяризации также должна влиять на поступление кальция в клетку или его высвобождение из внутриклеточных запасов. Однако в обычных условиях амплитуда потенциалов действия меняется относительно мало. В физиологических условиях лишь при высокой частоте стимуляции в последовательном ряду потенциалов действия наблюдается падение овершута [67]. Указанные изменения невелики и составляют несколько милливольт. Амплитуда потенциалов действия не меняется при понижении температуры [216]. При некоторых воздействиях падение овершута потенциала действия и максимума сокращений происходит параллельно (например, в растворе с тетродотоксином

[217]); в других случаях уменьшенным потенциалам действия сопутствуют возросшие по силе сокращения (гипонатриевые растворы, строфантин).

Обратная картина — в гипернатриевой среде. Наблюдаемая в некоторых случаях корреляция между величиной деполяризации и силой сокращения еще не свидетельствует о существовании каузальных связей, ибо потенциалам действия с большей амплитудой обычно соответствуют потенциалы с большей длительностью. Опыты с фиксацией напряжения и тока показывают, что регуляция деполяризация — амплитуда сокращений может иногда иметь место в физиологических условиях. На предсердии морской свинки найдено возрастание силы сокращений при увеличении деполяризующего тока даже в тех областях мембранного потенциала, при которых кальциевый ток либо мал, либо равен нулю [207]. По мере увеличения деполяризации сокращение растет, наклон кривой мембранный потенциал — пик напряжения становится круче, но при дальнейшем увеличении деполяризации (выше 0) прирост сократимости уменьшается. Амплитуда сокращений не достигает постоянного уровня даже при мембранном потенциале +50 *мв*. При таком потенциале медленный, внутрь направленный ток падает. Следовательно, рост пика напряжения обусловлен деятельностью какого-то неизвестного механизма. Кривая связи мембранного потенциала с механическим напряжением имеет *S*-образный характер. Наилучшая корреляция наблюдается между кальциевым током и максимальной скоростью укорочения. Так, при мембранном потенциале +10 *мв* кальциевый ток и максимальная скорость укорочения достигают предельных значений, а при дальнейшем увеличении деполяризации они уменьшаются.

Не удивительно, что некоторые авторы находят корреляцию между площадью под кривой потенциала действия и механической активностью миокарда [198, 201, 202]. В основном указанная связь является отражением зависимости сокращения от длительности деполяризации. Однако в желудочке лягушки при постоянной температуре с увеличением частоты сердцебиений площадь под кривой потенциала действия уменьшается (вследствие уменьшения длительности возбуждения), а механическая работа возрастает [218]. Корреляция между площадью под кривой потенциала действия и пиком механического напряжения ухудшается и при изменении концентрации кальция в наружном растворе.

Для выяснения вопроса о связи потенциала действия и сокращения принципиальное значение имеют факты о возникновении сокращений без изменения мембранного потенциала. В этом отношении интересно сообщение [219]. Найдено, что увеличение концентрации кальция в наружном растворе ведет к появлению спонтанных постсокращений в папиллярной мышце морской свинки, причем эти сокращения не связаны с измене-

нием мембранного потенциала. Указанное явление обнаружено нами на желудочке лягушки в аналогичных условиях. Постсокращение в гиперкальциевом растворе может отражать осцилляторное поведение кальцийактивирующей или кальцийинактивирующей системы и пороговый тип ответа в электромеханическом сопряжении. Эти данные не отрицают запускающую роль потенциала действия в развитии сокращения, но свидетельствуют о наличии цепи обратной связи и цепи задержки в электромеханическом сопряжении. Для таких ситуаций предложены многочисленные схемы и дифференциальные уравнения.

Сопоставим данные о корреляции потенциалов действия и сокращений в миокарде и скелетной мышце. В последней удлинение спайка, как и в миокарде, ведет к увеличению сокращений [220]. В миокарде роль начальной деполяризации в электромеханическом сопряжении невелика, поскольку основное поступление (выделение) кальция из тех или иных источников сопряжено с устойчивой деполяризацией и длительность начальной деполяризации несопоставимо мала по сравнению с общей длительностью потенциала действия. Тем не менее при температуре 30° и выше в желудочке лягушки спайкообразным потенциалам сопутствуют улавливаемые сокращения [216].

Никем еще не проведена порционная раскладка поступления (или высвобождения) кальция в разные части потенциала действия. Хотя уже сейчас имеются многочисленные данные о наличии кальциевого тока во время плато потенциала действия [221—234], тем не менее трудно опровергнуть утверждение, что наблюдаемые эффекты связаны с влиянием кальция на проводимость мембраны к другим ионам. Не известно до сих пор, меняются ли чувствительность конечного эффекторного звена к кальцию и механический порог в ходе потенциала действия. Такая возможность вероятна для сердечной мышцы в силу того, что во время возбуждения в клетку поступают ионы натрия, которые являются регуляторами сократимости. Так, если быструю компоненту потенциала действия устранить предварительной деполяризацией хлористым калием (что, как известно, вызывает инактивацию быстрой натриевой регенеративной системы), то сокращения уменьшаются на 30—50% по сравнению с сокращениями, связанными с нормальными потенциалами действия [224]. Можно считать, что соотношение динамики натриевой и кальциевой проводимости и соотношение концентраций ионов натрия и кальция в некоторых участках клетки определяют эффективность деполяризации и вклад основных фаз потенциала действия миокарда в контрактильный ответ.

Для понимания механизма сопряжения электрических и механических событий необходимо привлечь сведения по изучению действия частоты стимуляции на миокард. Принято, что дополнительный вход кальция на каждое сокращение балансируется увеличенным выходом в том же контрактильном цикле, так что

суммарной задержки кальция в клетке нет. В противоположность этому на папиллярной мышце собаки показано [235—237], что имеется задержка кальция на 10—12 *мин* после изменения частоты сердцебиений: кальций локализуется во второй кинетической фазе (саркоплазматический ретикулюм). Постулировано, что движение кальция в саркотубулярной системе контролируется внутриклеточной концентрацией натрия, и влияние последнего на сокращение состоит в уменьшении связывания кальция. Если часть натрия, вошедшего при возбуждении, не в состоянии выкачиваться в течение диастолы вследствие недостаточности насоса, то большее количество кальция будет высвобождаться при следующем возбуждении, давая прирост сокращения. При компенсации функции насоса содержание тканевого кальция возвращается к контрольному уровню. Стабилизация сокращений совпадает во времени со стабилизацией ионных потоков. Когда емкость ретикулюма достигает предела, кальций начинает аккумулироваться в миофибриллах, а в мышце регистрируется контрактура. В тканях, бедных ретикулюмом, места конкуренции кальция и натрия находятся в поверхностной мембране.

Существует и альтернативная гипотеза, согласно которой саркотубулярная мембрана функционирует только как участок связывания и хранения кальция, а высвобождается кальций при возбуждении из других мест. Можно предположить, что кальций высвобождается из сарколеммы, затем смещается в область миофиламентов и связывается ретикулюмом. Связанный кальций в последующем тем или иным способом попадает в интерстициальное пространство. Нет фактов, которые бы прямо противоречили этой гипотезе. Преходящее увеличение количества кальция после увеличения частоты стимуляции локализуется, как и в предыдущей гипотезе, в саркотубулярной системе, но места кальций-натриевой конкуренции перемещаются в поверхностные слои клетки.

Временное накопление кальция должно быть менее выражено в тканях, бедных саркоплазматическим ретикулюмом. Чтобы сделать выбор между двумя гипотезами, нужно проследить корреляцию ионных потоков и функции мышцы сердца различных видов животных, где саркотубулярная сеть развита не одинаково. Так, на миокарде теплокровных показано, что замена кальция на магний, кобальт, никель устраняет способность развивать контрактуру в среде с высоким содержанием калия. Однако на сердце жабы установлено [238], что замена кальция этими катионами не устраняет калиевую контрактуру.

Интересные данные об электромеханическом сопряжении получены с использованием метода фиксации напряжения на мембране с одновременной регистрацией механической активности [239]. При деполяризации —60 *мв* (это пороговый потенциал для натриевого тока) наблюдалось очень малое сокраще-

ние. Дальнейшая деполяризация не изменяет силы сокращений вплоть до потенциала —35 *мв*. С увеличением катодического воздействия отмечается значительный прирост сокращений. Максимальное нарастание было при мембранном потенциале от —30 до 10 *мв*; при +55 *мв* и выше сокращение вновь падает. Следует отметить, что сокращение становится большим лишь при активации медленного внутрь направленного тока. Связь максимума контрактильного ответа с потенциалом на мембране S-образна. Увеличение внеклеточной концентрации кальция сдвигает кривую в область более отрицательных потенциалов так же, как и кальциевый ток. Важно подчеркнуть, что, хотя зависимость сокращений от длительности толчка появляется при активации кальциевого тока, временной ход кальциевого тока и сокращений различны. Время для развития пика сокращений в 10—20 раз больше времени, необходимого для полной активации кальциевого тока.

При деполяризации длительностью до секунды в ответ наблюдается и укорочение, и расслабление. Более длительные толчки приводили к возникновению второго сокращения, которое расслабляется только после снятия деполяризации [240—241]. Последовательные деполяризующие толчки с определенной частотой кальциевый ток не изменяют, тогда как сила сокращений в серии значительно возрастает и достигает стационарного значения на 5—8-м возбуждении. Пороговый потенциал для потенциации совпадает с пороговым потенциалом кальциевого тока. Предположили, что кальций необходим для пополнения внутриклеточных запасов, из которых происходит высвобождение его при последующих деполяризациях [239]. Количество высвобождаемого кальция зависит от заряда, переносимого ионами кальция в течение предшествующего возбуждения.

Для понимания механизмов частотной потенциации важно следующее наблюдение. Если мембранный потенциал между двумя сокращениями поддерживается на уровне покоя (или с гиперполяризацией), то два последовательных сокращения идентичны; если он смещен в сторону деполяризации, амплитуда второго сокращения падает. В безнатриевых растворах сокращения возникают только в ответ на толчок, который активирует кальциевый ток; увеличения механического напряжения при повторных деполяризациях не наблюдается. Вероятно, внутрь направленный вход кальция при деполяризации и выталкивание кальция из клетки определяются количеством кальция во внутриклеточных запасах, из которых происходит его высвобождение. В гипонатриевой среде имеется блокада наружу направленного движения кальция, вследствие чего возрастает его свободная концентрация. В этих условиях внутрь направленный ток кальция может прямо активировать сокращение.

На желудочке собаки порог механической активации —35 *мв*, что совпадает с порогом кальциевого тока (порог натриевого

тока —65 *мв*) [239]. Аналогичные данные получены на морской свинке. Для лягушки-быка порог механической активации (—58 *мв*) почти совпадает с порогом натриевого тока [242, 243]. Такой порог хорошо согласуется с данными, которые получены калийными контрактурами [244]. Порог механической активации и кальциевого тока сдвигаются к большему мембранному потенциалу с увеличением внеклеточной концентрации кальция. Вероятно, избыток кальция подавляет функцию саркоплазматического ретикулюма, ингибирует инотропные эффекты деполяризации, ритмической и парной стимуляции [245—247]. Сердечная мышца млекопитающих в растворе с избытком кальция напоминает поведение сердца лягушки в нормальном растворе. Интересно, что в сердечной мышце млекопитающих поздняя часть потенциала действия не влияет на сократимость [240, 248]. В сердце лягушки-быка пик напряжения достигается при деполяризации большей чем 2 *сек* (что в 2 раза больше длительности потенциала действия). В сердечной мышце млекопитающих деполяризация длительностью более 1 *сек* дает полное расслабление, а дальнейшее удлинение деполяризации приводит к появлению второго поддерживаемого контрактильного ответа, который сильно влияет на последующую сократимость [206]. У холоднокровных подобное явление отсутствует. Расслабление при удерживаемой деполяризации в миокарде холоднокровных происходит медленно.

Вероятно, расслабление между первым и вторым сокращениями у млекопитающих связано с поглощением кальция ретикулюмом [243]. У холоднокровных «первое и второе сокращения» сплавлены вследствие бедности ретикулюмом. Можно предположить, что в сердце млекопитающих деполяризация запускает и высвобождение кальция, и его связывание, а у лягушек расслабление в сердце начинается только после окончания плато потенциала действия.

При использовании очень коротких фиксирующих толчков тока установлено, что время до пика напряжения в этих условиях не меняется, а пик напряжения целиком меняется за счет скорости нарастания напряжения [249]. Однако время до пика напряжения сильно зависело от длительности деполяризации в пределах 50—200 *мсек*. Очевидно, скорость расслабления замедляется, если деполяризация по длительности больше некоторой величины [240]. Исходя из подобных данных предположили наличие трех процессов — сокращения, расслабления и инактивации и трех форм активатора — R (из которой он высвобождается), A (свободный уровень активатора), B (неактивной). Сокращение и расслабление связаны с переходом $R \rightarrow A$ и $A \rightarrow B$, восстановление — с зависимым от потенциала переходом $B \rightarrow A$ [239, 249]. Так как инактивация существует и без сокращения, то возможно, что R-форма переходит в B-форму без предварительного превращения в A-форму.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из приведенного материала ясно, что потенциал действия — не просто триггер в сложной цепи реакций между мембраной и контрактильными белками. В отличие от обычного запускающего устройства параметры потенциала действия в миокарде определяют ход механического напряжения, ибо возбуждение в сердечной мышце определяет количество кальция, поступающего к миофибриллам, а также, вероятно, и чувствительность системы к кальцию. Таким образом, величина деполяризации и ее длительность модулируют события в контрактильном аппарате. Для объяснения более быстрого укорочения потенциала действия по сравнению с укорочением времени нарастания пика напряжения при возрастании частоты стимуляции необходимо считать, что кальциевый включатель является довольно инертным устройством. Вероятно, инерционный этап находится где-то между входом кальция и образованием актомиозина.

Очевидно, решение проблемы электромеханического сопряжения в миокарде связано с выяснением не только вопроса о последовательности реакций, начиная с поверхностной мембраны вплоть до миофибрилл, но и количественных аспектов регулирующей роли потенциалов действия. Особенно важно выяснить указанные аспекты в процессе нормальной связи возбуждения и сокращения, ибо фармакологические вещества (как и ионные воздействия) влияют почти на все звенья этой сложной системы. Общепринято, что скорость сокращения механизма скользящих нитей тесно связана со скоростью расщепления АТФ, что, в свою очередь, определяется концентрацией свободного кальция. Поэтому, по крайней мере в ранние фазы, сокращение можно использовать как измерительное устройство концентрации свободного кальция. Данные, полученные методом фиксации напряжения и при изучении контрактур, показывают, что во время потенциала высвобождение кальция варьирует как мгновенная функция величины деполяризации. Таким образом, «эффективность триггерного действия» во время возбуждения будет нарастать, а затем уменьшаться. Необходимо учитывать, что в миокарде потенциал действия не только запускает и контролирует очередное сокращение, но и определяет уровень клеточного кальция при последующем контрактильном ответе. Количество высвобождаемого кальция зависит от предыстории контрактильной активности и движения кальция во время диастолической паузы, а уровень свободного кальция — от входа кальция во время потенциала действия и предшествующего уровня связанного кальция в местах электромеханического сопряжения. Деактивация, т. е. восстановление исходного уровня кальция, обусловлена связыванием кальция с внутриклеточными мембранами и активным наружу направленным движением его ионов.

Для сердечной мышцы в отличие от скелетной характерен

еще один аспект регулирующей роли потенциалов действия, ибо основное управление сократимостью осуществляется через изменение ритма сердцебиений. Это — собственный контур регулирования, действующий совместно с другими в сложной иерархической системе. Даже будучи изолированным от других звеньев, данный контур может обеспечивать приспособительную деятельность сердца к разным нагрузкам. Влияние ритма сказывается на структуре сокращений через изменение конфигурации фазы плато потенциала действия, и потенциал действия в физиологических условиях выступает в роли непосредственного регулятора сократимости. Сложные гуморальные и нервные влияния, сдвиги физико-химических характеристик внутренней среды в значительной мере опосредуются через потенциал действия, хотя возможно прямое влияние указанных воздействий на исполнительное устройство и промежуточные звенья электромеханического сопряжения.

Считается, что электромеханическое сопряжение имеет однонаправленный характер: потенциал действия — сокращение. Однако установлено [250, 251], что в миокарде существует и механизм обратной связи (влияние контрактильной системы на возбудимую мембрану). Он проявляется во влиянии режима сокращений не только на мгновенное электрическое состояние, но и на электрическую и механическую активность при последующих возбуждениях (потенциалы действия укорачиваются от изотонии к изометрии и удлиняются при обратном переходе). Изменение длины может воздействовать на клеточную геометрию или на мембрану, изменяя ее электрические характеристики. Возможно также, что обратная связь реализуется через изменение внутриклеточной концентрации ионов кальция, которые влияют и на сокращения, и на потенциал действия.

Потенциал действия выполняет различную функцию в сердце теплокровных и холоднокровных животных. Начальный период потенциала действия у млекопитающих (50—80 *мсек*) может служить для запуска высвобождения активатора, а остальная часть (плато) — для восстановления кальциевых запасов в частично истощенных депо. В желудочке лягушки, где внутриклеточные кальциевые депо отсутствуют, начальное высвобождение кальция не регистрируется, а длительность потенциала действия служит параметром, регулирующим движение кальция.

Наша точка зрения сводится к тому, что тип электромеханического сопряжения обусловлен не видом клеток, а их размерами (или степенью развитости контрактильного аппарата). Отсюда вытекает, что в миокарде того или иного вида животного можно встретить несколько типов электромеханической связи:

Тип А — классический замкнутый тип. Поверхностная мембрана играет роль рецептора внешнего раздражения. Электромеханическая связь действует в замкнутом контуре и не требует внешнего кальция, а потенциал действия выполняет роль триг-

гера сокращений. Этот тип наблюдается в клетках с хорошо развитыми внутриклеточными контролирующими системами.

Тип Б — открытый тип. В сопряжении роль внешнего кальция является критической. Наблюдается он в миокардиальных клетках, где внутренние мембранные системы практически отсутствуют и их роль выполняет плазматическая мембрана.

Тип В — промежуточный. Контролирующие системы клетки и внутренние структуры, и плазматическая мембрана. Потенциалы действия здесь — не только запускающее, но и регулирующее звено. Он встречается в большинстве сократительных миокардиальных клеток, особенно в сердце холоднокровных.

Сложность электромеханической связи в сердце обусловлена указанной неоднородностью и взаимоотношениями между двумя системами сопряжения (внешней и внутренней) в тех клетках, где они сочетаются. Миокард различных животных и даже различные отделы миокарда одного животного могут отличаться в зависимости от преобладания того или иного типа электромеханической связи. Заманчиво предположить, что единый тип поверхностной мембраны выполняет разные функции в зависимости от состава внутриклеточной и внеклеточной среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. A. Sandow. Ann. Rev. Physiol., 1970, **32**, 87—138.
2. E. H. Sonnenblick, A. C. Stam. Ann. Rev. Physiol., 1969, **31**, 645—674.
3. S. Ebashi, M. Endo, I. Othsuki. Quart. Rev. Biophys., 1969, **2**, 351—384.
4. H. S. Bennet, K. R. Porter. Am. J. Anat., 1953, **93**, 61—105.
5. K. R. Porter, G. E. Palade. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1957, **3**, 269—300.
6. A. Szent-Györgyi. Studies Inst. Med. Chem. Univ. Szeged., 1942, **2**, 25—26.
7. B. B. Marsh. Biochem. Biophys. Acta, 1952, **9**, 247—260.
8. J. R. Bendall. J. Physiol. (London), 1953, **121**, 232—254.
9. E. Bozler. J. Gen. Physiol., 1954, **38**, 149—159.
10. S. Watanabe. Arch. Biochem. Biophys., 1955, **54**, 559—562.
11. S. Ebashi, F. Lipmann. J. Cell. Biol., 1962, **14**, 389.
12. S. Ebashi, M. Endo. Progr. Biophys. Mol. Biol., 1968, **18**, 123—183.
13. W. Hasselbach. Progr. Biophys., 1964, **14**, 167—192.
14. W. Hasselbach, M. Makinose. Biochemistry of Muscle contraction. Ed. J. Gergely. Boston, 1964, 247—250.
15. W. Hasselbach. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1966, **137**, 1041—1048.
16. A. Martonosi, R. Feretos. J. Biol. Chem., 1964, **233**, 648—658.
17. A. Weber, R. Hertz. J. Biol. Chem., 1963, **238**, 599—605.
18. A. Weber, R. Herz, I. J. Reiss. J. Gen. Physiol., 1963, **46**, 679—702.
19. A. Weber, R. Herz, I. J. Reiss. Biochem. Biophys. Acta, 1967, **131**, 188—194.
20. R. Herz, I. J. Reiss, A. Weber. J. Gen. Physiol., 1963, **46**, 679—702.
21. B. Fanburg, R. Finkel, A. Martonosi. J. Biol. Chem., 1964, **239**, 2298—2306.
22. R. I. Palmer, V. A. Posey. J. Gen. Physiol., 1967, 50, 2085—2095.
23. A. Weber. Current Topics in bioenergetics. Ed. D. R. Sanadi. N.Y., Acad. Press., 1966, 203—254.
24. J. Rostgaard, O. Behnke. J. Ultrast. Res., 1965, **12**, 579—591.

25. A. P. Carvalho. J. Gen. Physiol., 1968, **51**, 427—442.
26. A. P. Carvalho. J. Gen. Physiol., 1968, **52**, 622—642.
27. A. P. Carvalho. J. Cell. Physiol., 1966, **67**, 73—84.
28. S. R. Sampson, R. Karler. J. Cellular. Comp. Physiol., 1963, **62**, 303—309.
29. J. Axelsson, S. Thesleff. Acta Physiol. Scand., 1958, **44**, 55.
30. G. Inesi, S. Ebashi, S. Watanabe. Amer. J. Physiol., 1964, **207**, 1339—1344.
31. M. Legato, A. Langer. J. Cell. Biol., 1969, **41**, 401—423.
32. L. L. Constantin, C. Franzini-Armstrong, R. J. Podolsky. Science, 1965, **147**, 158—160.
33. G. A. Langer, A. Brady. J. Gen. Physiol., 1963, **46**, 703—720.
34. G. A. Langer. J. Mol. Cell. Cardiol., 1970, **1**, 203—207.
35. G. A. Langer. Cardiov. Res. Suppl., 1971, **1**, 71—75.
36. B. Fanburg. Fed. Proc., 1964, **23**, 922—925.
37. B. Fanburg, J. Gergely. J. Biol. Chem., 1965, **240**, 2721—2728.
38. K. S. Lee. Factors influencing myocardial contractility. Ed. R. Tanz, F. Kavaler, J. Roberts. N.Y., Acad. Press., 1967, 363—372.
39. A. Isaacson, A. Sandow. J. Gen. Physiol., 1967, **50**, 2109—2125.
40. F. Fuchs и др. Biochem. Biophys. Acta, 1970, **221**, 407—409.
41. E. W. Gertz, M. L. Hess, R. F. Lain, F. N. Briggs. Circul. Res., 1967, **30**, 477—484.
42. H. Balzer, M. Makinose, W. Hasselbach. Arch. Pharmacol. Exptl. Pathol., 1968, **260**, 444—455.
43. H. Balzer, M. Makinose, W. Friehn, W. Hasselbach. Arch. Pharmacol. Expl. Pathol., 1968, **260**, 456—473.
44. M. E. Carstein. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 1964, **52**, 1456—1462.
45. M. E. Carstein, W. F. Mommaerts. J. Gen. Physiol., 1964, **48**, 138—198.
46. K. S. Lee, H. Ladinsky, S. J. Choi, J. Kasuia. J. Gen. Physiol., 1966, **49**, 689—715.
47. B. Scales, D. A. Mac Intosh. J. Pharmacol. Exp. Therap., 1968, **160**, 249—260.
48. F. N. Briggs. J. Pharmacol., 1958, **124**, 43—46.
49. W. F. Mommaerts, K. Seraydarian, K. Uchida. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1963, **13**, 58—60.
50. A. C. Stam, C. R. Honig. Biochem. Biophys. Acta, 1962, **60**, 259.
51. C. J. Parker, K. K. Berger. Biochem. Biophys. Acta, 1963, **74**, 730—734.
52. C. R. Honig, A. C. Stam, P. E. Mahan. Am. J. Physiol., 1962, **203**, 137—140.
53. W. G. Nayler. Muscle. Ed. W. M. Paul, C. Daniel, M. Kay, G. Monckton. L., 1965, 167—184.
54. В. П. Скулачев. Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи. М., «Наука», 1962.
55. J. D. Judach, K. Ahmed, G. S. Christie, S. McLean. Niochem. Biophys. Acta, 1965, **94**, 452—460.
56. G. W. Engstrom, H. F. De Luca. Biochem. J., 1964, **3**, 279—383.
57. H. F. De Luca, G. W. Engstrom. Proc. Nat. Acad. Sci., 1961, **47**, 1744—1750.
58. B. Chance. Energy-linked fuctions of Mitochondria. Ed. B. Chance. N.Y., Acad. Press, 1963, 253—268.
59. B. Chance. J. Biol. Chem., 1965, **240**, 2729—2747.
60. N. Haugaard, E. S. Haugaard, N. H. Lee, R. S. Horn. Fed. Proc., 1969, **28**, 1657, 1.
61. E. Carafoli. J. Gen. Physiol., 1967, **50**, 1849—1864.
62. G. R. Brierley, E. Nurer, E. Bachmann. Arch. Biochem. Biophys., 1964, **105**, 89—102.
63. A. Weber. Curr. Top. Bioenerg., 1966, **12**, 203—254.
64. P. Patriarca, E. Carafoli. J. Cell Physiol., 1968, **72**, 29.

65. N. S. Dhalla. Arch. Int. Physiol. Biochem., 1969, **77**, 916—934.
66. S. V. Sulakhe, N. S. Dhalla. Mol. Pharmacol., 1970, **6**, 659—666.
67. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков. Физиол. ж., 1969, **55**, 823—832.
68. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков, В. М. Шевелев. Физиол. ж., 1971, **57**, 223—239.
69. P. F. Baker, M. P. Blaustein, A. L. Hodgkin, R. A. Strinhardt. J. Physiol., 1969, **200**, 431—457.
70. A. Katz. Physiol. Rev., 1970, **50**, 63—158.
71. P. C. Caldwell, G. Walster. J. Physiol., 1963, **169**, 353—372.
72. T. Wakabayashi, S. Ebashi. J. Biochem. (Tokio), 1968, **64**, 731—732.
73. D. C. Hellam, R. J. Podolsky. J. Physiol., 1969, **20**, 807—819.
74. H. Portzehl, P. C. Caldwell, J. C. Ruegg. Biochem. Biophys. Acta, 1964, **79**, 581—591.
75. G. R. Mines. J. Physiol., 1913, **46**, 188—235.
76. L. V. Heilbrunn, F. Wiercinski. J. Cell. a. Compar. Physiol., 1947, **29**, 15—32.
77. R. Niedergerke. J. Physiol., 1955, **128**, 12P.
78. S. Ringer. J. Physiol., 1883, **4**, 29.
79. S. Wiedmann. Experientia, 1959, **15**, 128.
80. C. P. Bianchi, A. M. Shanes. J. Gen. Physiol., 1959, **42**, 803—815.
81. A. M. Shanes. Biophysics of Physiological and Pharmacological actions. Ed. A. M. Shanes. Washington, 1961, 309—316.
82. A. M. Shanes. Transfer of calcim and strontium acrocc biological membranes. Ed. R. H. Wasserman. N.Y., 1963, 359—374.
83. A. M. Shanes, C. P. Bianchi. J. Gen. Physiol., 1960, **43**, 481—493.
84. S. Winegrad. Mineral metabolism, v. 3. Ed. C. L. Comar, F. Broner. N. Y., 1969.
85. A. Sandow, H. Preiser. Science, 1964, **146**, 1470—1472.
86. A. V. Hill. Proc. Roy. Soc. B., 1948, **135**, 446—453.
87. A. F. Huxley. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1959, **81**, 446.
88. A. F. Huxley. Proc. Roy. Soc. B., 1964, **160**, 486—488.
89. H. E. Huxley. Nature, 1964, **202**, 1067—1071.
90. A. F. Huxley, R. E. Taylor. J. Physiol., 1958, **144**, 426—453.
91. A. F. Huxley, R. W. Straub. J. Physiol., 1958, **143**, 40—41P.
92. P. W. Gage, R. J. Eisenberg. J. Physiol., 1969, **53**, 298—310.
93. P. W. Gage, R. J. Eisenberg. J. Gen. Physiol., 1969, **53**, 265—278.
94. P. W. Gage, R. J. Eisenberg. Science, 1967, **158**, 1700—1703.
95. R. Eisenberg, P. W. Gage. Science, 1967, **158**, 1700.
96. J. N. Howell. J. Physiol., 1969, **201**, 515—533.
97. G. Niemeyer, W. G. Forssman. J. Cell Biol., 1971, **50**, 288—299.
98. В. Я. Изаков. Статья в наст. сборнике, стр. 4.
99. R. Eisenberg, P. W. Gage. J. Gen. Physiol., 1969, **53**, 279—297.
100. P. Fatt. Proc. Roy. Soc. B., 1964, **159**, 606—651.
101. G. Falk, P. Fatt. Proc. Roy. Soc. B., 1964, **160**, 69—123.
102. R. H. Adrian, W. K. Chandler, A. L. Hodgkin. J. Physiol., 1969, **204**, 207—230.
103. R. H. Adrian, W. K. Chandler, A. L. Hodgkin. J. Physiol., 1970, **208**, 607—644.
104. G. Falk. Biophys. J., 1968, **8**, 608—625.
105. H. Gonzalez-Serratos. J. Physiol., 1966, **185**, 20—21P.
106. H. Gonzalez-Serratos. J. Physiol., 1971, **212**, 777—800.
107. F. Benzanilla, C. Caputo, H. Gonzalez-Serratos, R. A. Venosa. J. Physiol., 1972, **223**, 507—523.
108. Z. Bay, M. C. Goodall, A. Szent-Gyorgyi. Bull. Math. Biophys., 1953, **15**, 1—13.
109. A. Csapo. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1959, **81**, 453—467.
110. A. Csapo, T. Suzuki. J. Gen. Physiol., 1958, **41**, 1083—1098.
111. O. Sten-Knudsen. J. Physiol., 1960, **151**, 363—384.
112. A. Watanabe. Japan J. Physiol., 1958, **8**, 123—137.
113. S. Hagiwara, A. Watanabe. J. Physiol., 1955, **129**, 513—527.

114. R. Natori, C. Isojima. Jikeikai Med. J., 1962, **9**, 1—8.
115. S. Winegrad. J. Gen. Physiol., 1965, **48**, 455.
116. S. Winegrad. Там же, 997—1015.
117. S. Winegrad. J. Gen. Physiol., 1968, **51**, 65—83.
118. S. Winegrad. J. Gen. Physiol., 1970, **55**, 77—88.
119. W. H. Fahrenbach. Science, 1965, **147**, 1308—1310.
120. L. D. Peachey. J. Cell Biol., 1965, **25**, 209—231.
121. L. D. Peachey. J. Cell Biol., 1964, **20**, 95.
122. T. Kanno. Jap. J. Physiol., 1970, **20**, 417—434.
123. C. P. Bianchi. Fed. Proc., 1969, **28**, 1624—1628.
124. F. D. Jobris, M. J. O'Connor. Bioph. Biochem. Res. Communs., 1966, **25**, 246—252.
125. E. B. Ridgway, C. C. Ashley. Bioch. Biophys. Res. Communs., 1967, **29**, 229—234.
126. C. C. Ashley, E. B. Ridgway. J. Physiol., 1969, **200**, 74.
127. C. C. Ashley, E. B. Ridgway. Nature, 1968, **219**, 1168, 1169.
128. C. C. Ashley, E. B. Ridgway. J. Physiol., 1970, **209**, 105—130.
129. C. C. Ashley, E. B. Ridgway. Calcium and cellular function. Ed. A. Cuthbert. London, 1970, 42—53.
130. P. Heinstracher, C. C. Hunt. J. Physiol., 1969, **201**, 613—626.
131. H. C. Lüttgau, H. Oetliker. J. Physiol., 1968, 194, 51—74.
132. G. W. Beeler, H. Reuter. J. Physiol., 1970, **207**, 211—229.
133. L. E. Ford, R. J. Podolsky. Fed. Proc., 1968, **27**, 375.
134. L. E. Ford, R. J. Podolsky. J. Physiol., 1972, **223**, 1—20.
135. L. E. Ford, R. J. Podolsky. Там же, 21—34.
136. K. A. Edman, D. W. Grieve, E. Nilsson. Pflugers. Arch., 1966, **290**, 320—334.
137. A. J. Brady. Ann. Rev. Physiol., 1964, **26**, 341—367.
138. Т. Н. Онианн. Мембрано-миофибриллярные взаимоотношения. Тбилиси, «Мецниереба», 1970.
139. P. Mueller. Helv. Physiol. Pharmacol. Acta, 1966, **24** : C, 106.
140. C. P. Bianchi, A. M. Shanes. J. Gen. Physiol., 1959, **42**, 803—815.
141. C. P. Bianchi. Biophysics of Physiological and Pharmacological actions. Ed. A. Shanes. Washington, 1961, 281.
142. A. L. Hodgkin, R. D. Keynes. J. Physiol., 1957, **138**, 253—281.
143. A. Grossman, R. F. Furchgott. J. Pharmac. Exp. Ther., 1964, **143**, 107.
144. A. Grossman, R. F. Furchgott. Там же, 120.
145. A. Grossman, R. F. Furchgott. Там же, **145**, 162.
146. G. A. Langer, A. J. Brady. J. Gen. Physiol., 1963, **46**, 703—720.
147. R. Niedergerke, S. Page. Pflügers Arch., 1969, **306**, 354—356.
148. R. Niedergerke, S. Page, M. S. Talbot. Pflügers Arch., 1969, **306**, 357—360.
149. R. Niedergerke. J. Physiol., 1963, **167**, 551—580.
150. S. Winegrad, A. M. Shanes. J. Gen. Physiol., 1962, **45**, 371—394.
151. A. Weber, S. Winicur. J. Biol. Chem., 1961, **236**, 3198—3202.
152. W. H. Freigang. Fed. Proc., 1965, **24**, 1135—1140.
153. N. A. Staley, E. S. Benson. J. Cell Biol., 1968, **38**, 99—114.
154. E. Page. Fed. Proc., 1966, **25**, 580.
155. E. Page. J. Ultrastr. Res., 1967, **17**, 73—83.
156. S. Winegrad, A. M. Shanes. J. Gen. Physiol., 1962, **45**, 371—394.
157. G. A. Langer. Circ. Res., 1964, **15**, 393—405.
158. G. A. Langer. Circ. Res., 1965, **17**, 78—91.
159. G. A. Langer. J. Gen. Physiol., 1967, **50**, 1221—1239.
160. G. A. Langer. Factors influencing myocardial contractility. Ed. F. Kavaler, R. Tanz, J. Roberts. N.Y., Acad. Press, 1967, 351—361.
161. M. J. Legato, D. Spiro, G. A. Langer. J. Cell Biol., 1968, **37**, 1—12.
162. L. E. Bailey, P. E. Dresel. J. Gen. Physiol., 1968, **52**, 969—982.
163. L. E. Bailey, S. D. Ong, G. M. Oveen. J. Mol. Cell. Cardiol., 1972, **4**, 121—138.

164. A. L. Hodgkin, P. Horowicz. J. Physiol., 1960, **153**, 370—385.
165. A. L. Hodgkin, P. Horowicz. Там же, 386—403.
166. B. A. Curtis. J. Gen. Physiol., 1964, **47**, 953—964.
167. B. Frankenhaeuser, J. Lännergren. Acta Physiol Scand., 1967, **69**, 242—254.
168. R. H. Adrian, W. H. Freygang. J. Physiol., 1962, **163**, 61—103.
169. R. H. Adrian, M. H. Freygang. J. Physiol., 1962, **163**, 104—114.
170. R. H. Adrian. Progr. Biophys. Mol Biol., 1969, **19**, 339—369.
171. A. V. Hill, J. V. Howarth. Proc. Roy. Soc. B., 1957, **147**, 21—43.
172. J. P. Reuben, P. W. Brandt, H. Garcia, H. Grudfest. Am. J. Zool., 1967, **7**, 623—645.
173. J. Dudel, M. Morad, R. Rüdel. Pflügers. Arch., 1968, **299**, 38—51.
174. J. Dudel. Pflügers Arch., 1970, **320**, 152—167.
175. J. Dudel, R. Rüdel. Pflügers Arch., 1969, **308**, 291—314.
176. S. Hagiwara, K. Takahashi. J. Gen. Physiol., 1967, **50**, 583—601.
177. R. H. Adrian, W. K. Chandler, A. L. Hodgkin. J. Physiol., 1970, **208**, 607—644.
178. H. C. Lüttgau. Electrophysiology of the Heart. Ed. B. Taccardi, G. Marchetti. N.Y., Pergamon Press, 1965, 87—95.
179. H. C. Lüttgau, R. Niedergerke. J. Physiol., 1958, **143**, 486—505.
180. W. Wilbrandt, H. Koller. Helv. Physiol. Pharmac. Acta, 1948, **6**, 208—211.
181. M. Reiter. Proc. Sec. Intern. Pharmacol. Congress, v. 5. Ed. Krayer. Praha, 1964, 25.
182. W. Trautwein, J. Dudel. Pflügers Arch., 1954, **260**, 104—105.
183. P. B. Hollander. Webb Circul. Res., 1955, **3**, 604—612.
184. F. Kavaler. Am. J. Physiol., 1959, **197**, 968—970.
185. A. J. Brady, B. C. Aboot, W. F. Mommaerta. J. Gen. Physiol., 1960, **44**, 415—432.
186. J. Koch-Weser. Am. J. Physiol., 1963, **204**, 451—457.
187. R. Niedergerke. J. Physiol., 1956, **134**, 569—583.
188. В. Я. Изаков. Ритм сердца в норме и патологии. Вильнюс, 1970.
189. Р. С. Орлов, В. М. Шевелев. Бюлл. эксп. биол. мед., 1970, **7**, 3—6.
190. В. М. Шевелев. К изучению механизмов хроноинотропии в клетках миокарда. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1971.
191. Р. С. Орлов, В. М. Шевелев. Докл. АН СССР, 1969, **185**, 221—224.
192. В. Я. Изаков, В. М. Шевелев, Р. В. Гнитько. Физиол. ж., 1971, **57**, 1471—1480.
193. Р. В. Гнитько, В. М. Шевелев, В. Я. Изаков, Р. С. Орлов. Биофизика мембран. Каунас, 1971, 309—317.
194. Р. С. Орлов, Е. Ф. Элик. Бюлл. эксп. биол. мед., 1969, **5**, 3—7.
195. J. R. Blinks, J. Koch-Weser. Pharmac. Rev., 1963, **15**, 531—599.
196. В. Я. Изаков, Е. Ф. Элик. Физиол. ж., 1969, **55**, 713—719.
197. Е. Ф. Элик, В. Я. Изаков. Теоретические проблемы действия низких температур на организм. Л., 1969, 120—123 (ИЭМ).
198. P. Braveny, J. Sûmbera, Krupta. Arch, Int. Physiol., 1966, **74**, 169—178.
199. P. Braveny, J. Sûmbera. Scripta med., 1968, **41**, 241—248.
200. P. Braveny, J. Sûmbera, M. Vitek. Physiol. Bohemoslov., 1969, **18**, 405—411.
201. P. Braveny, J. Sûmbera. Cardiov. Res. Suppl., 1971, **1**, 109—111.
202. P. Braveny, J. Sûmbera. Pflügers Arch., 1970, **319**, 36—48.
203. G. W. Beeler, H. Reuter. J. Physiol., 1970, **207**, 191—209.
204. Б. Гоффман, П. Крейнфилд. Электрофизиология сердца. М., ИЛ, 1962.
205. W. Sleator, R. F. Furchgott, T. deCubareff, K. Krepsi. Am. J. Physiol., 1964, **206**, 270—282.
206. E. H. Wood, R. L. Heppner, S. Weidmann. Circul. Res., 1969, **24**, 409—445.
207. R. Ochi. Pflügers Arch., 1970, **316**, 81—94.

208. A. J. Brady. Physiology of the amphibia. Ed. J. A. Moore. N.Y., 1964, 101—132.
209. P. Cervoni, T. C. West. J. Pharmacol., 1957, **119**, 138—147.
210. Lu Hsin-Hsiang, G. Lange, Ch. Brooks. J. Electrocard., 1968, **1**, 7—17.
211. K. Greenspan, R. E. Edmands, C. Fisch. Circul. Res., 1967, **20**, 311—320.
212. Р. В. Гнитько, В. Я. Изаков. Биофизика мембран. Каунас, 1971, 291—300.
213. Р. В. Гнитько, В. Я. Изаков. Там же, 301—308.
214. S. Hagiwara, K. Nakajima. J. Gen. Physiol., 1964, **48**, 141—162.
215. I. Tasaki, T. Watanabe, T. Takenaka. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 1962, **48**, 117—118.
216. С. М. Руткевич, В. С. Круглов, В. С. Мархасин. Статья в наст. сборнике, стр. 150.
217. В. Я. Изаков. Физиол. ж., 1971, 57, 1471—1480.
218. В. С. Мархасин. Частота стимуляции и медиаторы в регуляции электрической активности клеток миокарда. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1968.
219. H. Reuter, H. Scholz. Pflügers Arch., 1968, **300**, 87—107.
220. A. Sandow, S. Taylor, H. Peiser. Fed. Proc., 1965, **24**, 1116—1123.
221. K. Deck, W. Trautwein. Arch. Ges. Physiol., 1964, **280**, 63—80.
222. J. Dudel, K. Peper, M. Trautwein. Pflügers Arch., 1966, **228**, 262—281.
223. G. Giebisch, S. Weidmann. J. Gen. Physiol., 1971, **57**, 290—296.
224. D. Mascher, K. Peper. Pflügers Arch., 1969, **307**, 190—203.
225. I. Matsubara, K. Matsuda. Jap. J. Physiol., 1969, **19**, 814—823.
226. R. Ochi. Pflügers Arch., 1970, **316**, 81—94.
227. H. Ohshima. Jap. J. Physiol., 1969, **19**, 568—598.
228. A. Paes deCarvalho, B. F. Hoffmann, M. dePaula Carvalho. J. Gen. Physiol., 1969, **54**, 607—636.
229. O. Rougier, G. Vassort, D. Garnier, Y. M. Gargouil, E. Coraboeuf. Pflügers Arch., 1969, **308**, 91—110.
230. O. Rouger, G. Vassort, R. Stämpfli. Pflügers Arch., 1968, **301**, 91—108.
231. A. Paes de Carvalho. Electrolytes and cardiovascular disesis. Ed. J. Bajucz. N.Y., 1970, 55—69.
232. M. Tarr. J. Gen. Physiol., 1971, **58**, 523—543.
233. E. Coraboeuf, G. Vassort. J. Electrocardiology, 1968, **1**, 19—30.
234. A. Besseau, Y. M. Gargoiul. J. Physiol., 1969, **204**, 95—96P.
235. G. A. Langer, A. J. Brady. Circul. Res., 1965, **17**, 78—89.
236. G. A. Langer. J. Gen. Physiol., 1967, **50**, 1221—1239.
237. H. L. Conn, J. C. Wood. Am. J. Physiol., 1959, **197**, 631—636.
238. W. G. Nayler. Am. J. Heart, 1967, **73**, 379—394.
239. G. W. Beeler, H. Reuter. J. Physiol., 1970, **207**, 211—229.
240. M. Morad, W. Trautwein. Pflügers Arch., 1968, **299**, 66—82.
241. H. Reuter, G. W. Beeler. Science, 1969, **163**, 399—401.
242. M. Goto, C. Brooks. Am. J. Physiol., 1970, **218**, 1038—1045.
243. M. Goto, Y. Kimoto, Y. Kato. Jap. J. Physiol., 1971, **21**, 159—174.
244. R. Niedergerke. J. Physiol., 1956, **134**, 584—599.
245. H. Antoni, R. Jacob, R. Kauffmann. Pflügers Arch., 1969, **306**, 33—57.
246. M. Goto, Y. Sakamoto, H. Kawata. Jap. J. Physiol., 1968, 18, 238—255.
247. M. Goto, C. Brooks. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1969, **131**, 1427—1431.
248. H. A. Fozzard, D. C. Hellam. Nature, 1968, **218**, 588—589.
249. W. R. Gibbons, H. A. Fozzard. Circul. Res., 1971, **28**, 446—461.
250. R. L. Kauffmann, R. Hennekes, M. Lab. Nature, 1971, **230**, 150—151.
251. R. L. Kauffmann, M. J. Lab, R. Hennekes, H. Krause. Pflügers Arch., 1971, **324**, 100—123.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР·УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА 1974

С. М. РУТКЕВИЧ

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА РЫБ

В настоящей статье приведены результаты исследований систем регуляции механической деятельности сердца пресноводных костистых рыб. Данные получены в опытах на плотве *Rutilus rutilus lacustris* (Pall.) Исследованы также лещ *Abramis brama,* окунь *Perca fluviatilis,* ерш *Acerina cernua.* При этом не отмечено принципиальных различий в характеристиках регуляторных систем миокарда у этих видов. Поэтому, вероятно, можно считать, что результаты данного исследования могут быть отнесены ко всему подклассу костистых рыб.

Рассмотрим общие принципы регуляции сократимости миокарда и основные звенья этой регулирующей системы (рис. 1). Выходным сигналом является сердечный выброс — количество прокаченной сердцем крови за единицу времени. Входные сигналы — нервные и гуморальные воздействия. Место приложения нервного воздействия — датчик ритма (синусный узел). Для рыб нервное воздействие однополярно — частота датчика ритма может только понижаться из-за слабо развитой симпатической иннервации [1], но в то же время она достаточно высока, что обеспечивает возможность регуляции ритма в значительных пределах и без ускоряющего влияния нервной системы. Гуморальные воздействия имеют более широкую область приложения. Их можно разделить на ионные и медиаторные. Ионные изменения состава крови очень медленные и в основном связаны с сезонными и длительными температурными воздействиями. Концентрации медиаторов могут изменяться достаточно быстро, но в миокарде рыб их вклад в регуляцию незначителен. Мы будем рассматривать каждое звено отдельно, учитывая при этом и его термозависимость.

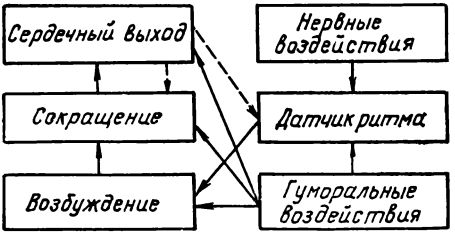


Рис. 1. Общая схема системы регуляции сократимости миокарда.

Опыты проводили в

основном на изолированном миокарде желудочка указанных видов. При исследовании характеристик датчика ритма и оценке связи силы сокращения и сердечного выброса использовалось целое сердце. Во всех случаях в качестве нормального применяли раствор Рингера для холоднокровных, *мМ*: NaCl 140, KCl 5,7; $CaCl_2$ 2,2; $NaHCO_3$ 1,2, состав которого приблизительно соответствует ионному составу крови пресноводных костистых рыб [2—4]. Там, где приводятся средние величины, в качестве ошибки указывается доверительный интервал при вероятности 0,95.

В наших исследованиях была изучена лишь температурная зависимость частоты разряда синусного генератора. При повышении температуры, как и у других животных, период между спонтанными разрядами уменьшается: Q_{10} для диапазона 5—10° С составляет 6,3±0,6; 10—15° — 2,3±0,3; 15—20° — 2,2±0,3. Отметим только, что при 10° типичное значение периода между спонтанными сокращениями составляет около 7 *сек* (частота 9 *мин*$^{-1}$), что примерно соответствует литературным данным по близкому виду — карпу *(Ciprinus carpio)* [5]. Из этой же работы известно, что адреналин урежает ритм, причем при повышении температуры выше 10° этот эффект исчезает.

ХРОНОИНОТРОПНАЯ СИСТЕМА

Эта система включает звенья, опосредующие влияние ритма на силу сокращений, т. е. электрическую активность и электромеханическую связь. Известно, что ритм — основной регулятор сердечной деятельности у всех животных. При этом характеристики хроноинотропии у рыб принципиально отличаются от таковых у других видов холоднокровных, у которых в диапазоне естественных частот сила сокращений растет с повышением частоты и уменьшается только при малых периодах [6—8]. У рыб сила сокращений монотонно увеличивается с ростом периода, т. е. с уменьшением частоты.

Рассмотрим влияние частоты возбуждений на длительность потенциалов действия. Для миокарда рыб, как и для миокарда лягушек [8, 9], эта зависимость имеет вид

$$\tau_{пд}=\tau_0\{1-\exp[-\alpha(T-\tau_{пд})]\}, \qquad (1)$$

где $\tau_{пд}$ — длительность потенциалов действия (ПД), *сек*;
τ_0 — стационарная длительность ПД ($T\to\infty$), *сек*;
α — константа скорости, *сек*$^{-1}$;
T — период стимуляции, *сек*.

Это выражение отличается от формулы Кармелье [10]

$$\tau_{пд}=\tau_0[1-\exp(-\alpha T)] \qquad (2)$$

наличием звена задержки, связанным с тем, что клетка миокарда невозбудима до окончания периода абсолютной рефрактерности, который во времени приблизительно совпадает с потенциа-

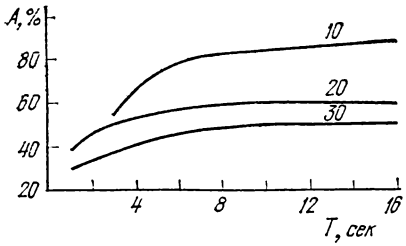


Рис. 2. Амплитудно-частотные характеристики при различных температурах. Цифры на кривых — температура, ° С.

лом действия. Термозависимыми в выражении (1) являются τ_0 и α с Q_{10} для диапазона температур 5—20° соответственно $(2{,}0\pm0{,}2)^{-1}$ и $(2{,}2\pm0{,}5)^{-1}$. Абсолютные величины для 20° составляют: $\alpha=1{,}1\pm0{,}3$ *сек*$^{-1}$, $\tau_0=0{,}45\pm0{,}10$ *сек*. Как видно, вариабельность абсолютных величин здесь также достаточно высока.

Наиболее общей характеристикой звеньев ПД — электромеханическое сопряжение — сокращение являются амплитудно-частотные характеристики (АЧХ), представленные на рис. 2 и описываемые уравнением

$$A(T)=A_0\{1-\exp[-\beta(T-\tau_{пд})]\}, \qquad (3)$$

где $A(T)$ — сила сокращений при данном периоде, *н*;
A_0 — стационарная сила сокращений, *н*;
β — константа скорости, *сек*$^{-1}$.

Оно отличается от (1) лишь константами скорости: β зависит не только от α, но и от быстродействия ЭМС и, следовательно, β должна быть меньше, чем α. Для температуры 20° $\beta=0{,}09\pm0{,}02$, что значительно меньше α $(1{,}1\pm0{,}3)$. Большая разница величин α и β свидетельствует о том, что константа скорости зависимости ЭМС от периода по величине приблизительно равна 1 *сек*$^{-1}$. Температурная зависимость β близка к таковой для α (Q_{10} для β составляет $2{,}5\pm0{,}4$), и, следовательно, быстродействие ЭМС имеет Q_{10} такого же порядка.

Необходимо остановиться также на особенностях переходных процессов при смене ритма. Для миокарда рыб изменение силы сокращений является естественным следствием монотонности АЧХ — переходный процесс монотонен, без выбросов и хорошо аппроксимируется экспоненциальной зависимостью. Температурная зависимость скорости перехода определяется термозависимостями ПД, ЭМС и стационарной сократимости и имеет Q_{10} около 2,0. Стационарная сила сокращений (A_0 в уравнении (3)) уменьшается с ростом температуры ($Q_{10}=0{,}72\pm0{,}03$). Комплек-

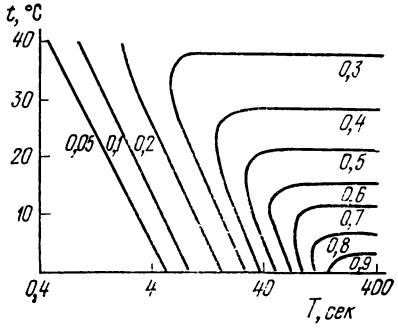


Рис. 3. Фазовый портрет миокарда плотвы. Цифры на кривых — относительный уровень сократимости в зависимости от температуры и периода.

сное влияние температуры и частоты на сократимость дает фазовый портрет (рис. 3), представляющий собой сечения разного уровня зависимости $A(T, t^\circ)$, которая в первом приближении выражается уравнением

$$A_{\text{отн}} = e^{\omega t^\circ} \{1 - \exp[-\beta_0 e^{\varphi t^\circ} (T - \tau')]\},$$

$$\tau' = \tau_0^0 e^{\xi t^\circ} \{1 - \exp[-\alpha_0 e^{\psi t^\circ} (T - \tau_0 e^{\xi t^\circ})]\}, \qquad (4)$$

где $A_{\text{отн}}$ — относительная сила стационарных сокращений $A(t^\circ = 0^0, T \to \infty) = 1$;

β_0 — константа скорости АЧХ при $t^0 = 0^0$, *сек*;

α_0 — константа скорости для $\tau_{\text{пд}}$ при $t^0 = 0^0$, *сек*$^{-1}$;

τ_0^0 — стационарная длительность ПД при $t = 0^0$, *сек*;

φ — константа термозависимости β_0, *град*$^{-1}$;

ψ — константа термозависимости α_0, *град*$^{-1}$;

ξ — константа термозависимости τ_0, *град*$^{-1}$;

ω — константа термозависимости A, *град*$^{-1}$;

t° — температура, °С.

Константы, определяющие температурные зависимости, связаны с соответствующими Q_{10}:

$$\varphi = 0{,}1 \ln Q_{10\varphi}. \qquad (5)$$

Соотношения для ψ, ξ, ω аналогичны. Для миокарда плотвы параметры уравнения (4) следующие: $\alpha_0 = 0{,}25$ *сек*$^{-1}$, $\beta_0 = 0{,}015$ *сек*$^{-1}$, $\varphi = 0{,}092$ *град*$^{-1}$, $\psi = 0{,}078$ *град*$^{-1}$, $\xi = -0{,}069$ *град*$^{-1}$, $\omega = -0{,}031$ *град*$^{-1}$, $\tau_0^0 = 1{,}8$ *сек*.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ НА СОКРАТИМОСТЬ

Из всех ионов, содержащихся в плазме крови в норме, наиболее влияют на сократимость миокарда рыб, как и других животных, ионы кальция и натрия (рис. 4). Влияние кальция описывается уравнением регрессии вида:

$$A_0 = \frac{A_{\text{н}} [\text{Ca}]_0}{K_{\text{м}} + [\text{Ca}]_0}, \qquad (6)$$

где A_0 — сократимость, *н*;

$A_{\text{н}}$ — уровень насыщения сократимости, *н*;

$[\text{Ca}]_0$ — концентрация ионов кальция в растворе, *мМ*;

$K_{\text{м}}$ — константа, *мМ*.

Константа $K_{\text{м}}$ характеризует крутизну кривой и соответствует по размерности и по смыслу константе Михаэлиса-Ментен для ферментативной реакции первого порядка. При температуре 20° $K_{\text{м}} = 1{,}55 \pm 0{,}06$ *мМ*, при 10° $K_{\text{м}} = 0{,}28 \pm 0{,}03$ *мМ*. Большая температурная зависимость $K_{\text{м}}$ $[Q_{10}(10 - 20^\circ) = 5{,}6 \pm 0{,}7]$ объясняется укорочением ПД и, следовательно, уменьшением коэффициента пропорциональности между концентрациями ионов кальция вне и внутри клетки, а также термозависимостью константы Михаэ-

лиса-Ментен для реакции кальций — тропомиозин. Влияние длительности ПД на величину $K_м$ подтверждается также тем, что при укорочении ПД вследствие уменьшения периода стимуляции $K_м$ растет пропорционально изменению длительности (при $t°=20°$, $T=2$ *сек*, длительность ПД составляет приблизительно 0,75 стационарной, а $K_м$ возрастает от 1,55 для стационарных сокращений до 2,1 *мМ*). В то же время уровень насыщения $A_н$ в (6) при изменении как температуры, так и периода меняется незначительно: при 10°, стац. $A_н=0{,}96\pm0{,}02$; при 20°, стац. $A_н=1{,}04\pm0{,}03$; при 20°, 2 *сек* $A_н=1{,}02\pm0{,}05$.

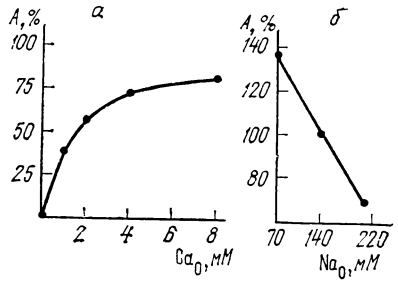


Рис. 4. Зависимость относительной силы стационарных сокращений от внеклеточных концентраций ионов кальция (*а*) и натрия (*б*) при температуре 20° С.

В принципе зависимость (6) справедлива и для других холоднокровных, но там не наблюдается столь высокой гиперболической линейности (для плотвы коэффициент корреляции по (6) для 20° $r>0{,}999$ с $t_r>30$). Это еще раз подтверждает полученные ранее данные о незначительном влиянии $[Ca]_0$ на длительность потенциалов действия [11].

Влияние $[Na]_0$ на сократимость обратно действию кальция — при увеличении $[Na]_0$ сократимость уменьшается. В диапазоне концентраций 70—210 *мМ* эта зависимость достаточно точно выражается прямой

$$A_0=a[Na]_0+b \qquad (7)$$

с параметрами аппроксимации: $r>0{,}98$; $t_r>15$; $a=-(46\pm3)\times\times10^{-4}$ *мМ*$^{-1}$, $b=(167\pm6)\cdot10^{-2}$.

В отличие от лягушки, у которой в диапазоне нормальных концентраций натрия и кальция сила сокращений пропорциональна $[Ca]_0$ $([Na]_0)^{-2}$, у рыб $A_0\sim[Ca]_0([Na]_0)^{-1}$. Это может быть следствием более простой регуляции сократимости у рыб и менее выраженной конкуренции натрий — кальций на клеточных мембранах, что подтверждается отсутствием или незначительным влиянием кумуляции внутриклеточного натрия при последовательных возбуждениях. У лягушки, как известно, при этих условиях наблюдается потенциация сокращений. Все же натрий-кальциевая конкуренция в миокарде рыб достаточно значима, что видно из роста сократимости при снижении $[Na]_0$, тогда как длительность ПД при этом уменьшается [11].

Рассмотрим влияние изменения ионных концентраций на переходные процессы в миокарде. Наиболее простое звено — элементарный следовой процесс после одиночного возбуждения (парная стимуляция). Характеристикой его является зависи-

мость отношения силы второго и первого сокращений от периода парной стимуляции. У рыб эта зависимость сходна с АЧХ (см. рис. 2), но количественно имеет несколько другие параметры.

При вариации $[Na]_o$ в пределах 70—210 *мМ* не обнаружено достоверного изменения характеристик следового процесса. Изменение $[Ca]_o$ значительно влияет на АЧХ и следовые процессы. При повышении уменьшается различие между стационарными уровнями сократимости на разных частотах и сглаживаются переходные процессы. В то же время следовой процесс и постоянная времени переходного процесса меняются немонотонно — при увеличении $[Ca]_o$ скорость их сначала растет, достигает максимума при концентрации около 4 *мМ*, а затем уменьшается. Для следового процесса максимум при 4 *мМ* статистически достоверен ($p>0{,}999$). Аналогично (но, естественно, обратно) влияет на следовые и переходные процессы увеличение концентрации ионов марганца.

ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ РАСТЯЖЕНИЯ НА СОКРАТИМОСТЬ

Основные обратные связи в системе регуляции сократимости миокарда — влияние растяжения сердца на датчик ритма и влияние растяжения на сократимость (закон Старлинга, гетерометрическая регуляция). Нами было исследовано изменение сократимости при вариации начального (диастолического) растяжения от 0,2 до 4 *кн/м²* при различных температурах (рис. 5, *а*). Видно, что при высоких температурах зависимость гиперболическая, а при снижении температуры она искажается при больших растяжениях. Это можно объяснить как следствие перехода лимитирования силы сокращений при увеличении растяжения от количества ионов кальция, попадающих к сократительному аппарату, к числу свободных кальциевых «мест» в нем [12]. При изменении степени растяжения термоинотропная характеристика (рис. 5, *б*) меняется от нормальной (по Аррениусу) при малых растяжениях до экстремальной при больших и неизменной электрической активности [13]. Исходя из оценки максимального диастолического растяжения миокарда плотвы в 200 *н/м²* [12], мы предполагаем, что in vivo термоинотропная характеристика для стационарных сокращений является почти экспоненциальной.

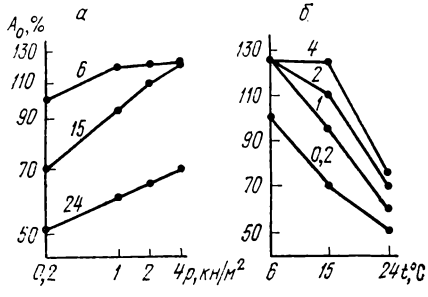


Рис. 5. Зависимость относительной силы стационарных сокращений от температуры и диастолического растяжения (цифры на кривых).

а — зависимость сила — растяжение при различных температурах, *б* — зависимость сила — температура (термоинотропная характеристика) при различном растяжении.

Для оценки температурной зависимости сердечного выхода нами было исследовано влияние температуры на силу и частоту спонтанных сокращений. Как сила сокращений, так и период спонтанной активности с повышением температуры уменьшаются, но «интегральная сократимость» (произведение силы на частоту) имеет максимум при температуре около 10°. Термозависимость сердечного выхода может быть аналогичной в том случае, если ударный выброс пропорционален силе сокращения. Эту пропорциональность искажают в основном два фактора — степень наполнения сердца, определяемая общим объемом крови и периодом стимуляции, и вязкость крови. С понижением температуры вязкость крови значительно возрастает, степень наполнения меняется мало, так как объем крови уменьшается, а период увеличивается. У нас нет прямых данных о температурной зависимости выхода, но экстремальный характер термозависимости «интегральной сократимости» позволяет предположить, что система регуляции осуществляет некоторую компенсацию снижения сердечного выхода при повышении температуры.

Выводы

1. Система регуляции сократимости миокарда у рыб имеет три основных входа, и входными сигналами являются нервные, гуморальные и температурные воздействия. Обратными связями охвачены сократительный аппарат и датчик ритма, характеристика которых зависит от степени наполнения сердца.

2. При изменении температуры происходят сдвиги во всех звеньях системы: с уменьшением температуры увеличивается стационарная сила сокращений, урежается спонтанная ритмическая активность, падает быстродействие всех звеньев, уменьшается глубина обратных связей. Таким образом, скорость работы системы при снижении температуры значительно уменьшается, но выходной сигнал — сердечный выброс изменяется меньше вследствие перекрытия нескольких разнонаправленных процессов. Основной вклад в компенсацию снижения общего выхода системы дает термоинотропное регулирование.

ЛИТЕРАТУРА

1. E. Schramlik. Ergebn. d. Biol., 1935, **11**, 1.
2. C. L. Prosser, W. Mackey, K. Kato. Physiol. Zool., 1970, **43**, 81.
3. D. P. Toews, C. P. Hickman. Comp. Biochem. Physiol., 1969, **29**, 905.
4. C. P. Hickman, R. A. McNabb, J. S. Nelson, E. D. van Breemen, D. Comfort. Can. j. Zool., 1964, **42**, 577.
5. J. Laffont, R. Labat. J. Physiol. (Paris), 1967, **59**, 219.
6. J. Koch-Weser, J. B. Blinks. Pharmacol. Rev., 1963, **15**, 601.
7. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков, А. Т. Кеткин, И. П. Плеханов. Регуляторные механизмы клеток гладкой мускулатуры и миокарда. Л., «Наука», 1971.

8. В. Я. Изаков, С. М. Руткевич, В. С. Круглов, О. А. Жигальский. Экология, 1973, 1.
9. В. Я. Изаков. Исследование электрической активности клеток миокарда. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1968.
10. E. Carmeliet. Arch. Int. Physiol., 1958, **66**, 1.
11. С. М. Руткевич, Р. С. Орлов, Ю. П. Ведерников. Биофизика мембран. Каунас, 1971, 679.
12. С. М. Руткевич. В печати.
13. R. L. Kauffman, M. J. Lab, R. Hennekes, H. Krause. Pflügers Arch., 1971, **324**, 100.

✦✦✦

АКАДЕМИЯ НАУК СССР·УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА 1974

Ю. Л. ПРОЦЕНКО, О. А. ЖИГАЛЬСКИЙ

НЕКОТОРЫЕ ПРОБЛЕМЫ ИЗУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКОГО СОПРЯЖЕНИЯ В МИОКАРДЕ

Для изучения взаимосвязи между потенциалом мембраны и контрактильным ответом применяется несколько методов.

1. Фиксация напряжения на мембране в сахарозном мостике, которая позволяет поддерживать необходимый потенциал с помощью системы с обратной связью. Этот метод применяется для исследования связи возбуждения и сокращения в сердце млекопитающих [1—5] и холоднокровных [6—9]. К его недостаткам относятся большая трудоемкость, а главное, невозможность создания потенциала, равномерно распределенного по длине препарата ввиду сложной геометрии расположения волокон. Подробно метод фиксации напряжения разбирается в работе [10]. С известными ограничениями и неточностями он позволяет создавать достаточно длительные (до нескольких секунд) изменения потенциала мембраны, сопоставлять эти изменения с контрактильным ответом, а также проводить корреляцию между парциальными ионными токами и развиваемым механическим напряжением.

2. Второй метод можно условно назвать «фиксацией тока на мембране» [11—14]. С помощью электрического тока, который задается через сахарозный мостик, изменяется длительность потенциала действия, вызывающая те или иные сдвиги сократимости. Этот метод позволяет лишь качественно проследить взаимосвязь между возбуждением и сокращением и сопоставить длительность потенциала действия с параметрами механического ответа [15—18]. Невозможность точной количественной оценки связана с тем, что деполяризация в этом случае является величиной неуправляемой.

3. Сравнительно недавно разработан новый способ исследования электромеханического сопряжения — изучение контрактильного ответа, вызванного действием на препарат достаточно сильного переменного [19—21] и постоянного [15] тока. Природа возникающего ответа не выяснена. В отношении контрактур, вызываемых переменным током, трудно исключить влияние высвобождения эндогенного ацетилхолина, поскольку контрак-

тура не устраняется предшествующей деполяризацией, которая вызывает блокаду генерации потенциала действия. Исследования с применением данного метода находятся в стадии начальной разработки.

4. Четвертый метод, который успешно применяется для изучения механизма сопряжения возбуждения и сокращения — создание искусственной деполяризации мембраны ионными и фармакологическими воздействиями. Чаще всего используется деполяризация за счет повышения концентрации ионов калия в наружном растворе. Изменения потенциала сопоставляются с возникающими контрактурами. Сдвиги мембранного потенциала легко рассчитываются по формуле Нернста.

Следует подчеркнуть некоторую неестественность этого способа изучения электромеханического сопряжения. Контрактильный ответ не связан с естественным электрогенезом (потенциалом действия), деполяризация развивается относительно медленно, что обусловлено диффузией электролита, и, как будет показано в дальнейшем, сдвиги в электромеханическом сопряжении отличны от таковых, возникающих во время потенциала действия. Медленное развитие деполяризации, вероятно, приводит к инактивации ионных токов, в частности тока ионов натрия, по механизму, исследованному Ходжкиным и Хаксли [22, 23]. Кроме того, может измениться осмотичность и концентрация ионов калия в клетке, когда концентрация их в наружном растворе увеличивается. Число работ с применением подобного подхода на миокарде невелико [24—28]. Контрактуры в ответ на увеличение внеклеточной концентрации калия возникают не во всех отделах миокарда и не у всех животных в нормальных условиях [29]. Однако преимущество поляризации за счет изменения наружной концентрации ионов калия состоит в том, что воздействию подвергаются все волокна препарата и поляризация однородна, а это позволяет изучить механическое напряжение только как функцию мембранного потенциала, тогда как в других случаях механическое напряжение — функция потенциала и времени.

Цель настоящей работы — подробно рассмотреть данные, которые получены методом калиевых контрактур на миокарде в свете современной концепции электромеханического сопряжения. Параллельно рассмотрим случаи возникновения контрактильного ответа, не сопровождающиеся изменением мембранного потенциала. Впервые на одиночных волокнах скелетной мышцы показано, что при деполяризации, создаваемой повышением концентрации ионов калия в наружной среде, развивается контрактильный ответ типа контрактуры, которая спонтанно расслабляется при поддерживаемой деполяризации [30]. Найдена S-образная зависимость максимума механического напряжения от потенциала мембраны (и логарифма наружной концентрации калия). Порог механической активации соответствует потен-

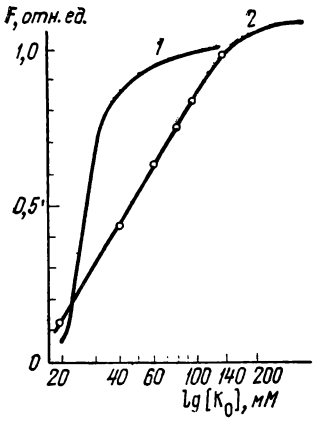


Рис. 1. Зависимость величины механического напряжения калиевой контрактуры от концентрации ионов калия в наружном растворе.
1 — по данным работы [30], *2* — наши данные.

циалу — 55 *мв* и концентрации калия 25 *мМ*. С увеличением деполяризации наблюдается крутое возрастание пика механического напряжения, который достигает насыщения при потенциале —15 *мв*. Аналогичные результаты получены на полосках миокарда желудочка лягушки [24, 26].

В наших экспериментах (рис. 1) на том же объекте показано, что порог механической активации лежит в области 20 *мМ*, при увеличении концентрации ионов калия пик напряжения круто возрастает и достигает максимальной величины при концентрации 200 *мМ*, что соответствует потенциалу —5 *мв*. Дальнейшее увеличение деполяризации приводит к незначительному росту максимума механического ответа, но временной ход контрактуры существенно меняется — через некоторое время после расслабления отмечается дополнительный подъем с очень низкой скоростью нарастания (рис. 2). Обращает на себя внимание фаза расслабления контрактуры — ее длительность тем больше , чем выше степень деполяризации. Отмывание в этой серии экспериментов производилось после окончания расслабления контрактуры. Время между последовательными контрактурами составляло не менее 30 *мин*.

После смены деполяризующего раствора на нормальный начинается электрическая стимуляция препарата. Характерно, что восстановление одиночных сокращений происходит довольно быстро (через 5—7 *мин*), тогда как способность к воспроизведению контрактуры идентичной величины (при той же степени деполяризации) восстанавливается только спустя 30 *мин* после окончания расслабления предшествующей контрактуры. Таким образом, величина одиночных сокращений не может быть критерием восстановления системы, генерирующей контрактуру. Это, вероятно, свидетельствует о существовании двух относительно независимых систем — двух источников кальция, которые обеспечивают сократимость миокарда.

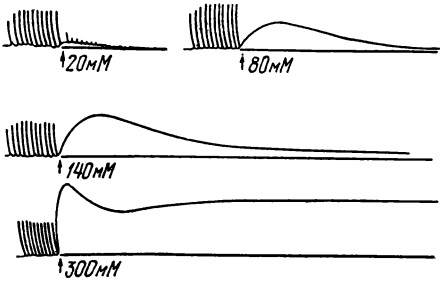


Рис. 2. Временной ход калиевых контрактур в зависимости от концентрации калия. Отметка времени 20 *сек*.

Скорее всего, кальций, необходимый для развития контрактуры, черпается из внутриклеточных мест связывания — назовем это «первым кальциевым пулом». По литературным данным [31, 32], внутриклеточными участками связывания кальция в миокарде холоднокровных является сама сарколеммальная мембрана, а в миокарде теплокровных — дополнительно и саркоплазматический ретикулюм. Этот вывод следует и из работы [1], в которой показана активация трансмембранного кальциевого тока при деполяризации —15 *мв*, т. е. когда достигнут максимум механического напряжения контрактуры. То, что контрактурный ответ существенно не увеличивается при деполяризации выше —15 *мв* (механическое насыщение), свидетельствует об инактивации входящего тока ионов кальция либо вследствие предшествующей деполяризации, либо вследствие участия кальция, связанного с сарколеммальной мембраной, в регуляции трансмембранного потока кальция.

Другая картина электромеханического сопряжения наблюдается при развитии потенциала действия. Источник кальция в этом случае — и первый кальциевый пул, и внеклеточная жидкость (второй кальциевый пул), кальций которой начинает пересекать мембрану при таком потенциале, когда высвобождение его из первого пула при данных условиях максимально. Нашей точке зрения противостоит гипотеза, согласно которой контрактура связана с увеличением кальциевой проницаемости (P_{Ca}) сарколеммальной мембраны [21], одиночные сокращения обусловлены высвобождением (под влиянием потенциала действия) только эндогенного кальция. Эту гипотезу трудно согласовать с данными по фиксации напряжения и наблюдениями, показывающими увеличение входа кальция при ритмической деятельности миокарда [33, 34]. Кроме того, одного внешнего кальция явно недостаточно для инициации сокращений [35].

В отличие от скелетной мышцы, величина и временной ход контрактуры в миокарде зависят от предшествующей частоты стимуляции — с увеличением ее при прочих равных условиях величина механического напряжения возрастает (рис. 3). Если частота сердцебиений, предшествующая контрактуре, невелика, то расслабление последней более медленное (четко выражена фаза плато контрактуры). Крутизна нарастания контрактуры и ее спонтанное расслабление тем больше, чем выше предшествующая частота стимуляции. Зависимость параметров контрактуры от предыстории механической активности позволяет объяснить различия во временном ее ходе [21, 24, 26]. Кроме того, параметры контрактуры (временной ход нарастания и спада) зависят и от скорости перфузии — чем она выше, тем быстрее достигается максимум контрактуры и тем быстрее она расслабляется. Вероятное объяснение этого факта — зависимость параметров контрактур от скорости изменения деполяризации.

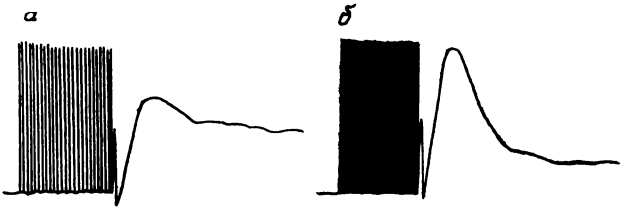


Рис. 3. Временной ход калиевых контрактур после стимуляции различной частотой при концентрации калия 140 *мМ*.

Частота сердцебиений до контрактуры, *сек*$^{-1}$: *а* — 0,1; *б* — 0,4.

Связь параметров контрактуры с предысторией механической активности препарата свидетельствует, с нашей точки зрения, о том, что количество кальция в первом кальциевом пуле определяется трансмембранными потоками его. Возможно, что кальций, поступающий в клетку из второго кальциевого пула, при возбуждении частично расходуется на сокращения, а частично связывается в примембранном слое, пополняя первый кальциевый пул [15]. С другой стороны, проницаемость мембраны, вероятно, зависит от количества и степени связывания кальция в первом кальциевом пуле.

В скелетной мышце при росте внеклеточной концентрации калия скорость развития инактивации увеличивается, в сердечной мышце наоборот — по мере увеличения удерживаемой деполяризации скорость спада контрактуры уменьшается (см. рис. 2). Зависимость амплитуды контрактуры и скорости инактивации от мембранного потенциала дает основание считать, что и высвобождение кальция, и его связывание в некоторых участках клетки — функция мембранного потенциала. Спонтанному расслаблению всегда сопутствует процесс контрактильной рефрактерности, т. е. такое состояние системы, когда она неспособна генерировать контрактуру, идентичную кондиционирующей. Восстановление от предшествующей контрактуры зависит от мембранного потенциала, который задается во время отмывания. Связь между процессом восстановления и мембранным потенциалом S-образна. Причина рефрактерности, вероятно, связана с временным разобщением электромеханического сопряжения.

Сопоставим свойства контрактуры и одиночных сокращений, возникающих в ответ на потенциал действия, чтобы дополнительно доказать ранее выдвинутый тезис о различии источников кальция в этих случаях.

1. Установлено [26], что гиподинамия миокарда не влияет на развитие калиевой контрактуры, тогда как амплитуда одиночных сокращений падает. По наблюдениям Кларка [37], гипо-

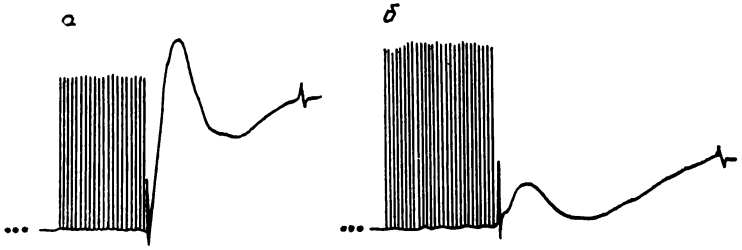


Рис. 4. Влияние атропина на одиночные сокращения и калиевую контрактуру.
а — нормальный раствор, *б* — 10^{-5} *г/мл* атропина.

динамия связана с изменением поверхностной структуры клетки — с вероятной утечкой липидов из сарколеммальной мембраны, так как ее можно обратить добавлением к препарату плазмы или различных мыл. Изменения концентрации натрия и кальция мало влияют на сокращения свежих препаратов, но их эффект четко выражен в гиподинамическом состоянии. Очевидно, чувствительность к коэффициенту Ca/Na_2 связана с определенными участками именно поверхностной мембраны. Это согласуется с предположением [38, 39] о наличии кальций-натриевой конкуренции на поверхности мембраны. Можно считать, что проницаемость для ионов кальция пропорциональна CaR, для ионов натрия — количеству Na_2R.

2. Ацетилхолин подавляет одиночные сокращения, чему соответствует резкое укорочение длительности потенциала действия [40]. С другой стороны, ацетилхолин, вероятно, потенцирует возникновение калийных контрактур. Об этом свидетельствуют наши данные о влиянии атропина на одиночные сокращения и калиевые контрактуры (рис. 4). При прочих равных условиях атропин увеличивает силу одиночных сокращений, но резко подавляет контрактуру. Видимо, ацетилхолин уменьшает кальциевую проницаемость, но облегчает высвобождение кальция из внутриклеточных мест связывания.

3. Наиболее четко разница в генезе одиночных сокращений и калиевых контрактур выявляется в опытах с действием адреналина. Впервые Кавалер и Морад [41] показали, что адреналин (в меньшей степени норадреналин и изопреналин) оказывает два противоположных эффекта на сократимость миокарда — увеличивает силу одиночных сокращений и ослабляет или полностью подавляет контрактуру в ответ на калиевую деполяризацию. Отрицательный инотропный эффект адреналина был обозначен ими как «парадоксальный». Наши данные подтвердили указанное наблюдение.

При введении адреналина на фоне развившейся калиевой контрактуры наблюдается незначительное ускорение расслаб-

ления. Однако контрактура резко падает при введении адреналина до ее развития. Положительный и отрицательный инотропные эффекты развиваются не всегда одновременно, и время их развития определяется частотой стимуляции. Экспозиция в бескалиевом растворе подавляет отрицательный инотропный эффект адреналина, но не влияет на усиливающее действие его в отношении одиночных сокращений. Изучение кривых доза — эффект адреналина для одиночных сокращений и контрактур показывает слабую корреляцию между двумя эффектами адреналина [21]. Увеличение концентрации кальция в наружном растворе ослабляет и положительное, и отрицательное инотропное действие адреналина, хотя корреляция между ними и в этом случае слабая.

Вероятно, положительное инотропное действие адреналина можно объяснить тем, что он увеличивает кальциевую проницаемость и поступление кальция из второго кальциевого пула и одновременно (возможно, несколько позже, ибо поступление адреналина в клетку каким-то образом связано с внеклеточной концентрацией натрия и его движением в клетку) — емкость первого кальциевого пула. Парадоксальный эффект адреналина проявляется в усилении степени связывания кальция. Деполяризация, создаваемая увеличением внеклеточной концентрации калия, в этом случае менее эффективна.

4. Гиперосмотические растворы подавляют одиночные сокращения, но увеличивают амплитуду калиевых контрактур.

5. Строфантин (оубаин) увеличивает амплитуду одиночных сокращений и калиевую контрактуру (рис. 5). Положительный инотропный эффект строфантина, особенно при его высоких концентрациях, переходит в токсический [42]. При этом фаза плато потенциала действия укорачивается [43], а контрактура становится еще больше (рис. 6). Это можно объяснить следующим образом. Строфантин блокирует калий-натриевую АТФ-азу (калий-натриевый насос), в клетке накапливаются ионы натрия [44, 45]. Вероятно, увеличение количества внутриклеточного натрия повышает кальциевую проницаемость по механизму, который был впервые исследован на гигантских аксонах кальмара [46, 47], и пополняет первый кальциевый пул. Как уже указывалось ранее, увеличение в клетке связанного с мембраной кальция ведет в последующем к блокаде кальциевой проницаемости (еще один пример клеточного гомеостатического механизма).

6. Заслуживает внимания влияние растяжения (изменение начальной длины препарата) на одиночные сокращения и контрактуру. Впервые на желудочке лягушки было показано, что в ответ на растяжение увеличивается амплитуда и одиночных сокращений, и контрактур, но прирост выше в контрактурном ответе. В наших экспериментах наблюдалось аналогичное явление. При больших степенях растяжения препарата контр-

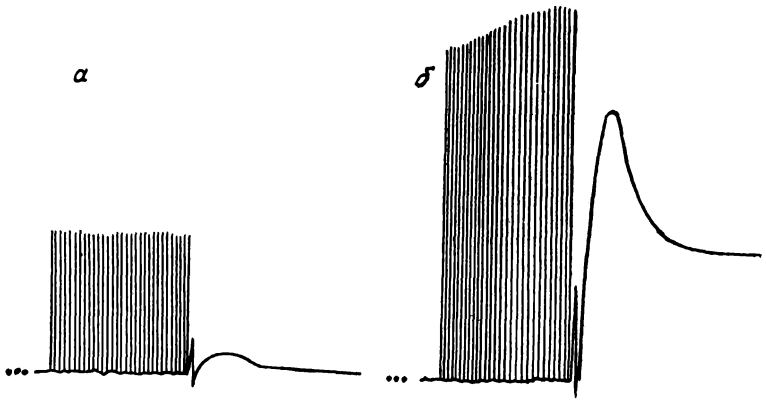


Рис. 5. Действие строфантина на одиночные сокращения и контрактуру.

а — нормальный раствор, *б* — 10^{-5} *г/мл* строфантина.

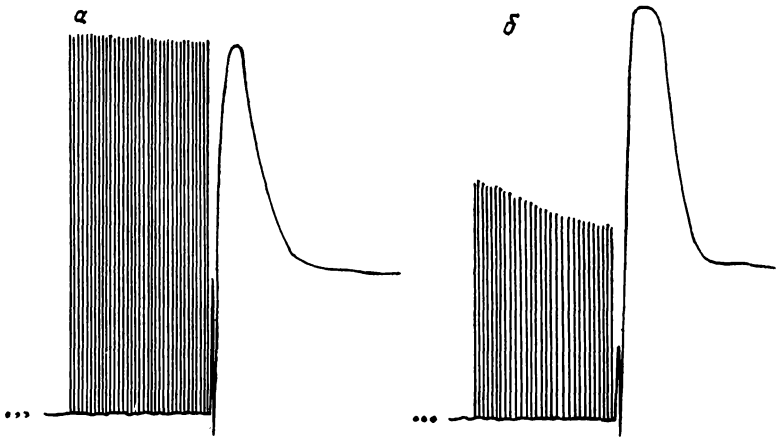


Рис. 6. «Токсический» эффект строфантина (10^{-5} *г/мл*) через 1 (*а*) и 2 *ч* (б) после его введения.

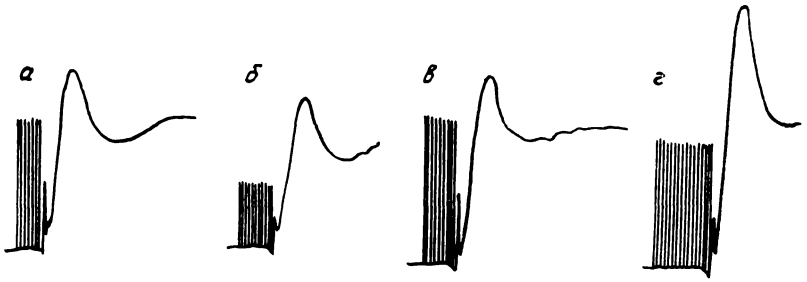


Рис. 7. Влияние последовательной смены вытяжения препарата на сократимость миокарда.

Нагрузка, *мг*: *а* — 200, *б* — 100, *в* — 400, *г* — 200.

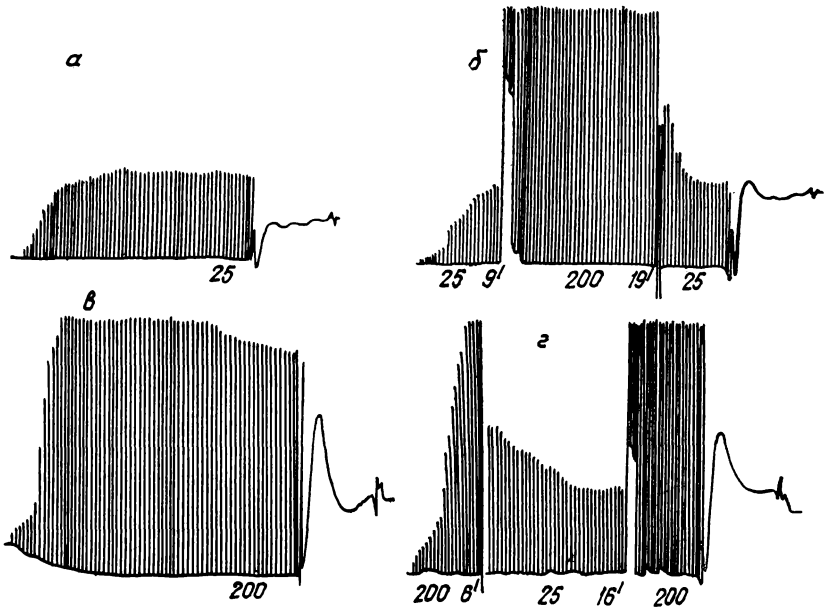


Рис. 8. Влияние «предыстории длины препарата» на сократимость.

Нагрузка, *мг*: *а* — 25, *б* — во время стимуляции дана дополнительная нагрузка 200 *мг* в течение 10 *мин*, *в* — 200, *г* — во время ритмической стимуляции произведено уменьшение нагрузки до 25 *мг* в течение 10 *мин*.

актура нарастает быстрее и расслабляется с большей скоростью (рис. 7). Характерно также, что для проявления влияния растяжения на контрактуру необходимо некоторое время — эффект растяжения тем больше, чем длительнее действует предшествующее растяжение. Стационарный эффект достигается через 20—30 *мин* после начала растяжения, к этому времени амплитуда одиночных сокращений начинает уменьшаться. После возвращения к исходной степени растяжения амплитуда контрактуры по-прежнему в течение 20—30 *мин* выше исходной.

Для подробного изучения влияния предыстории начальной длины препарата на контрактуру мы использовали следующий подход. Перед деполяризацией сердце стимулировалось с частотой 0,2 в секунду в течение 30 *мин*. После записи контрольной контрактуры и полного восстановления сократимости (отсутствие контрактильной рефрактерности) препарат вновь стимулировался с той же частотой, одновременно он дополнительно растягивался грузами (50—400 *мг*) в течение 5—20 *мин*. Не менее чем за 5 *мин* до повышения концентрации калия дополнительная нагрузка снималась и контрактура вызывалась всегда при исходной степени натяжения препарата. Концентрация хлористого калия 140 *мМ*. «Предыстория начальной длины» задавалась как в сторону увеличения, так и в сторону ее уменьшения. Основные результаты представлены на рис. 8. Во всех исследованных препаратах увеличение степени растяжения до контрактуры всегда приводит к росту амплитуды тестирующей контрактуры. Обратная ситуация наблюдается, если в течение некоторого времени перед контрактурой длину препарата кратковременно уменьшать (см. рис. 8, *г*). Не найдено четкой корреляции между временем дополнительного изменения начальной длины и влиянием этой процедуры на амплитуду контрактуры.

Приведенные наблюдения в некоторой степени объясняют механизм явления Франка-Старлинга — рост силы сокращений при увеличении начальной длины сердечной мышцы. Если справедливо наше предположение о связи калиевой контрактуры с высвобождением кальция из внутриклеточного депо, то можно думать, что механическая деформация мембраны изменяет силу связывания кальция в первом кальциевом пуле. Это ведет к большему высвобождению эндогенного кальция в ответ на деполяризацию и в случае потенциала действия, и в случае, когда контрактильный ответ вызывается деполяризацией за счет увеличения концентрации внеклеточного калия.

Судя по нашим данным, механическая деформация сарколеммальной мембраны обладает достаточно длительным последействием, ибо по возвращении длины препарата к исходной, контрактура (и в значительно меньшей степени одиночные сокращения) в течение некоторого времени остается неизменной. Альтернативное объяснение состоит в том, что увеличение

растяжения повышает проницаемость для ионов кальция, а следовательно, с течением времени — и емкость первого кальциевого пула. При переходе от изометрического режима к изотоническому и обратно наблюдается некоторое изменение конфигурации потенциалов действия [48, 49].

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что метод «калиевых контрактур» — простое, удобное и достаточно мощное средство выяснения природы электромеханического сопряжения. Его использование позволяет по-новому взглянуть на источники, из которых кальций поступает к миофиламентам при сокращении. Регуляция в клетке осуществляется сложной гомеостатической системой с многочисленными обратными связями. Представляется, что изучение клеточных механизмов управления сократимости миокарда позволит понять как нервную, так и гуморальную регуляцию деятельности сердца.

ЛИТЕРАТУРА

1. G. W. Beeler, H. Reuter. J. Physiol., 1970, **207**, 211—229.
2. H. A. Fozzard, D. C. Hellam. Nature, 1968, **218**, 588.
3. W. R. Gibbons, H. A. Fozzard. Circul. Res., 1971, **28**, 446—460.
4. M. Morad, W. Trautwein. Pflüg. Arch., 1968, **299**, 4.1, 66.
5. E. Coraboeuf. Cardiovas. Res, suppl., 1971, 1, 55—63.
6. M. Goto, Y. Kimoto. Jap. J. Physiol., 1971, **21**, 159—174.
7. M. Morad, R. K. Orkand. J. Physiol., 1971, **219**, 167—189.
8. D. Mascher. Pflüg. Arch., 1971, **323**, 284—296.
9. G. Vassort, O. Rougier. Pflüg. Arch., 1972, **331**, 191—203.
10. E. A. Johnson, M. Lieberman. Ann. Rev. Physiol., 1971, **33**, 479—532.
11. В. Я. Изаков, Р. В. Гнитько, Р. С. Орлов. Физиол. ж., 1971, **57**, 318—321.
12. Р. В. Гнитько, В. Я. Изаков. Биофизика мембран. Каунас, 1971, 300—308.
13. M. Goto, C. McC. Brooks. Am. J. Physiol., 1969, **217**, 4, 1236—1245.
14. F. Kavaler. Am. J. Physiol., 1959, **197**, 968—970.
15. Р. В. Гнитько, В. Я. Изаков, Р. С. Орлов. Физиол. ж., 1972, **58**, 917—924.
16. H. Ohshima. Jap. J. Physiol., 1969, **19**, 569—598.
17. M. Goto, C. McC. Brooks. Am. J. Physiol., 1970, **218**, 1038—1—45.
18. E. H. Wood, R. L. Heppner, S. Weidmann. Circul. Res., 1969, **24**, 436—445.
19. F. Ito. Jap. J. Physiol., 1970, **20**, 697—710.
20. H. Antoni, J. Töppler, H. Krause. Pflüg. Arch., 1970, **314**, 274—291.
21. J. A. Graham, J. E. Lamb. J. Physiol., 1968, **197**, 2, 479—509.
22. A. L. Hodgkin, A. F. Huxly. J. Physiol., 1952, **116**, 497—506.
23. A. L. Hodgkin. Proc. Roy. Soc., 1958, B. **148**, 1—37.
24. R. Niedergerke. J. Physiol., 1956, **134**, 586—599.
25. W. R. Gibbons, H. A. Fozzard. J. gen. Physiol., 1971, **58**, 483—510.
26. J. F. Lamb, J. A. S. McGuigan. J. Physiol., 966, **186**, 261—283.
27. J. A. Graham, J. F. Lamb. J. Physiol., 1966, **183**, 25—26.
28. J. M. G. Walker, M. Weatherall. J. Physiol., 1963, **166**, 2, 33.
29. M. Morad. Science, 1969, **166**, 505.
30. A. L. Hodgkin, P. Horowicz. J. Physiol., 1960, **153**, 386—493.
31. J. R. Sommer, E. A. Johnson. Am. J. Cardiol., 1970, **25**, 184—194.
32. D. A. Nelson, S. S. Benson. J. Cell. Biol., 1963, **46**, 297—313.
33. R. Niedergerke. J. Physiol., 1957, **138**, 506—515.

34. R. Niedergerke. J. Physiol., 1963, **167**, 3, 551—580.
35. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков. Усп. физиол. наук. 1971, **2**, 4, 3—23.
36. J. Zachar, D. Zacharova. J. Physiol., 1966, **186**, 3, 596—618.
37. A. J. Clark. Comparative physiology of the heart. L., 1927.
38. R. Niedergerke, H. C. Lüttgau. Nature, 1957, **197**, 1066—1067.
39. H. C. Lüttgau. Electrophysiology of the heart. Oxford, 1965, 87—97.
40. В. С. Мархасин. Частота стимуляции и медиаторы в регуляции электрической активности клеток миокарда. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1968.
41. F. Kavaler, M. Morad. Circul. Res., 1966, **18**, 492—501.
42. D. K. Detweiler. Fed. Proc., 1967, **26**, 4, 1119—1124.
43. В. Я. Изаков. Изучение электрической активности миокарда. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1968.
44. J. M. Glynn. Pharmacol. Rev., 1964, **16**, 381—407.
45. Ф. З. Меерсон и др. Механизм кардиотонического действия сердечных гликозидов. М., «Медицина», 1968.
46. P. F. Baker, M. P. Blaustein, A. L. Hodgkin, R. R. Steinhardt. J. Physiol., 1967, **192**, 43—44P.
47. P. F. Baker, M. P. Blaustein. Bioch. Biophys. Acta, 1968, **150**, 167—170.
48. R. L. Kaufman, R. Hennekes, M. J. Lab, H. Krause. Pflüg. Arch., 1971, **324**, 100—123.
49. R. L. Kaufman, R. Hennekes, M. Lab. Nature, 1971, **230**, 13, 150—151.

✦✦✦

АКАДЕМИЯ НАУК СССР·УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА 1974

Р. В. ГНИТЬКО

О ВОЗМОЖНОМ МЕХАНИЗМЕ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА

Исследования электромеханического сопряжения ритмически работающего миокарда позволили прийти к одному положению — параметры потенциалов действия (ПД), особенно в миокарде холоднокровных, определяют количество кальция, поступающего в клетку или высвобождающегося из некоторых внутриклеточных структур. Хотя общие черты электромеханического сопряжения изучены в настоящее время достаточно хорошо, детали функционирования отдельных внутриклеточных контролирующих систем, в особенности сложные ионные взаимоотношения внутри клеток, определяющие высокую лабильность аппарата электромеханического сопряжения миокарда, до сих пор не ясны.

Известно, что инотропные явления в миокарде, возникающие при различных режимах стимуляции, связаны с кумулятивными явлениями, ввиду чего сократимость миокарда зависит от предыстории механической деятельности и может модулироваться от сокращения к сокращению [1, 2]. Однако до сих пор не ясно, участвуют ионы натрия в электромеханическом сопряжении, или их роль заключается только в деполяризации мембраны и генерации ПД. Не ясна сама природа регулирования ПД, особенно при ритмической деятельности миокарда, и как происходит регулирование силы сокращений длительностью ПД. Недостаточно изучены процессы инактивации сократимости при удерживаемой деполяризации, природа следовых процессов и другие явления. Нет даже единого мнения, какой кальций идет на сокращение: наружный, внутренний или оба одновременно.

Исследования проводили на полосках желудочка лягушки на установке [3], позволяющей с помощью упрощенного сахарозного мостика подводить катодные и анодные толчки тока к мембране клеток с одновременной регистрацией их электрической и механической активности. Изучались одиночные сокращения и сокращения при ритмической стимуляции при задании различных режимов фиксации тока.

Наиболее характерный эффект деполяризующих толчков тока, задаваемых во время одиночных ПД,— увеличение амплитуды и длительности сокращений, а иногда и изменение их фор-

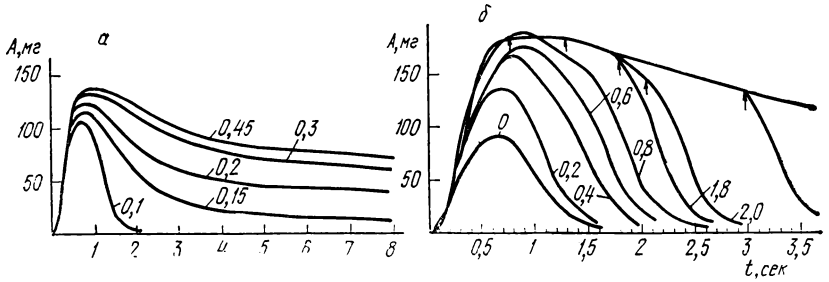


Рис. 1. Суперпозиция контрактильных ответов миокарда при изменении силы (*а*) и длительности (*б*) деполяризующих толчков тока.

Цифры на кривых — значения силы (*ма*) и длительности (*сек*) толчков тока. Стрелками указаны моменты снятия толчков.

мы. Постепенное увеличение длительности деполяризующего тока при постоянной его силе ведет сначала к пропорциональному приросту амплитуды, затем, когда амплитуда сокращений достигнет некоторого уровня, начинается рост длительности сокращений. При длительных деполяризующих толчках тока контрактильный ответ не удерживается на максимуме, наблюдается сначала быстрая, а затем медленная инактивация сокращений. Быстрая фаза инактивации выражена тем меньше, чем больше сила деполяризующего тока (рис. 1, *а*). Кинетика расслабления после снятия деполяризующего толчка не зависит от параметров приложенного воздействия (рис. 1, *б*). Длительность контрактуры определяется длительностью воздействующего импульса.

Гиперполяризующий ток, задаваемый во время сокращений, действует противоположно деполяризующему — подавляет амплитуду сокращений и уменьшает их длительность вплоть до полного исчезновения. Неожиданные явления наблюдались при действии сильного гиперполяризующего тока. Если подавать толчки средней силы без предварительного запускающего стимула, это не приводит к возникновению ПД и сокращений, хотя такой же деполяризующий ток ведет к возникновению сильной контрактуры. При снятии гиперполяризующего тока развиваются обычные анодоразмыкательное возбуждение и сокращение.

Сильный гиперполяризующий ток вызывает контрактильный ответ типа контрактуры (рис. 2), и его кинетика во многом отличается от кинетики деполяризующих контрактур. Во-первых, процесс инактивации развивается очень медленно или отсутствует. Во-вторых, через некоторое время после начала толчка (это время тем меньше, чем больше сила тока) наблюдается дополнительный подъем на кривой сокращения, пропорциональный силе и длительности тока. В-третьих, после снятия тока развивается дополнительная контрактура с очень медленным расслаблением. Амплитуда этой анодоразмыкательной

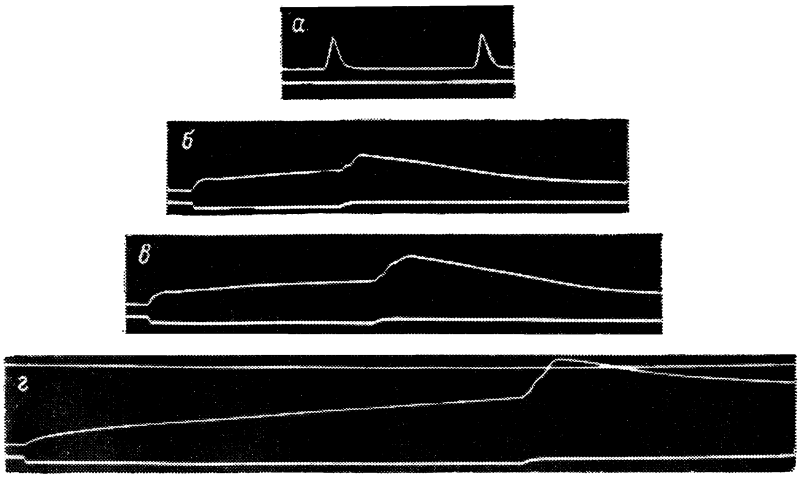


Рис. 2. Контрактильный ответ при действии сильного гиперполяризующего тока.

Длительность гиперполяризации, *сек*. *а* — фон; *б* — 5; *в* — 7,5; *г* — 15.

контрактуры тем выше, чем больше длительность предшествующей гиперполяризации. После спада анодоразмыкательной контрактуры амплитуда одиночных сокращений возвращается к нормальному уровню.

На свежем препарате ток всегда более эффективен по сравнению с полосками, которые несколько часов находились в работе или подвергались длительному воздействию деполяризующих толчков тока. Это вряд ли можно объяснить ухудшением функционального состояния препарата, поскольку амплитуда сокращений после длительного применения деполяризующего тока не только не уменьшается, но и возрастает. Вероятно, снижение эффективности деполяризующего тока со временем может быть связано с уменьшением внутриклеточных запасов кальция, высвобождаемого при деполяризации, либо с адаптивными изменениями в поверхностной мембране, что уменьшает эффективность электромеханического сопряжения. После снятия гиперполяризующего тока чувствительность препарата к действию тока обеих полярностей снижается. Восстановление чувствительности миокарда к деполяризующим толчкам тока происходит очень медленно; гиперполяризующие толчки восстанавливают ее значительно быстрее.

Опыты с одновременной регистрацией электрической и механической активности показали, что положительное инотропное действие деполяризующего тока всегда сопровождается удлинением фазы плато ПД (рис. 3). После прекращения его действия кинетика фазы быстрой конечной реполяризации не отличается

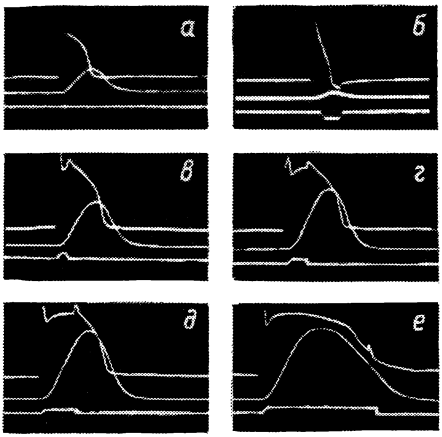


Рис. 3. ПД и сокращения при действии деполяризующих и гиперполяризующих толчков тока.

Сверху вниз — кривые ПД, сокращения, отметка тока (деполяризующий ток — отклонения вверх, гиперполяризующий — вниз).

а — фон; *б* — гиперполяризующий ток, 0,3 *сек*; *в, г, д, е* — деполяризующий ток длительностью соответственно 0,2; 0,4; 0,6; 1,8 *сек*.

от кинетики этой фазы без тока. Как видно из рис. 3, гиперполяризующий ток укорачивает ПД за счет уменьшения длительности фазы плато, форма конечной быстрой реполяризации при этом не меняется. Связь длительности ПД с длительностью фиксирующего тока нелинейна.

Положительный инотропный эффект деполяризующего тока тем ниже, чем дальше фиксирующий импульс расположен от фазы быстрой деполяризации. С увеличением времени привязки фиксирующий импульс вызывает внеочередную генерацию ПД и появление второго сокращения. Чувствительность к гиперполяризующим толчкам тока также выше, если они задаются в начальную фазу ПД. Подавление ПД и сокращение выражены значительно сильнее, если время привязки составляет 0,1 *сек*, при 0,4 *сек* подавления сокращений не наблюдается. Если гиперполяризующие толчки тока прикладывать в период быстрой реполяризации, возникает новое возбуждение и сокращение.

Характер взаимосвязи между длительностью толчков тока и ПД, а также между длительностью толчков тока и амплиту-

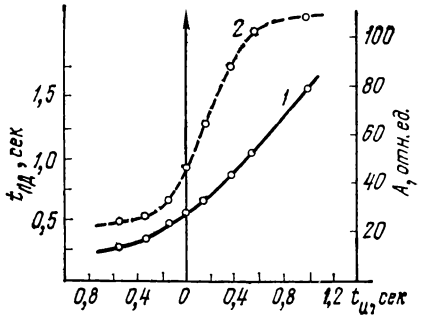


Рис. 4. Зависимость длительности ПД (*1*) и амплитуды сокращений (*2*) от длительности толчков тока (справа от нуля — деполяризация, слева — гиперполяризация).

дой сокращения показан на рис. 4. Видно, что кривые несимметричны по отношению к деполяризующему и гиперполяризующему току, а кривая *2* имеет S-образный вид, т. е. при некоторой длительности толчка сокращение достигает максимального для данных условий уровня. С увеличением силы толчков возрастает крутизна линейного участка, а также расширяется диапазон линейности. Большему значению фиксирующего тока при одной и той же длительности соответствует больший прирост амплитуды сокращения и длительности ПД.

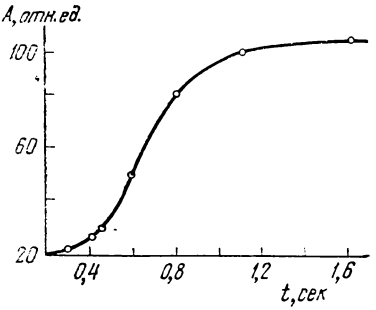


Рис. 5. Зависимость максимальной амплитуды сокращений от длительности ПД.

Зависимость амплитуды сокращения миокарда от длительности ПД (рис. 5) линейна только при «естественных» длительностях ПД (0,45—0,85 *сек*). Это указывает на то, что длительность удерживаемой деполяризации — важный фактор, определяющий сократимость миокарда, ибо ПД существенно изменяется при вариациях ритма сердцебиений. Можно считать, что сократимость миокарда при различных ритмах сердцебиений регулируется через изменение длительности ПД. Приведенные данные еще раз подтверждают, что в миокарде ПД — не только триггер для возникновения сокращений, но и их регулятор. ПД действуют на сокращения, вероятно, через количество ионов натрия и кальция, которые поступают в клетку при возбуждении из внеклеточной жидкости и (или) высвобождаются из мест хранения внутри клетки (для миокарда лягушки, вероятней всего, из мест связывания у внутренней поверхности мембраны).

При ритмической стимуляции, как и в случае одиночных сокращений, деполяризующие толчки тока небольшой длительно-

Рис. 6. Зависимость переходных процессов амплитуды сокращений при различных частотах стимуляции и режимах фиксации (цифры на кривых). Сила тока 0,8 *ма*.

Период стимуляции, *сек*: *а* — 5; *б* — 2,5; *в* — 1,6; *1*, *2* — деполяризующий, *3* — ток отсутствует, *4* — гиперполяризующий.

сти увеличивают амплитуду сокращений, гиперполяризующие устойчиво подавляют ее. При возрастании длительности толчков деполяризующего тока сначала растет амплитуда сокращений, а затем изменяется и их форма (увеличивается длительность). Толчки тока, прикладываемые синхронно с импульсами стимуляции, изменяют ход переходных характеристик. Характерной лестницы Боудича, которую мы привыкли видеть в ряду сокращений в нормальном растворе Рингера, здесь не наблюдается (рис. 6).

При деполяризующих толчках тока амплитуда сокращений в первом импульсе максимальна, затем постепенно падает и стремится к характерному для каждой частоты стимуляции значению. При редкой стимуляции (5÷10 *сек*) и небольших значениях фиксирующего тока (0,2 *ма*, 0,4 *сек*) процесс падения сокращений в ритмическом ряду выражен слабо. Амплитуда сокращений в этом случае может быть значительно больше исходной. Повышение частоты стимуляции, увеличение силы или длительности фиксирующего тока усиливает этот процесс.

Под действием гиперполяризующих толчков тока сила установившихся значений сокращений падает. Вместо положительной лестницы Боудича может наблюдаться отрицательная. Изменения сократимости выражены сильнее, если ритмическую стимуляцию производить на фоне постоянного гиперполяризующего или деполяризующего тока. Падение сокращений при деполяризующем токе может быть настолько сильным, что установившееся значение сокращений может становиться ниже исходных (в отсутствие тока) или даже ниже амплитуды при гиперполяризующем токе.

Следовательно, деполяризующий ток оказывает два эффекта: вызывает дополнительное увеличение амплитуды текущих сокращений и ведет к дополнительному снижению амплитуды последующих сокращений. Процесс «утомления» выражен тем сильнее, чем больше длительность и сила деполяризующих толчков. Инактивация в контрактурах с увеличением степени деполяризации уменьшается в то время, как утомление в ритмическом ряду на фоне контрактуры увеличивается. Вероятно, наличие деполяризации во время диастолы тормозит процессы восстановления ионного равновесия, характерного для исходного состояния. Уменьшение длительности диастолы, наблюдаемое при повышении частоты стимуляции, приводит к аналогичному явлению.

После снятия постоянного гиперполяризующего тока сокращения резко возрастают, причем абсолютная величина первых сокращений может быть выше установившегося значения фоновых. Если стимуляция миокарда продолжается, амплитуда сокращений постепенно приходит к исходному уровню. Постоянный деполяризующий ток вызывает, как уже было показано, увеличение силы сокращений выше фоновых, а затем постепен-

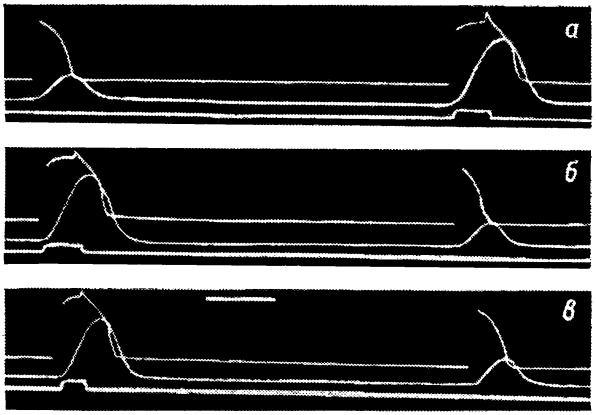


Рис. 7. Эффекты последействия деполяризующего тока. Верхние кривые — ПД, средние — сокращения, нижние — отметка деполяризующих толчков. Калибровка амплитуды 100 *мв*.

Длительность импульсов, *сек*: *а*, *б* — 0,4; *в* — 0,2.

ное их падение. Чем больше длительность постоянного удерживаемого тока, тем сильнее утомление сокращений. При снятии тока амплитуда сокращений сначала снижается, затем очень медленно возвращается к исходному уровню (установившемуся уровню фоновых сокращений). Процессы восстановления в зависимости от длительности и силы деполяризующего тока могут протекать от десятков секунд до нескольких минут. Чем больше величина деполяризующего тока, тем процесс утомления сокращений и эффекты последействия выражены сильнее. Процессы подавления и (или) активации сокращений после снятия тока носят выраженный кумулятивный характер.

Эффекты последействия фиксирующего тока очень тесно связаны с изменением длительности ПД (рис. 7). Опыт ставился таким образом, что на постоянной частоте производилось периодическое раздражение препарата. В первом ПД деполяризующий толчок тока не прикладывался, а затем в течение нескольких (5—10) импульсов к препарату, наряду с импульсами раздражения, подавались короткие импульсы, деполяризующие мембрану. После снятия фиксирующего тока регистрировался тестирующий ПД и сокращение. Из рис. 7 видно, что длительность ПД наряду с амплитудой сокращений становится значительно меньше фоновых. При большей длительности толчков тока эффект сужения ПД после снятия поляризации выражен сильнее (рис. 7, *в*).

В работах [4, 5] выдвинуто предположение, что фазу плато ПД можно объяснить наличием дополнительного сопротивле-

ния, которое включается в калиевом канале при деполяризации. Высокая чувствительность этого сопротивления к ингибиторам метаболизма, строфантину, изменению температуры, а также к увеличению частоты следования раздражающих стимулов — косвенное доказательство метаболической природы данного явления. Иными словами, длительность ПД определяется скоростью работы натриевого насоса (К — Na — АТФ-азы). Предполагалось, что электрогенное выталкивание натрия во время ПД доводит мембранный потенциал до критического уровня, при котором начинается регенеративный процесс реполяризации (чем быстрее работает натриевый насос, тем у́же ПД). Рядом авторов [6—10] показано, что скорость работы этой ферментной системы — функция внутриклеточной концентрации натрия и кальция. Увеличение содержания натрия в цитоплазме активирует К — Na — АТФ-азу, кальция — блокирует ее. Видимо, вход натрия во время регенеративной деполяризации мембраны активирует К — Na — АТФ-азу и определяет скорость и длительность реполяризации во время фазы плато.

На основе приведенных данных можно полагать, что в регуляции длительности ПД участвуют ионы кальция. Однако после сокращения их концентрация мала, и влияние свободных ионов кальция на последующие ПД должно сказываться лишь при достаточно малых периодах стимуляции. Таким образом, при естественном электрогенезе примембранные концентрации ионов натрия и кальция могут быть регуляторами длительности ПД. Деполяризующие толчки тока смещают мембранный потенциал так, что уровень, с которого начинается электрогенное выталкивание натрия, повышается, а уровень срабатывания регенеративной деполяризации остается постоянным. Это должно увеличивать длительность ПД.

Как было нами показано, даже кратковременные толчки деполяризующего тока, прикладываемые во время начальной части фазы плато, способны удлинять ПД. Это можно объяснить тем, что смещение потенциалов мембраны в сторону натриевого равновесного потенциала уменьшает количество входящих ионов натрия и создает в клетке относительный (по отношению к ПД без тока) дефицит натрия. Это замедляет скорость работы К — Na — АТФ-азы и удлиняет ПД. Конечная регенеративная фаза реполяризации не зависит от того, прикладывался ток или нет. При действии гиперполяризующих толчков тока, прикладываемых во время ПД, уменьшение потенциала ускоряет наступление регенеративной реполяризации и суживает ПД. Приведенные рассуждения объясняют регулирование длительности ПД. Как же регулируется сократимость миокарда при действии тока?

Как известно, повышение механического напряжения при действии деполяризующих толчков тока связано с увеличенным

входом ионов кальция из внеклеточной среды и (или) высвобождением их из некоторых внутриклеточных мест связывания — это может быть саркоплазматический ретикулюм и сарколемма [11]. Для желудочка лягушки, где имеются лишь рудименты саркоплазматического ретикулюма, основной внутриклеточный кальций, по-видимому, находится в субсарколеммальном депо в виде некоторого комплекса CaR (R^{--} — обратимо связывает не только кальций, но и другие катионы [12, 13]). Основной постулат, который мы принимаем, состоит в следующем. При естественном электрогенезе входящие ионы кальция частично идут непосредственно к миофиламентам, а частично связываются с рецептором R^{--} у внутренней поверхности мембраны. Высвобождение кальция при деполяризации определяется концентрацией ионов натрия у мест связывания кальция. При недостатке натрия комплекс CaR диссоциирует хуже, при наличии натрия (и одновременной деполяризации) высвобождение кальция из комплекса облегчается.

Деполяризующий ток, увеличивая длительность ПД, способствует входу кальция из внеклеточной жидкости за счет большего времени открытия кальциевого канала. Одновременно повышается высвобождение внутриклеточного кальция. Этому способствуют входящие ионы натрия — посредством конкуренции или через изменение константы связывания кальция и смещения реакции в сторону распада комплекса CaR. Однако при длительном действии деполяризующего тока соотношение Ca/Na смещается в сторону кальция и входящий внутрь Na становится неэффективным.

Гиперполяризующий ток вызывает противоположные сдвиги в системе электромиофибриллярной связи. Если ток прикладывается во время ПД, то его действие на сокращения можно объяснить укорочением длительности ПД, а следовательно, и меньшим забросом в клетку ионов натрия и кальция (или меньшим высвобождением кальция). С другой стороны, он может увеличивать кальцийпоглощающую емкость внутриклеточных мест связывания; при этом меньше кальция высвободится из мест хранения и больше входящего кальция свяжется с соответствующим рецептором у внутренней поверхности мембраны. Данный вывод вытекает из того, что после прекращения действия гиперполяризации ритмические сокращения миокарда в течение некоторого времени больше нормальных.

Повышенную чувствительность миокарда к действию толчков тока, прикладываемых в начальную часть ПД, можно объяснить изменением сопротивления мембраны во времени.

Дача гиперполяризующего тока без предварительного запускающего стимула (т. е. когда ПД не развивается) увеличивает электродвижущую силу для ионов натрия и кальция. При достаточно сильном токе возникает как бы «пробой» мембраны, и ионы кальция поступают в клетку. Большая часть входящего

кальция связывается у внутренней поверхности мембраны, другая поступает к миофиламентам, вызывая контрактуру. Снятие высвобождает избыток кальция, связанного с рецептором, что объясняет анодоразмыкательную контрактуру с ее относительно медленной инактивацией.

Отсутствие инактивации и даже некоторое нарастание контрактуры при сильном гиперполяризующем токе объясняется тем, что в клетку во время «пробоя» входят только ионы кальция. Здесь, по-видимому, как и в случае деполяризующего тока, по мере накопления комплекса вход кальция в клетку инактивируется. Поскольку фактор, выталкивающий кальций из клетки, в этом случае отсутствует, инактивации сокращений не наблюдается. Об этом же свидетельствует уменьшение длительности ПД и повышение амплитуды ритмических сокращений при снятии гиперполяризующего напряжения. Данные, полученные при ритмической стимуляции, показывают, что в регулировании сократимости миокарда участвуют два фактора. С одной стороны, сила сокращений регулируется через изменение длительности ПД, которое в свою очередь зависит от содержания ионов натрия и комплекса CaR в примембранном слое. С другой стороны, имеют место потенциация и инактивация сокращений при неизменной длительности ПД.

Известно, что накопление натрия внутри клетки активирует вход кальция во время возбуждения [14—17]. Этим можно объяснить потенциацию сокращений в ритмическом ряду. Кроме того, как мы отмечали, натрий может обеспечить высвобождение кальция из комплекса CaR за счет конкуренции при очередном возбуждении. Активацию сокращений можно объяснить, если принять во внимание, что входящий кальций частично поглощается рецептором R^{--} у поверхности мембраны и не достигает миофиламентов. По мере заполнения рецептора R^{--} ионами кальция и натрия, входящими при возбуждении, все большая часть ионов кальция будет достигать миофиламентов, вызывая потенциацию сокращений. Таким образом, потенциация сокращений (лестница Боудича) при ритмической стимуляции миокарда после некоторого периода покоя объясняется динамикой накопления Ca^{++} и натрия в примембранном слое. Накопление комплекса CaR должно уменьшать вход кальция в клетку и инактивацию сокращений при повышенных частотах сердцебиений.

Так как после прекращения действия деполяризующих толчков тока длительность ПД становится значительно меньше фоновых, можно полагать, что комплекс CaR непосредственно уменьшает длительность ПД. Такой механизм регуляции сократимости ритмически работающего миокарда хорошо согласуется с данными целого ряда авторов [17—19]. Так, повышенная концентрация ионов кальция в растворе [17] снимает эффект лестницы Боудича в миокарде, а в опытах с фиксацией напря-

жения [18, 19] показано, что пороговый потенциал для потенциации сокращений совпадает с пороговым потенциалом кальциевого тока. При последовательных деполяризующих толчках с определенной частотой кальциевый ток остается постоянным, а сила сокращений в серии нарастает и достигает стационарного значения на 5—8-м возбуждении. Этими же авторами обнаружено, что, если мембранный потенциал между двумя сокращениями поддерживается на уровне покоя (или с гиперполяризацией), то два последовательных сокращения идентичны. Когда мембранный потенциал между двумя сокращениями смещен в сторону деполяризации, амплитуда второго сокращения падает. По-видимому, механизм облегчения сокращений более сложен, чем просто потеря кальция из клетки в состоянии покоя.

Таким образом, электромеханическое сопряжение в миокарде осуществляется следующим образом. Кальций наружной среды проходит через плазматическую мембрану и входит в клетку. Некоторая его часть диффундирует к миофиламентам, а другая связывается у внутренней поверхности мембраны рецептором, который обладает способностью связывать и другие катионы, в особенности натрий. При наличии кальций-натриевой конкуренции в этих участках входящий ион натрия будет высвобождать кальций из мест связывания и давать свой вклад в сокращение. Кроме того, деполяризация может прямо высвобождать кальций из внутриклеточных мест связывания, изменяя, например, константы связывания или распада комплекса кальций — рецептор за счет конформационных сдвигов в молекулах рецептора. Деполяризующий ток, действующий во время ПД, увеличивает поступление внешнего кальция через увеличение длительности поддерживаемой деполяризации, а увеличенный вход ионов натрия способствует высвобождению кальция из внутриклеточных мест хранения, как бы забивая кальцийпоглощающие рецепторы.

При ритмической стимуляции после завершения одиночного цикла возбуждения внутриклеточные концентрации ионов, их соотношение, а также пропорция CaR — NaR не возвращаются к своему исходному состоянию. Именно эти сдвиги обусловливают сдвиги в ПД и сократимости при последующих возбуждениях. Значительные постэффекты деполяризующего и геперполяризующего токов, а также то, что таковое последействие проявляется уже после однократного приложения толчка тока, свидетельствует о высокой лабильности внутриклеточных ионных взаимоотношений.

Основные положения электромеханического сопряжения ритмически работающего миокарда, описанные в данной статье, были проверены на математической модели при помощи ЦВМ М-20 и аналоговой моделирующей установке МН-10М. Исследования показали, что модель достаточно хорошо воспроизводит большинство хроноинотропных явлений в миокарде. Таким об-

разом, хроноинотропные явления могут быть обусловлены скоростью накопления и рассасывания свободных ионов натрия и кальция в миоплазме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков, В. М. Шевелев. Физиол. ж., 1971, **57**, 223.
2. J. R. Blinks, J. J. Koch-Weser. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1961, **134**, 373.
3. Р. В. Гнитько. Анализ механизмов регуляции электрической и механической активности миокарда методом фиксации тока на мембране. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1972.
4. В. Я. Изаков. Исследование электрической активности клеток миокарда. Авторефер. канд. дисс. Свердловск, 1967.
5. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков. Физиол. ж., 1969, **55**, 823.
6. P. F. Baker, C. M. Connelly. J. Physiol., 1966, **185**, 270.
7. E. E. Bittar. J. Physiol., 1966, **187**, 81.
8. L. J. Opit, J. S. Charnock. Nature, 1965, **208**, 471.
9. H. A. Fozzard. Science, 1967, **156**, 1257.
10. A. Frumento. J. Theoret. Biol. 1965, 2, 253—262.
11. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков. Успехи физиол. наук, 1971, **2**, 3.
12. R. F. Palmer, V. P. Kavalich. Fed. Proc., 1966, **25**, 349.
13. R. F. Palmer, V. A. Possey. J. Gen. Physiol., 1967, **50**, 2085.
14. P. F. Baker. J. Gen. Physiol., 1968, **51**, 172.
15. P. F. Baker, M. P. Blaustein, A. L. Hodgkin, R. R. Steinhardt. J. Physiol., 1967, **192**, 43P.
16. H. Reuter, N. Seitz. J. Physiol., 1968, **195**, 451.
17. R. Niedergerce. J. Physiol., 1956, **134**, 569.
18. G. W. Beeler, H. Reuter. J. Physiol., 1970, **207**, 191.
19. G. W. Beeler, H. Reuter. Там же, 211.

✦✦✦

АКАДЕМИЯ НАУК СССР·УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА 1974

В. М. ШЕВЕЛЕВ, Р. В. ГНИТЬКО

О РОЛИ ИОНОВ НАТРИЯ В РЕГУЛЯЦИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ И МЕХАНИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК РИТМИЧЕСКИ РАБОТАЮЩЕГО МИОКАРДА

Для осуществления нормального сокращения необходимо наличие в омывающем растворе ионов калия, натрия и кальция [1]. В дальнейших исследованиях было показано, что повышение концентрации ионов натрия в наружной среде уменьшает амплитуду сокращений [2]. При высоком содержании их в омывающем растворе наблюдается диссоциация процессов электрической и сократительной активности — на фоне полностью сохраненной электрической активности сократительный ответ миокарда на стимуляцию полностью отсутствует [3]; уменьшение содержания натрия усиливает сократительную активность миокарда [4—6].

Согласно наиболее распространенной точке зрения, внеклеточный натрий реализует свое действие посредством ионов кальция ввиду наличия кальций-натриевой конкуренции на наружной поверхности мембраны [7—9]. Это подтверждено экспериментами, проведенными с применением радиоактивного Ca^{45} [7]. Обнаружено, что уменьшение внеклеточной концентрации ионов натрия приводит к увеличению входа Ca^{45} и развитию контрактуры. Повышение их концентрации в растворе блокирует вход Ca^{45} и снижает контрактуру. Амплитуда сокращений и контрактуры определяется отношением $[Ca^{++}]/[Na^{+}]^{2}$.

В то же время имеются работы, в которых основное внимание обращается на внутриклеточное взаимоотношение ионов натрия и кальция, а местом кальций-натриевой конкуренции предлагается считать саркоплазматический ретикулюм [10]. Уменьшение содержания внутриклеточного натрия увеличивает активность ионов кальция саркотубулярной системы, увеличение концентрации вызывает противоположный эффект.

Наряду с влиянием на сократительную активность ионы натрия оказывают выраженный эффект на параметры потенциалов действия (ПД) [11—13]. Согласно нашим наблюдениям, проведенным на миокарде желудочка лягушки, наиболее характерный эффект гипонатриевых растворов — уменьшение амплитуды ПД и укорочение его длительности, одновременное сниже-

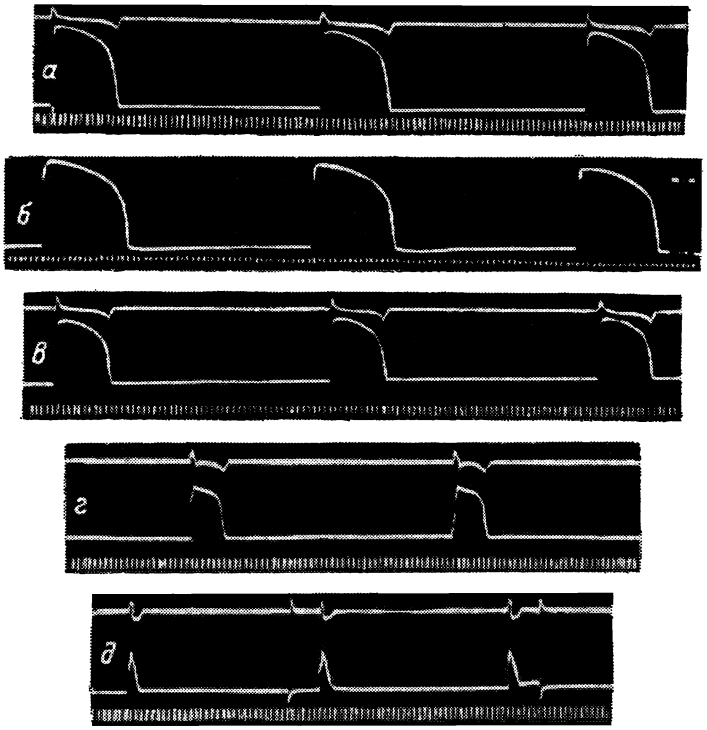


Рис. 1. Влияние ионов натрия на электрическую активность клеток миокарда (частота стимуляции 0,2 *имп/сек*, отметка времени 100 *мсек*, калибровка амплитуды ПД 100 *мв*).
Концентрация натрия, *мМ*: *а* — 110; *б* — 150; *в* — 90; *г* — 70; *д* — 50.

ние скорости быстрой деполяризации. Связь длительности ПД с концентрацией натрия (на одной частоте) — экспоненциальная. Укорочение ПД идет за счет фазы плато, а скорость быстрой конечной реполяризации остается неизменной, длительность ПД увеличивается (рис. 1). Обнаруживаются две особенности действия ионов натрия: 1) укорочение фазы плато идет без увеличения его скорости, 2) в гипонатриевых растворах резко возрастает латентный период ПД. Аналогичные изменения ПД наблюдались нами при действии специфического блокатора натриевого канала тетродотоксина [14—17]. Снижает эффект повышенной концентрации натрия влияние гиперосмотичности среды, в которой отмечается сужение ПД. Следует отметить, что при уменьшении концентрации ионов натрия амплитуда ПД падает в меньшей степени, чем этого можно ожидать исходя из уравнения Нернста. Это несоответствие может быть отнесено за счет вклада в овершут ПД ионов кальция (наряду с ионами натрия).

Можно предложить два варианта объяснения наблюдаемых изменений длительности ПД:

1. Согласно гипотезе [18], имеется следующая последовательность событий во время ПД: заброс ионов натрия при деполяризации — активация натриевого насоса — электрогенное выталкивание натрия — задержка калиевой проницаемости (начальная часть реполяризации) — достижение критического потенциала — включение пассивной калиевой проницаемости — окончание реполяризации. В гипонатриевом растворе, где величина деполяризации уменьшена за счет падения натриевого градиента, при неизменной скорости работы насоса критический уровень срабатывания калиевой батареи будет достигнут раньше.

2. Альтернативное объяснение состоит в том, что в гипонатриевом растворе в клетке увеличивается содержание ионов кальция, которые связаны с гипотетическим рецептором на внутренней поверхности мембраны. Это приводит к сужению длительности ПД [15].

Роль ионов натрия в электромеханическом сопряжении исследована нами с помощью метода сахарозного мостика, который позволяет изменять длительность ПД прикладыванием де- и гиперполяризующих толчков тока в различные его фазы. Методом калийных контрактур показано [9], что уменьшение концентрации натрия в наружном растворе на 50% сдвигает кривую «мышечное сокращение — мембранный потенциал» на 30 *мв*, так что порог для контрактуры становится равным 85 *мв*. Удаление всего натрия из раствора приводит к возникновению контрактуры, хотя потенциал покоя практически не изменяется.

Для клеток миокарда характерна *S*-образная зависимость между длительностью потенциала действия и амплитудой вызванного сокращения, а также между максимумом сокращения и длительностью де- и гиперполяризующих толчков тока [19]. В гипонатриевом растворе эта зависимость изменяется (рис. 2). Видно, что снижение концентрации натрия сместило эту зависимость в сторону увеличения амплитуды сокращений и гиперполяризующих толчков тока. Производная dA/dt_I остается практически без изменений. Поскольку в гипонатриевых растворах высвобождение кальция из внутриклеточных мест связывания затруднено, то активацию сокращений можно отнести на счет увеличенного поступления ионов кальция из внеклеточной среды. Порог активации кальциевого тока при этом смещается в область гиперполяризации. В растворах с измененной концентрацией ионов натрия регуляция сократимости за счет ПД сохраняется.

Более отчетливо роль ионов натрия в электромеханическом сопряжении выявляется при ритмической деятельности миокар-

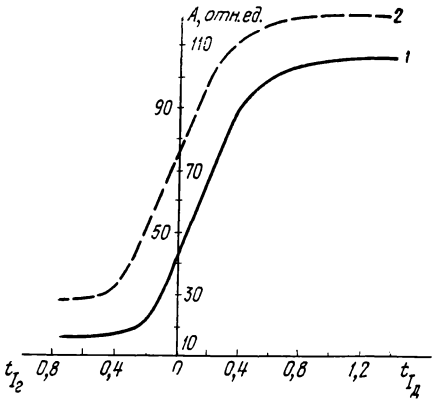


Рис. 2. Зависимость амплитуды сокращения в нормальном (*1*) и гипонатриевом (*2*) растворах от длительности гипер- и деполяризующих толчков тока.

да. Известно, что в нормальной среде параметры ПД зависят от частоты стимуляции [18, 20—23]. Это связано с тем, что после одиночной волны возбуждения в клетках остается след, который влияет на последующие ПД. По данным [22], следовой процесс связан с преходящим увеличением ионов натрия в прислое у внутренней поверхности мембраны, которое определяется скоростью работы калий-натриевого насоса. Согласно другой точке зрения [19], он обязан своим происхождением избыточной концентрации комплекса кальция с гипотетическим рецептором у внутренней поверхности мембраны. Для выяснения вклада ионов натрия в следовой процесс были выполнены эксперименты с изучением ПД в растворах с разной концентрацией ионов натрия и вариацией частоты стимуляции. Реакция ПД на частоту своеобразна. Она не меняется до тех пор, пока концентрация натрия не достигнет 50 *мМ*, несмотря на укорочение ПД (табл. 1).

Исследовать зависимость электрической реакции на всех диапазонах применяемых частот стимуляции в растворах с низкой концентрацией натрия невозможно, так как клетки не воспроизводят высокую частоту и возникает трансформация ритма. При концентрации натрия 50 *мМ* на частоте стимуляции 0,5 *имп/сек* амплитуда ПД постепенно падала и доходила до нуля, после перехода на частоту 0,2 *имп/сек* она постепенно возвращалась к исходным значениям для данного раствора. Нередко длительное выдерживание препарата в гипернатриевом растворе приводило к появлению спонтанной активности. Наряду с изменением длительности ПД, при вариации концентрации натрия в

Таблица 1

Изменение длительности ПД* при увеличении частоты стимуляции в растворах с разным содержанием ионов натрия

Концентрация натрия, *мМ*	Длительность ПД, %, при частоте, *имп/сек*		
	0,2	0,5	1,0
90	91,8	82,2	83,1
70	69,5	70,0	78,0
50**	32,1	34,0	—
150	114,0	100,0	102,0

* За 100% принята длительность ПД в нормальном растворе.
** При этой концентрации частота 1,0 *имп/сек* вызывает трансформацию ритма.

окружающем растворе изменяется и амплитуда ПД (табл. 2). При одинаковых концентрациях натрия амплитуда ПД определяется частотой стимуляции: чем больше частота раздражения, тем меньше амплитуда ПД. На одной и той же частоте с уменьшением концентрации натрия амплитуда ПД падала и наоборот.

Таблица 2

Изменение амплитуды ПД в растворах с разной концентрацией ионов натрия

Концентрация натрия, *мМ*	Амплитуда ПД, *мв*, при частоте, *имп/сек*,		
	0,2	0,5	1,0
150	122,0	114,0	100,5
110	109,0	104,0	97,2
90	95,7	95,4	84,4
70	90,1	88,8	81,5
50	69,8	—	—

В опытах с парной стимуляцией в гипонатриевых растворах (50 и 30 *мМ*) изменение интервала между стимулами не влияло на параметры тестирующих ПД. В нормальном растворе при уменьшении интервала между фоновым и тестирующим стимулами ПД снижаются по амплитуде и длительности, в среде с недостатком ионов натрия влияние фонового ПД на последующий было значительно уменьшено.

Снижение амплитуды ПД с увеличением частоты стимуляции в растворе с одинаковой концентрацией натрия можно было бы объяснить постепенным возрастанием концентрации натрия в прислое у внутренней поверхности клеточной мембраны (при этом уменьшается натриевый градиент). Однако расчеты показывают, что для этого необходимо предположить отсутствие диффузии натрия в объеме цитоплазмы и его накопление в малом объеме (толщина прислоя 50 Å), а также постулировать необычно высокие значения натриевого входа. В растворе с пониженным содержанием натрия количество входящих в клетку ионов натрия и по быстрым, и по медленным каналам уменьшено, тогда как падение амплитуды ПД при вариации частоты от 0,2 до 1,0 *имп/сек* такое же, как и в нормальном растворе. Следовательно, падение амплитуды ПД с увеличением частоты стимуляции связано с входящими ионами кальция.

Отсутствие сдвигов следового процесса в растворах, где концентрация натрия больше 50 *мМ*, свидетельствует о существовании в клетке гомеостатического механизма, поддерживающего концентрацию ионов натрия на постоянном уровне, несмотря на ее сдвиги в наружной среде. Основа такого механизма — модель калий-натриевого насоса с обратной связью по внутриклеточной концентрации натрия (скорость работы насоса зависит от $[Na_i]$) [24]. Для объяснения наших данных следует полагать, что поддержание на постоянном уровне внутриклеточной концентрации натрия возможно до тех пор, пока содержание его снаружи не станет менее 50 *мМ*.

Частота стимуляции влияет и на параметры сокращений. Для анализа хроноинотропии нами использована следующая

модель. Облегчение (т. е. увеличение силы сокращений при возрастании частоты стимуляции) сокращений в клетках миокарда желудочка лягушки в первом приближении описывается формулой

$$P(t) = A(1 - e^{-\alpha t})e^{-\beta t},$$

где t — время (за начало отсчета принят момент нанесения фонового раздражения); α, β — параметры облегчения; A — константа.

Предлагая эту формулу, исходили из того, что облегчение — следствие остаточных явлений предшествующего возбуждения, которые мы связываем с задержкой остатков ионов натрия в клетках. Во время диастолы избыток натрия активно выкачивается из клетки по экспоненциальной зависимости [25], ибо такой характер оттока натрия наиболее вероятен для данного процесса. Постоянная времени оттока во время диастолы принималась за $1/\beta$. Хотя ионы натрия внутри клетки прямо не влияют на сокращение, они увеличивают кальциевую проводимость [26, 27]. С уменьшением остатка внутриклеточного натрия ΔNa_i падает и вход кальция, а значит, и его внутриклеточная концентрация. Введение члена $(1 - e^{-\alpha t})$ вызвано условием тестирования. Это условие не соблюдается, когда длительность ПД (они-то и являются тестирующими воздействиями) уменьшается при укорочении интервала между раздражениями. Иными словами, член $(1 - e^{-\alpha t})$ является поправкой на уменьшение длительности ПД, а значит, и заброса ионов натрия в клетку.

Динамика изменения облегчения при парной стимуляции в растворах с разной внеклеточной концентрацией ионов натрия показана на рис. 3. Из сравнения кривых видно, что снижение внеклеточной концентрации ионов натрия вызывает смещение точек максимума облегчения в область больших периодов следования стимулов (низких частот стимуляции). Скорость процесса облегчения в нисходящей части кривой уменьшается. При математическом описании хода кривых облегчения обнаружены следующие значения коэффициентов α и β в зависимости от наружной концентрации ионов натрия, *сек*$^{-1}$:

Концентрация, *мМ*	α	β
150	1,49	0,22
110	1,16	0,17
90	1,12	0,11
50	0,94	0,07
30	0,81	0,05

Видно, что снижение концентрации ионов натрия в среде уменьшает коэффициенты α и β. Следовательно, гипонатриевый рас-

твор уменьшает константу скорости оттока натрия и тем самым увеличивает время восстановления, а гипернатриевый — действует противоположно. Это согласуется с данными, что скорость работы натриевого насоса — функция внутриклеточной концентрации ионов натрия [27, 28]: снижение содержания натрия уменьшает скорость, повышение — увеличивает. Спад поступления натрия в клетку подтверждается тем, что в гипонатриевом растворе амплитуда и длительность ПД уменьшаются.

Длительная ритмическая стимуляция (воздействие частотой 0,9—1,0 *имп/сек* на протяжении 3 *мин*) в гипонатриевых растворах вызывает постепенное падение амплитуды ПД на 15—20 *мв* и укорочение их длительности на 300—500 *мсек*. Величина падения амплитуды ПД и уменьшения длительности фазы плато определяется частотой стимуляции и количеством предшествующих волн возбуждений: чем больше частота, тем больше уменьшаются амплитуда ПД и их длительность. При частоте 1,0 *имп/сек* указанные изменения быстро прогрессируют: ПД принимают абортивный вид и вскоре исчезают. Переход на низкую частоту приводит через небольшой промежуток времени к восстановлению активности до исходного уровня.

Длительная ритмическая стимуляция приводит также к выраженному вторичному снижению сократительной активности миокарда в гипонатриевых растворах (рис. 4). При концентрации ионов натрия 110 *мМ* и в 3-минутной стимуляции на 20—30-м сокращении достигается стационарное значение облегчения, которое сохраняется до окончания стимуляции. В гипонатриевом растворе после достижения максимума облегчения начинается его уменьшение. Вторичное снижение величины облегчения начинается одновременно с падением амплитуды ПД и полностью повторяет динамику изменения последних. Это подтверждает предположение, что оно связано с уменьшением амплитуды и укорочением длительности ПД.

После трехминутной стимуляции на высокой частоте восстановление величины облегчения сокращений в нормальном рас-

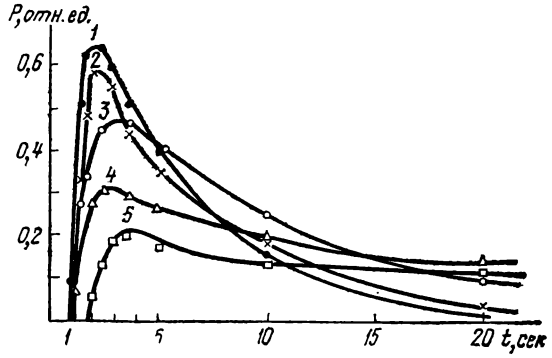


Рис. 3. Зависимость величины облегчения от периода раздражения в средах с различной концентрацией натрия.

Концентрация натрия, *мМ*: *1* — 150; *2* — 110; *3* — 90; *4* — 50; *5* — 30.

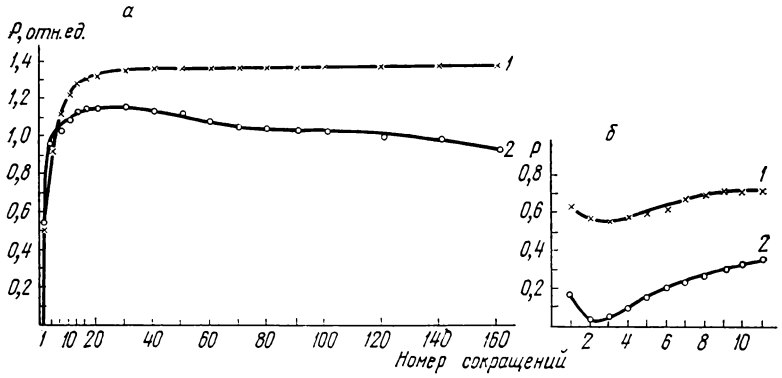


Рис. 4. Облегчение (*а*) в нормальном (*1*) и гипонатриевом (*2*) растворах при трехминутной стимуляции на частоте 0,9 *имп/сек* и его восстановление (*б*) на частоте 0,11 *имп/сек*.

творе опережает восстановление его в гипонатриевом (см. рис. 4, *б*); в гипернатриевом облегчение на малой частоте (0,1 *имп/сек*) никогда не восстанавливается до исходных значений.

Как уже отмечалось, для гипонатриевых растворов характерно падение амплитуды ПД, уменьшение их длительности и в то же время возрастание силы сокращений миокарда. Такое соотношение электрической и механической активности для клеток сердечной мышцы необычно. Наличие прямой корреляции установлено между амплитудой и длительностью ПД, с одной стороны, и силой сокращений — с другой [19]. Деполяризующие толчки тока, приложенные во время фазы плато ПД, удлиняют их и одновременно усиливают сокращения, гиперполяризующие приводят к противоположному эффекту. Это понятно, так как деполяризация увеличивает количество ионов кальция, поступающих при возбуждении к миофибриллярному аппарату. Это может быть кальций, поступающий из внеклеточной среды, либо высвободившийся из запасов в саркоплазматическом ретикулюме. Следовательно, в гипонатриевой среде увеличение проницаемости для ионов кальция перекрывает влияние уменьшенной и укороченной деполяризации (уменьшение времени и амплитуды ПД).

Показано [29], что место конкуренции ионов натрия и кальция в миокарде холоднокровных — некоторые участки поверхностной мембраны. Таким образом, поверхностная возбудимая мембрана в этих клетках является пунктом взаимодействия ионов. Приняв это, можно предположить, что внеклеточный натрий в миокарде выступает в роли регулятора кальциевой проницаемости. Действительно, увеличение концентрации ионов натрия снаружи мембраны уменьшает кальциевую проницае-

мость, у внутренней поверхности — повышает вход кальция внутрь клетки при возбуждении. Это еще раз подтверждает «полярность» свойств мембран.

Если сокращение в основном вызывается ионами кальция, находящимися в саркотубулярной системе и высвобождающимися во время ПД, то следует предположить наличие конкуренции в некоторых участках саркотубулярной системы между ионами кальция и натрия. В этом случае уменьшение поступления натрия в клетку при возбуждении должно увеличивать содержание кальция.

ЛИТЕРАТУРА

1. S. Ringer. J. Physiol., 1883, **4**, 29.
2. Ю. И. Данько. Фармакология и токсикология, 1942, 5, 30.
3. N. Sperelakis, T. Hoshiko, R. F. Keller, R. M. Berne. Am. J. Physiol., 1960, **198**, 135.
4. R. Niedergerke, H. C. Lüttgau. Nature, 1957, **179**, 1066.
5. W. G. Nayler. Am. J. Physiol., 1961, **202**, 682.
6. В. М. Шевелев. К изучению механизмов хроноинотропии в клетках миокарда. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1971.
7. W. Wilbrandt, H. Koller. Helv. physiol. Acta, 1948, **6**, 208.
8. R. Niedergerke. Experientia, 1959, **15**, 128.
9. H. C. Lüttgau, R. Niedergerke. J. Physiol., 1958, **143**, 486.
10. G. A. Langer. Physiol. Rev., 1968, **48**, 708.
11. Б. Гоффман, П. Крейнфилд. Электрофизиология сердца. М., ИЛ, 1962.
12. A. I. Brady, J. W. Woodbury. Ann. N.-Y. Acad. Sci., 1957, **65**, 687.
13. J. Deleze. Circ. Res., 1959, **7**, 461.
14. Р. С. Орлов, В. М. Шевелев. Докл. АН СССР, 1969, **185**, 221.
15. В. Я. Изаков, В. М. Шевелев, Р. В. Гнитько. Физиол. ж., 1971, **57**, 1471.
16. Р. В. Гнитько, В. М. Шевелев, В. Я. Изаков, Р. С. Орлов. Биофизика мембран. Каунас, 1971, 309.
17. В. Я. Изаков, Р. В. Гнитько, В. М. Шевелев. IV Международный биофизический конгресс. Тезисы докл., 1972, **2**, 372.
18. В. Я. Изаков. Изучение электрической активности клеток миокарда. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1968.
19. Р. В. Гнитько. Анализ механизмов регуляции электрической и механической активности миокарда методом фиксации тока на мембране. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1972.
20. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков. Физиол. ж., 1969, **55**, 823.
21. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков, А. Т. Кеткин, И. П. Плеханов. Механизмы саморегуляции в гладких мышцах и миокарде. М., «Наука», 1971.
22. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков, В. М. Шевелев. Физиол. ж., 1971, 57, 223.
23. J. Koch-Weser, J. B. Blinks. Pharmacol. Rev., 1963, **15**, 601.
24. L. Y. Opit, Y. S. Charnock. Nature, 1965, **208**, 471.
25. R. H. Adrian, C. L. Slayman. J. Physiol., 1966, **184**, 970.
26. P. F. Baker, M. P. Blaustein, A. L. Hodgkin, R. R. Steinchardt. J. Physiol., 1967, **192**, 43.
27. E. J. Conway. Federat. Proc., 1964, **23**, 680.
28. R. P. Kernan. Nature, 1962, **193**, 986.
29. R. Niedergerke, R. K. Orkand. J. Physiol., 1966, **184**, 312.

✦✦✦

АКАДЕМИЯ НАУК СССР·УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА 1974

Е. Ф. ЧЕТВЕРИКОВА, В. Я. ИЗАКОВ

К МЕХАНИЗМУ ДЕЙСТВИЯ АДРЕНАЛИНА НА ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКОЕ СОПРЯЖЕНИЕ В КЛЕТКАХ МИОКАРДА

Адреналин обладает многогранным метаболическим эффектом [1—6] и одновременно влияет на обмен ионов натрия и кальция [7—11]. Ионные сдвиги и «биохимическое действие» хорошо коррелируют, но временной ход их часто не совпадает, и до сих пор не ясно, то ли первично изменение метаболизма, а сдвиги в электрической активности и ионном обмене вторичны, то ли наоборот. В настоящее время установлено, что основное связующее звено между электрическими событиями на клеточной мембране и контрактильным ответом — ионы кальция [12—17]. Вероятно, ион кальция реализует и электрометаболическое сопряжение, усиливая метаболизм при увеличении функциональной активности миокарда [18]. Если согласиться с этим, то инотропный эффект адреналина, его влияние на потенциал покоя и потенциал действия, ионный обмен и биохимическое действие следует рассматривать как параллельные процессы. Даже если в регуляции ионной проницаемости и внутриклеточном обмене ионов участвует 3′, 5′-АМФ, образование которой стимулируется адреналином, то наиболее вероятная причина инотропных сдвигов — изменение ионного состава клетки.

В сердце, где длительность деполяризации большая, потенциалы действия регулируют параметр сократительного акта [17]. Чем больше длительность потенциала действия, тем больше кальция поступит из внеклеточной среды и одновременно освободится из внутриклеточных мест хранения. Это экспериментально показано путем подачи де- и гиперполяризующих толчков тока во время фазы плато потенциала действия [19—21]. Регулирующая роль длительности потенциала действия особенно важна, если учесть, что ритм сердцебиений вызывает значительные сдвиги в сократимости миокарда [22—24].

Электромеханическое сопряжение в сердце варьирует от сокращения к сокращению и существенно зависит от предыстории электрической и механической деятельности сердца. Цель нашей работы и состояла в том, чтобы выяснить действие адре-

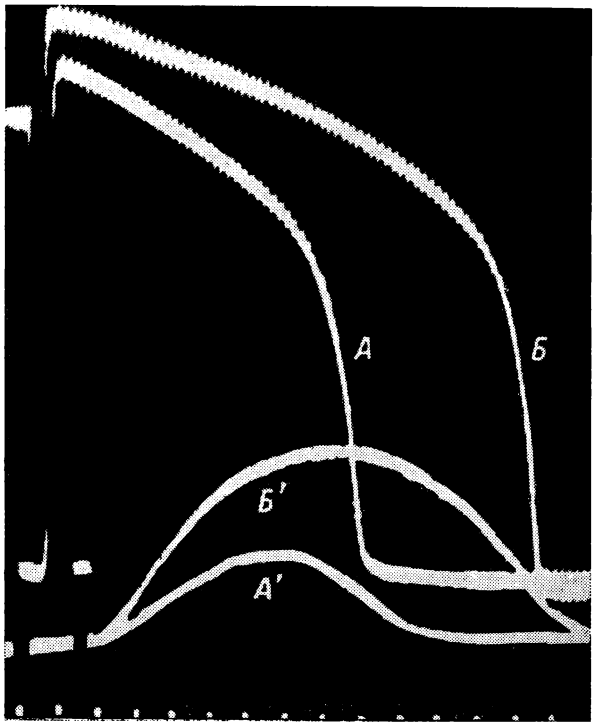


Рис. 1. Суперпозиция потенциалов действия (*верхние кривые*) и сокращений (*нижние кривые*) желудочка лягушки до (*А, А'*) и после (*Б, Б'*) аппликации адреналина ($1 \cdot 10^{-5}$ *М*). Отметка времени 100 *мсек*, калибровка амплитуды потенциалов действия 100 *мв*.

налина на электромеханическое сопряжение в условиях ритмической работы сердца.

Наиболее выражен начальный эффект адреналина — увеличение длительности потенциала действия, главным образом за счет фазы плато, и его амплитуды. Потенциал покоя и скорость фазы конечной быстрой реполяризации потенциала действия не изменяются. Этому сопутствует увеличение амплитуды сокращений, максимальной скорости сокращения и расслабления (рис. 1). Аналогичные результаты получены на желудочке лягушки [25]. Однако указанные явления наблюдались только в том случае, если частота сокращений желудочка была небольшой (0,1—0,3 *сек*$^{-1}$). При больших частотах стимуляции (0,5—1,0 *сек*$^{-1}$) потенциалы действия становились у́же фоновых, вместо положительного инотропного эффекта адреналин подавлял сократимость (рис. 2). Отрицательный инотропный эффект был тем больше и возникал тем раньше, чем больше

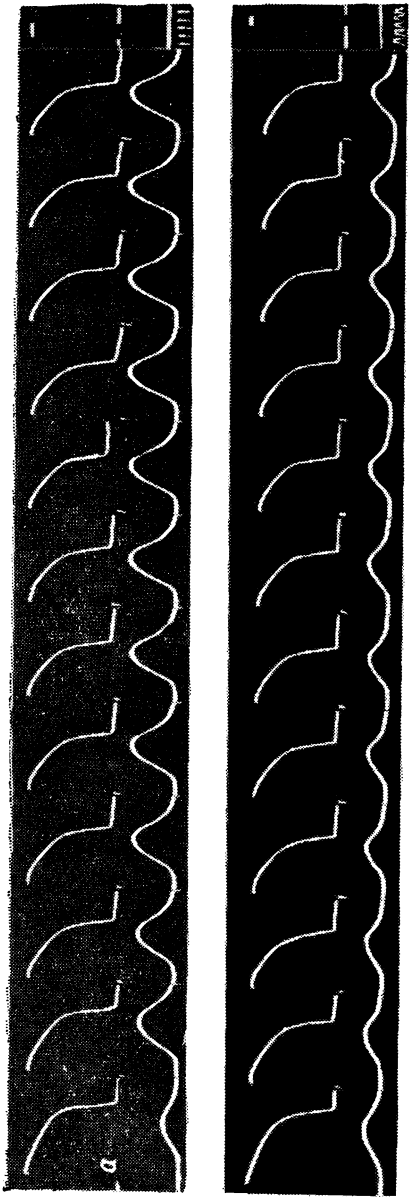


Рис. 2. Влияние адреналина при частоте стимуляции 0,9 $сек^{-1}$.
а — нормальный раствор; *б* — адреналин ($1 \cdot 10^{-5}$ *М*).

была частота стимуляции. Даже в тех случаях, когда адреналин оказывал четкий положительный инотропный эффект, через некоторое время (которое тем больше, чем ниже частота стимуляции) сократимость подавлялась и сокращения становились меньше контрольных значений в нормальном растворе. Подавление сократимости под влиянием адреналина всегда связано с уменьшением длительности потенциалов действия. Таким образом, и положительные, и отрицательные инотропные влияния адреналина встречаются в естественных условиях и зависят от исходной частоты сердцебиений.

По литературным данным [8—10, 26], адреналин одновременно увеличивает накопление и сорбцию кальция внутриклеточными структурами и, очевидно, силу связывания с гипотетическими внутриклеточными рецепторами. Рост длительности потенциалов действия под влиянием адреналина сам по себе должен увеличивать количество кальция, поступающего к миофиламентам. Таким образом, начальный положительный инотропный эффект адреналина связан с увеличением длительности потенциала действия и P_{Ca}. В последующем увеличивается сорбция каль-

ция во внутриклеточных структурах, и та же степень деполяризации меньше его высвобождает. Сдвиги внутриклеточной концентрации кальция и натрия уменьшает длительность потенциалов действия (а возможно, и уменьшение P_{Ca}), что в последующем должно привести к уменьшению степени электромеханического сопряжения.

Начальное удлинение продолжительности фазы плато потенциала действия под влиянием адреналина некоторые авторы [27—29] связывают с падением и замедлением хода калиевой проводимости. Это может быть вызвано предшествующей гиперполяризацией мембраны. Если принять, что плазматическая мембрана в сердце холоднокровных является и участком генерации потенциалов действия, и местом сорбции ионов кальция, то вполне возможно, что ионы кальция изменяют профиль электрического поля в области ионных каналов, с чем можно связать наблюдаемые сдвиги в параметрах потенциалов действия. Подобная картина наблюдается при действии гиперкальциевых растворов в гигантском аксоне кальмара, где происходит сдвиг характеристики «мембранный потенциал — пик натриевой проводимости» [30].

Считается, что в этом случае Ca^{++}, взаимодействуя с определенными группами мембраны, изменяет поле самой мембраны (ξ-потенциал) и, таким образом, имеется как бы «гиперполяризация без гиперполяризации» (ибо изменения ξ-потенциала не регистрируются при обычном способе отведения трансмембранного потенциала).

Роль частоты сердцебиений в определении эффекта адреналина исследована нами методом парной стимуляции. Обычно зона последействия [31], определяемая этим методом при последовательном сближении фонового и тестирующего импульсов, описывается уравнением типа Кармелье [32]: $y = A\infty(e - 1^{-at})$, в котором предполагается, что последействие контролируется некоторой мономолекулярной реакцией. Наши исследования показали, что аппроксимация экспериментальных данных не удовлетворительна. Лучше для описания использовать две экспоненты. Если в расчет брать только те интервалы между стимулами, при которых амплитуда тестирующих потенциалов действия такая же, как у фоновых, лишь уменьшается их длительность, то зона последействия следует кинетике реакции первого порядка. Следовательно, контролируют зону последействия два процесса: быстрый — одновременно влияет на амплитуду и длительность тестирующих потенциалов действия, действие его полностью заканчивается спустя 0,4—0,8 *сек* после окончания потенциала действия, и более медленный — влияет только на длительность тестирующего потенциала действия в течение 3—5 *сек*.

Расчеты показали, что постоянная времени первого процесса $\tau_1 = 1{,}25$ *сек*, второго $\tau_2 = 0{,}17$ *сек*. Под влиянием адреналина статистически значимо увеличиваются обе постоянные:

$\tau_1 = 2{,}0$ *сек*, а $\tau_2 = 0{,}46$ *сек*. Вследствие этого зона последействия одиночного потенциала действия в растворе с адреналином резко возрастает. В нормальном растворе уже через 4—5 *сек* тестирующий потенциал действия не отличим от фонового, при действии адреналина влияние фонового потенциала действия распространяется на 10 *сек*, иногда и более.

Согласно предложенной ранее модели [33], облегчение после одиночного сокращения описывается уравнением

$$P = A(1 - e^{-\alpha t}) \cdot e^{-\beta t}. \qquad (1)$$

По мнению авторов, $1/\beta$ отражает постоянную времени оттока ионов натрия, которая контролируется натриевым насосом, а член $(1 - e^{-\alpha t})$ связан с изменением длительности тестирующих потенциалов действия, а значит, и количеством активатора, поступающего в клетки. Накопление в клетке ионов натрия активирует кальциевую проницаемость, что и проявляется в хроноинотропном усилении сократимости. Такой механизм увеличения кальциевой проницаемости впервые обнаружен на гигантском аксоне кальмара [34], а впоследствии подтвердился и для миокарда [35]. Так, если в нормальном растворе $\alpha = 1{,}27 \pm 0{,}06$ *сек*$^{-1}$, $\beta = 0{,}18 \pm 0{,}04$ *сек*$^{-1}$, то в растворе с адреналином $\alpha = 0{,}93 \pm 0{,}09$ *сек*$^{-1}$, $\beta = 0{,}07 \pm 0{,}01$ *сек*$^{-1}$. Это означает, что скорость выталкивания натрия из клетки в растворе с адреналином уменьшается.

В нормальных условиях максимум облегчения приходится на период стимуляции $2{,}3 \pm 0{,}12$ *сек*, в растворе с адреналином он сдвигается в низкочастотную область, и максимум потенциации наблюдается в интервале между стимулами $4{,}6 \pm 0{,}35$ *сек* (рис. 3). Это удивительно, если учесть, что в условиях целого сердца адреналин оказывает одновременно и положительный инотропный, и положительный хронотропный эффект.

Выявленные нами сдвиги в хроноинотропии свидетельствуют, что частотная потенциация в растворе с адреналином максимальна именно при низких частотах сердцебиений и увеличение ритма в данных условиях должно вести к резкому отрицательному инотропному сдвигу. После имитации «адреналинового удара», т. е. когда адреналин действует на фоне высокой частоты сокращений, резко падает сократимость, активность восстанавливается после «вспышки» очень медленно и неполностью. В организме, вероятно, происходит «разобщение» хронотропного и прямого инотропного влияния адреналина. Иными словами, если адреналин увеличивает частоту сердцебиений, то прямое влияние на сократительный миокард, вероятно, должно отсутствовать, а увеличение сократимости в этом случае вторично и обусловлено возрастанием частоты сердцебиений. Более того, организм должен иметь механизм, препятствующий одновременному влиянию катехоламинов и на ритм, и на силу сокращений.

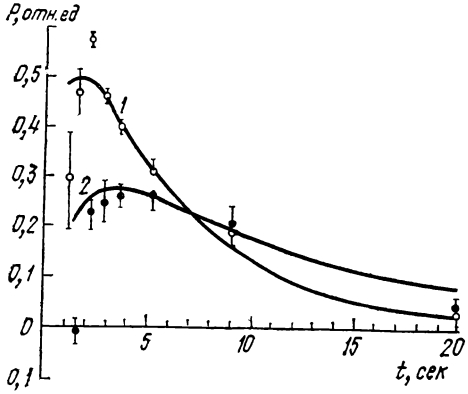


Рис. 3. Облегчение в нормальном ра творе (*1*) и под действием адренал на (*2*)

Кривые рассчитаны по уравнению (1): для нормального раствора: $P=0,79(1-e^{-1,27t})\cdot e^{-0,18t}$; для раствора с адреналином: $P=0,34(1-e^{-0,93t})\cdot e^{-0,07t}$.

Следует обратить внимание еще на одну особенность действия адреналина. Если его добавить на «молчащее» сердце, а затем включить стимуляцию, то вместо ожидаемого положительного инотропного эффекта сократимость подавляется. Это проявляется в тех случаях, когда частота стимуляции, следующей за остановкой сердца, невелика. Отрицательный инотропный эффект выражен тем больше, чем больше длительность предшествующей паузы. Механизм указанного эффекта становится понятным, если учесть наши опыты с тетродотоксином [36, 37]. Показано, что действие тетродотоксина зависит от частоты стимуляции (подавление электрической и механической активности тем больше, чем выше частота стимуляции). Адреналин на фоне тетродотоксина восстанавливал электрическую и механическую активность, но деполяризующие толчки тока неспособны в этих условиях активировать сокращения. Мы предположили, что в условиях натриевого дефицита в клетке происходит лучшая сорбция кальция и его высвобождение при деполяризации ухудшается. Действительно, в гипернатриевых растворах подавляющее действие тетродотоксина проявляется в меньшей степени или вообще отсутствует, система становится более устойчивой к высокочастотной стимуляции. Наоборот, в гиперкальциевых растворах подавление электрической и механической активности под влиянием тетродотоксина наступает раньше и выражено сильнее. В связи с этим можно считать, что миокард «нуждается» в периодическом поступлении ионов натрия. В его отсутствии электромеханическое сопряжение нарушается. Вероятно, в молчащем сердце при относительном дефиците натрия адреналин больше, чем при ритмической деятельности, увеличивает поглощение и степень связывания Ca^{++} в саркоплазматическом ретикулюме или его эквивалентах.

Этот вывод подтверждается нашими экспериментами с новокаином. Во многом влияние новокаина напоминает эффект

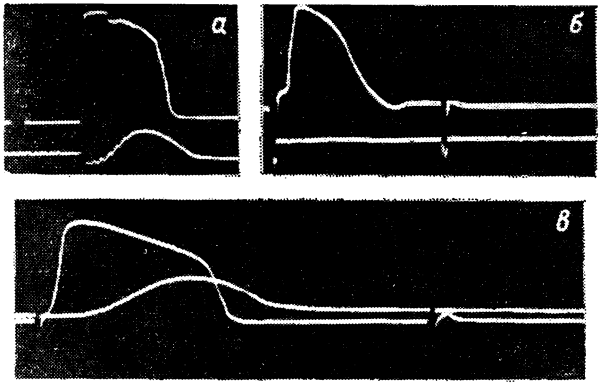


Рис. 4. Влияние адреналина на электрическую и механическую активность в растворе с новокаином.

а — потенциалы действия и сокращения в нормальном растворе; *б* — новокаин $1 \cdot 10^{-3}$ *М*, 21 *мин*; *в* — аппликация адреналина ($1 \cdot 10^{-5}$ *М*) на фоне новокаина.

тетродотоксина: замедляется скорость быстрой деполяризации, уменьшается сократимость. На фоне выраженного действия уже после десяти стимулов на частоте 0,5 *сек*$^{-1}$ и выше наблюдается подавление потенциалов действия. Восстановление во время паузы идет крайне медленно — спустя 3—5 *мин* после стимуляции миокард отвечает лишь одним «полноценным» потенциалом действия, затем следуют абортивные потенциалы действия (рис. 4). Указанные сдвиги могут быть связаны с дефицитом натрия, поскольку абсолютная величина облегчения, которую мы связывали с «накоплением» ионов натрия, в растворе с новокаином падает, хотя временной ход облегчения и не меняется (отток натрия не изменяется). Адреналин в растворе с новокаином временно увеличивает сократимость, длительность потенциалов действия, но фаза быстрой деполяризации не восстанавливается.

Это еще раз подтверждает, что влияние адреналина реализуется через медленный канал. Однако недостаточность функционирования только медленного канала сказывается довольно быстро, особенно при высоких частотах стимуляции; несмотря на наличие адреналина, сократимость быстро падает.

Опыты с использованием ионов марганца, которые подавляют кальциевую проницаемость [38—40], подтверждают роль ионов кальция в механизме действия адреналина. При уменьшенном под влиянием марганца поступлении в клетку ионов кальция его внутриклеточные запасы снижаются. В связи с этим уменьшается величина развиваемого механического напряжения. Как указывалось ранее, внутриклеточные ионы кальция могут модифицировать собственный потенциал мембраны.

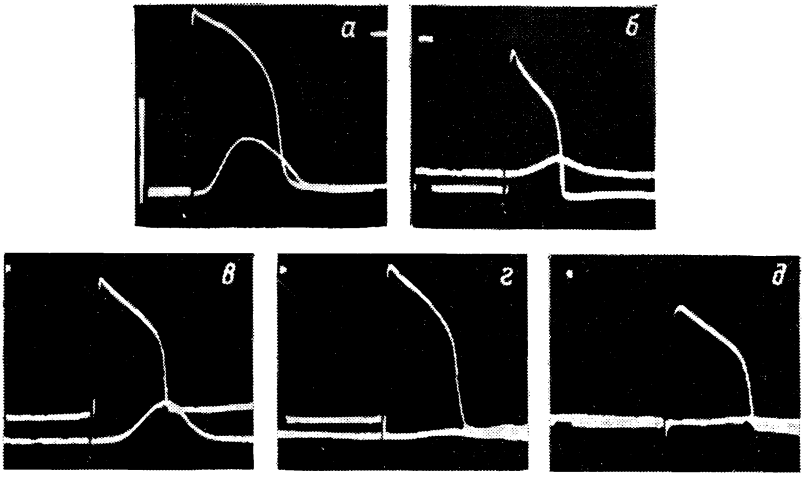


Рис. 5. Действие адреналина на электрическую и сократительную активность клеток миокарда в среде, содержащей ионы марганца.

а — нормальный раствор; *б* — 10 *мМ* марганца; *в* — *д* — действие адреналина на фоне марганца, *мин*: *в* — 3, *г* — 9, *д* — 15.

Поэтому действие ионов марганца, как и гипокальциевых растворов, можно оценить как «деполяризацию без деполяризации». С этим, вероятно, связаны наблюдаемые изменения конфигурации потенциалов действия (укорочение фазы плато, уменьшение амплитуды и длительности потенциалов действия) и быстрое подавление сокращений (рис. 5, *а*, *б*). Адреналин на фоне марганца хотя и удлиняет фазу плато потенциалов действия, но сократимость после кратковременного усиления подавляется еще больше, чем под влиянием одного марганца (рис. 5, *в*—*д*). Это свидетельствует о том, что адреналин в какой-то мере разобщает электромеханическое сопряжение, затрудняя высвобождение кальция из внутриклеточных мест хранения.

Кратковременное удлинение фазы плато потенциалов действия и небольшое увеличение сокращений можно интерпретировать в рамках «гиперполяризующего действия» адреналина и возможной конкуренции адреналина с марганцем в медленных каналах, а следовательно, и преходящим увеличением P_{Ca}. В растворах с марганцем зона последействия укорочена так же, как облегчение. Предыстория электрической и механической активности мало сказывается на последующей деятельности миокардиальных клеток. Следовые эффекты ранее мы объясняли остаточными концентрациями натрия и кальция, которые не успевают восстановиться к последующему циклу. В условиях блокады медленного канала в клетку поступает меньше ионов Ca^{++} и Na^{+}, а вследствие этого выраженность следовых про-

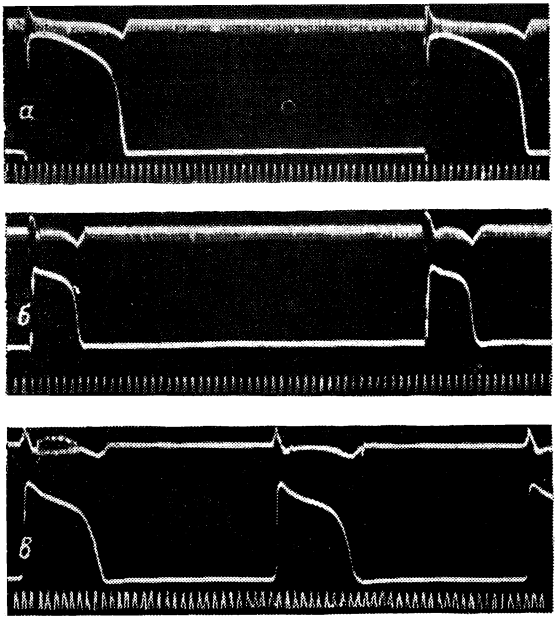


Рис. 6. Действие адреналина на потенциалы действия желудочка лягушки в зависимости от концентрации ионов натрия.

а — нормальный раствор; *б* — гипонатриевый раствор (70 *мМ* натрия); *в* — гипонатриевый раствор и адреналин ($1 \cdot 10^{-5}$ *М*).

цессов уменьшается. Однако до сих пор не ясно, как в условиях действия Mn^{++} меняется отношение P_{Ca}/P_{Na}.

Уяснить роль ионов кальция и натрия в механизме действия адреналина помогли опыты с вариацией их концентрации во внеклеточной жидкости. Ионы кальция двояко действуют на сократимость: вначале увеличивают ее, а затем подавляют. Эффект адреналина зависел от концентрации кальция. В бескальциевых растворах адреналин не влиял на параметры потенциалов действия и сократимость не восстанавливалась; в гиперкальциевых (3 *мМ* кальция) эффекты адреналина напоминали его действие в обычном растворе, хотя при высокой частоте стимуляции наблюдалось более выраженное подавление активности и медленное восстановление. Характерно, что в гиперкальциевой среде зона последействия мало менялась при изменении интервала между стимулами.

В условиях, когда электрическая активность подавлялась гиперкалиевым раствором или понижением концентрации ионов натрия в растворе, адреналин частично восстанавливал электрическую активность и действовал положительно (рис. 6). Это хорошо согласуется с тем, что адреналин оказывает усиливающее действие в гиподинамических сердцах и относительно слабо влияет на свежие препараты.

Таким образом, способность адреналина улучшать функциональную активность миокарда связана с изменением ионной проницаемости мембраны. Мы считаем, что одновременно уве-

личивается и P_{Ca} и P_{Na} (облегчается прохождение тока через медленный Ca — Na канал). Если натрий в окружающей среде отсутствует, то на фоне адреналина быстро снижается сократимость. Характерно, что в гипернатриевых растворах адреналин обладает более «мягким» действием — сила сокращений возрастает, но эффект частоты выражен слабее; положительное инотропное действие проявляется и на высоких частотах. В тех случаях, когда при высокой частоте стимуляции амплитуда сокращений под влиянием адреналина все же уменьшается, переход на низкую частоту быстро восстанавливает сократимость. Следовательно, можно утверждать, что для оптимального действия адреналина необходимо определенное соотношение ионов кальция и натрия.

Суммируя сказанное выше, можно сделать вывод, что эффект адреналина зависит от ритма сердцебиений, ионного состава среды и предыстории механической деятельности сердца. Эти факторы должны учитываться в случаях, когда применение адреналина необходимо в лечебных целях, при исследовании действия его в экспериментах. Кроме того, приведенные данные свидетельствуют о важности концентрации ионов у внутренней поверхности мембраны в регуляции электрической и механической активности ритмически работающего сердца.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Парин, Ф. З. Меерсон. Ж. эволюц. биохим. и физиол., 1969, **5**, 2, 158—166.
2. S. E. Mayer. Biochem. Pharmacol., 1963, **12**, 193—201.
3. S. E. Mayer. Fed. Proc., 1970, **29**, 4, 1367—1372.
4. E. W. Sutherland, T. W. Rall. J. Biol. Chem., 1958, **232**, 1077—1091.
5. N. Haugaard, M. E. Hess. Pharmacol. Rev., 1966, **18**, 1, 197—203.
6. N. Dhalla, P. L. McLain. J. Pharmacol. Exp. Therap., 1967, **155**, 3, 389—396.
7. E. Carmeliet. Arch. Int. Physiol., 1967, **75**, 542—543.
8. Vassort, O. Rougier, D. Garnier, M. P. Sauviat, E. Coraboeuf, Y. M. Gargouîl. C. R. Acad. Sc. Paris, 1968, **267**, 1762—1765.
9. G. Vassort, O. Rougier, D. Garnier, M. P. Sauviat, E. Coraboeuf, Y. M. Gargouil. Pflügers Arch., 1969, **309**, 70—81.
10. E. Carmeliet, J. Verecke. Pflügers Arch., 1969, **313**, 4, 300—315.
11. W. C. Nayler. Am. Heart J., 1967, **73**, 3, 379—394.
12. G. A. Langer. Progr. Cardiovasc. Diseas, 1966, **9**, 2, 194—203.
13. G. A. Langer. Factors influencing myocardial contractility. N. Y. — L. Acad. Press, 1967, 351—361.
14. A. J. Brady. Ann. Rev. Physiol., 1964, **26**, 341—356.
15. S. Ebashi, M. Endo. Progr. Biophys. Molec. Biol., 1968, **18**, 123—183.
16. A. Sandow. Pharmacol. Rev., 1965, **17**, 265—320.
17. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков. Успехи физиол. наук, 1971, **2**, 4, 3—23.
18. E. Ozawa, K. Hosoi, S. Ebashi. J. Biochem., 1967, **61**, 531—533.
19. F. Kavaler. Am. J. Physiol., 1959, **197**, 968—970.
20. M. Morad, W. Trautwein. Pflügers Arch. ges. Physiol., 1968, **299**, 66—82.
21. Р. В. Гнитько, В. Я. Изаков, Р. С. Орлов. Физиол. ж., 1972, 58, 917—924.

22. J. Koch-Weser, J. R. Blinks. Pharmacol. Rev., 1963, **15**, 3, 601—652.
23. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков, А. Т. Кеткин, И. П. Плеханов. Регуляторные механизмы клеток гладкой мускулатуры и миокарда. Л., «Наука», 1971.
24. В. М. Шевелев. К изучению механизмов хроноинотропии в клетках миокарда. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1971.
25. A. J. Brady. Annals N. Y. Ac. Sc., 1967, **139**, 3, 661—672.
26. E. A. Shinebourne, M. L. Hess, R. J. White. J. Hamer. Gardiovasc. Res., 1969, **3**, 113—117.
27. M. Vassalle. Am. J. Physiol., 1965, **208**, 770—775.
28. H. A. Fozzard, W. Sleator. Am. J. Physiol., 1967, **212**, 945—952.
29. В. С. Мархасин. Частота стимуляции и медиаторы в регуляции электрической активности волокон миокарда желудочка. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1968.
30. B. Frankenhauser, A. L. Hodgkin. J. Physiol., 1957, **137**, 218—244.
31. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков. Физиол. ж., 1969, **55**, 7, 823—832.
32. E. Carmeliet. Arch. Intern. Physiol., 1955, **63**, 126—127.
33. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков, В. М. Шевелев. Физиол. ж., 1971, **57**, 223—239.
34. P. F. Baker, M. P. Baustein, A. L. Hodgkin, R. A. Steinhardt. J. Physiol., 1967, **192**, 43—44.
35. H. G. Glitsch, H. Reuter, H. Scholz. J. Physiol., 1970, **209**, 25—43.
36. В. Я. Изаков, Р. В. Гнитько, В. М. Шевелев. Физиол. ж., 1971, **57**, 1471—1480.
37. В. Я. Изаков, Р. В. Гнитько, В. М. Шевелев. Труды IV Международного биофизического конгресса, 1972, № 2, 372—373.
38. E. Coraboeuf, G. Vassort. J. Electrocardiol., 1968, **1**, 19—30.
39. M. Vitek, W. Trautwein. Pflügers Arch., 1971, **323**, 204—218.
40. M. Kleinfeld, E. Stein. Am. J. Physiol., 1968, **215**, 593—599.

✦✦✦

АКАДЕМИЯ НАУК СССР·УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА 1974

Б. Г. ТКАЧЕНКО

ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛИНА НА ХРОНОИНОТРОПИЮ ПРЕДСЕРДИЙ И ЖЕЛУДОЧКА ЧЕРЕПАХИ (*Testudo horsfieldi*)

Многочисленными исследованиями выявлены глубокие различия в электромеханическом сопряжении в миокарде животных, стоящих на разных ступенях эволюционного развития [1—4]. Это проявляется в характере электрогенеза, временных соотношениях электрической и механической активности, степени развитости и организации внутриклеточных контрактильных структур и т. д. [4—8]. Неоднородны и функциональные свойства предсердий и желудочков одного животного [9—11]. Однако сопоставить электромеханическое сопряжение в различных отделах миокарда трудно, так как связь возбуждение — сокращение или другие аспекты функционирования изучали на каком-то одном из отделов сердца и в разных экспериментальных условиях (ионный состав среды, температура, частота раздражения и т. д.). Специальные исследования по сопоставлению физиологических свойств предсердий и желудочков, особенно электромеханического сопряжения, отсутствуют.

В результате предварительных поисков нами была принята рабочая гипотеза, что наблюдающиеся отличия в реакциях предсердий и желудочка (помимо прочих факторов) могут быть обусловлены содержанием эндогенных катехоламинов. Мы предположили, что катехоламины, влияя на проницаемость поверхностей мембраны, степень связывания кальция в элементах саркоплазматического ретикулюма, а также на обменные процессы, являются модификатором электромеханической связи в миокарде.

Сердце по способности связывания катехоламинов стоит на одном из первых мест в организме [12, 13]. Концентрация катехоламинов в сердечной ткани зависит от захвата их из циркулирующей крови, синтеза и выделения из симпатических нервных окончаний и от экстранейронального отложения [13—15]. В последнее время появились сведения о связи между симпатической иннервацией отделов сердца и содержанием в них катехоламинов [16, 17]. Так, в сердце куриного эмбриона появление норадреналина происходит на шестой день, что по времени совпадает с установлением его симпатической иннервации

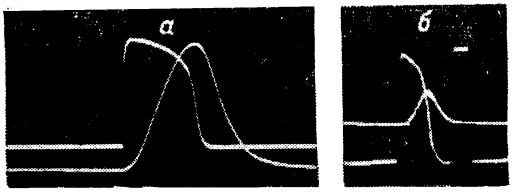


Рис. 1. Потенциал действия и сокращение желудочка (*а*) и предсердия (*б*). Калибровка 110 *мв*, отметка времени 100 *мсек*.

[18]. Симпатическая гипериннервация органа, вызываемая введением фактора роста нервной ткани (ФРНТ), резко повышает концентрацию катехоламинов в органах [19], при этом снижается чувствительность последних к действию норадреналина. Снижение содержания норадреналина в органах закономерно сопровождается повышением их чувствительности к катехоламинам [20]. Однако, несмотря на многочисленные исследования, значение катехоламинов в деятельности миокарда остается неясным. Не ясны точка приложения их действия в клетке, ионные процессы, через которые они опосредуют свое влияние на сократительные элементы клетки, возможное значение в электромеханическом сопряжении.

В настоящей работе предпринята попытка выяснить роль адреналина в регуляции электромеханического сопряжения ритмически работающего миокарда предсердий и желудочка черепахи. Основное внимание обращали на изучение зависимости силы сокращений от ритма сердцебиений, так как установлено [20—22], что частота сердцебиений — важный регулятор сократимости и модулятор электромеханического сопряжения.

Сердце черепахи, в отличие от большинства сердец других животных, имеющих в основном симпатическую иннервацию предсердий и венозного синуса, обладает богатой симпатической иннервацией желудочка. Это предполагает большую концентрацию катехоламинов в нем.

Различия между предсердиями и желудочком выявляются даже при сопоставлении временного хода одиночных сокращений и потенциалов действия, взятых на редкой частоте стимуляции (рис. 1). В желудочках длительность потенциала действия составляет 1,0—1,2 *сек*, в предсердиях — приблизительно в 2—3 раза короче. Потенциалы действия по форме в этих отделах подобны и напоминают таковую в желудочке лягушки [23]: имеется четко выраженная фаза плато, переходящая в фазу конечной реполяризации. В то же время по форме потенциалы действия в предсердиях и желудочке черепахи отличаются от сердец некоторых млекопитающих, у которых в предсердиях фаза плато выражена нечетко, а реполяризация падает почти по экспоненциальной зависимости [24, 25].

Длительность сокращения в предсердиях по времени составляет 1,1—1,2 *сек*, в желудочке — 1,8—2,0 *сек*. Максимальная

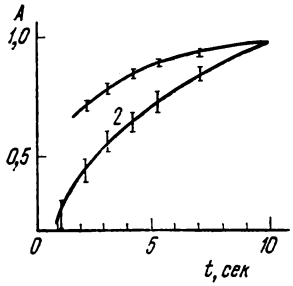


Рис. 2. Зависимость амплитуды сокращений желудочка (*1*) и предсердия (*2*) от периода стимуляции. За 1 принята амплитуда при t=10 *сек*.

скорость укорочения выше в предсердиях, чем в желудочке, тогда как скорость расслабления выше в последнем. Отношение фазы развития напряжения к фазе расслабления в предсердиях составляет 0,4—0,45, в желудочке 1,1—1,2. Видимо, скорость связывания (или выталкивания из клетки) кальция выше в желудочке, чем в предсердиях. В этой связи следует упомянуть, что адреналин ускоряет расслабление в клетках миокарда амфибий [26] и млекопитающих [27].

Существенных различий между правым и левым предсердиями в отношении временных характеристик потенциалов действий и сокращений не выявлено, хотя утверждение о полном отсутствии таких различий преждевременно. В дальнейшем мы будем говорить «предсердие», понимая при этом условность нашей экстраполяции. Большинство опытов проделано на левом предсердии ввиду того, что в правом труднее избавиться от спонтанной активности.

Характерное свойство сердца в целом и разных его отделов — зависимость силы сокращений от частоты сердцебиений [27, 28]. В предсердии и желудочке черепахи с уменьшением периода раздражения (от 10 до 1,5—0,8 *сек*) сила сокращений падает (рис. 2). Однако на этом аналогия кончается. В предсердиях зависимость силы сокращений от частоты более крутая. Различия на всех периодах статистически достоверны. Частотнозависимую инотропию можно объяснить двояко. Во-первых, падение силы сокращений обусловлено, видимо, укорочением длительности потенциалов действия с увеличением частоты стимуляции [29—30]. Аналогичное явление обнаружено нами в желудочке сердца черепахи (рис. 3). Укороченным потенциалам действия соответствует меньший заброс (или высвобождение) ионов кальция. Во-вторых, можно предположить, что при возбуждении частично расходуются запасы активатора, которые пополняются во время диастолы. Кинетические особенности хроноинотропии свидетельствуют, что в желудочке черепахи «работает» первый механизм, тогда как в предсердиях — второй (и только при очень малых периодах раздражения — дополнительно первый). Это положение основано на следующем.

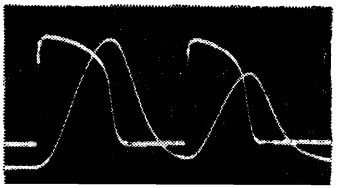


Рис. 3. Изменение потенциала действия и сокращения желудочка при переходе с малой частоты раздражения на большую.

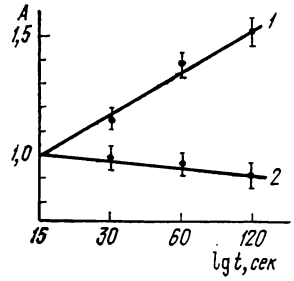


Рис. 4. Зависимость амплитуды первого сокращения предсердия (*1*) и желудочка (*2*) от предшествующей паузы при периоде раздражения 2 *сек*. За 1 принята амплитуда при $t=15$ *сек*.

В предсердиях длительность потенциала действия значительно короче, чем в желудочке. Укороченным потенциалам действия соответствует меньшая зона последействия [31], т. е. меньшее влияние предшествующей электрической активности на последующую. Следовательно, сужением потенциала действия можно объяснить уменьшение сократимости только при достаточно больших частотах стимуляции.

Это подтверждается данными, которые получены при изучении зависимости силы первого сокращения после предшествующих длительных пауз (рис. 4.) В предсердиях с увеличением длительности паузы сократимость возрастает (потенциация покоем), в желудочке — падает. Об уменьшении запасов активатора в предсердиях после возбуждения и пополнении его количества в диастоле свидетельствует и переходный процесс, возникающий в процессе стимуляции после остановки сердца. Здесь сила сокращения с увеличением номера раздражающего стимула уменьшается (отрицательная лестница). При том же периоде стимуляции, но с увеличением длительности паузы происходит как бы параллельный сдвиг кривых. Стационарный уровень устанавливается тем позже, чем больше была пауза между сериями. В желудочке наблюдается обратная картина. Хотя и здесь при периодах, меньших 10 *сек*, отмечается «нисходящая» лестница, но ход ее иной, чем в предсердиях,— только второе сокращение в переходном процессе меньше первого, а затем, как правило, сила сокращений очень медленно (часто в колебательном режиме) возрастает вплоть до установления стационарного уровня.

Добавление адреналина (10^{-5}—10^{-6} *г/мл*) не меняло ни силу, ни временные характеристики сокращений (увеличение силы сокращений не превышало 5—10%). Не изменялись и хроноинотропные феномены (желудочек черепахи не чувствителен к адреналину). С другой стороны, адреналин (10^{-6} *г/мл*) резко активирует сократимость предсердий (сила сокращений часто возрастала в 2—3 раза). Длительность сокращений незначительно уменьшалась, однако в соотношении фаз сокращения отмечаются существенные сдвиги.

В нормальном растворе длительность напряжения и расслабления соответственно 0,3—0,32 и 0,8 *сек*, при добавлении адреналина соотношение время напряжения — время расслабления приближается к 0,9—1,0 за счет укорочения времени расслабления и незначительного удлинения развития напряжения. Направленность изменений такова, как будто бы предсердие «прибли-

жается» к желудочкам, где соотношение напряжение — расслабление составляет 1,1—1,2.

Если в желудочке адреналин не влияет на частотно-зависимую инотропию, то в предсердиях он изменяет связь сила — частота и ход переходных процессов. Лестница становится менее крутой, что особенно выражено при больших периодах стимуляции. Как и в желудочке, большая разница имеется между первым и вторым сокращением, впоследствии кривая сглаживается. Добавление адреналина к предсердиям уменьшает потенциацию покоем. Переходный процесс начинает напоминать желудочковый и в том отношении, что появляется переход нисходящей лестницы в восходящую (особенно при больших периодах стимуляции). Можно утверждать, что обработка адреналином предсердия уменьшает разницу между предсердиями и желудочком.

Резерпинизация желудочка (2 *мМ*), ведущая к быстрому расходованию запасов эндогенных катехоламинов [32—34], показала, что амплитуда сокращений уменьшается и наряду с этим изменяется соотношение фаз мышечного сокращения: соотношение время напряжения — время расслабления приближается к 0,5 (желудочек напоминает предсердие). Таким образом, приведенные данные указывают, что различия между предсердиями и желудочком черепахи могут быть обусловлены содержанием эндогенных катехоламинов, которые модулируют электромеханическое сопряжение ритмически работающего миокарда.

ЛИТЕРАТУРА

1. M. Goto, J. Kimoto, J. Kato. Jap. J. Physiol., 1971, **21**, 159—174.
2. P. Bravený, J. Sumbera. Pflügers Arch., 1970, **319**, 36—48.
3. P. Bravený, J. Sumbera. Cardiovasc. Res. Suppl., 1971, **1**, 109—111.
4. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков. Успехи физиол. наук, 1971, **2**, 4, 3.
5. R. Hirakow. Amer. J. Cardiol., 1970, **25**, 195—209.
6. C. M. Brooks, B. F. Hoffman, E. E. Suckling. Excitability of the heart. N.-Y., Grune Stratton, 1955.
7. Б. Гоффман, П. Крейнфилд. Электрофизиология сердца. М., ИЛ, 1962.
8. P. Mazel, W. C. Hollend. Circul. Res., 1958, **6**, 684—688.
9. B. F. Hoffman, E. E. Suckling. Amer. J. Physiol., 1953, **179**, 123—130.
10. B. F. Hoffman, E. E. Suckling. Amer. J. Physiol., 1956, **186**, 317—324.
11. S. Weidmann. Electrophysiologie der Herzmuskelfaser. Bern, 1956.
12. W. Raab, W. Gigee. Circul. Res., 1955, **3**, 553.
13. J. Axelrod, L. J. Whitby, G. Hertting, I. L. Kopin. Circul. Res., 1961, **9**, 175.
14. S. Rossel, J. Axelrod, I. Kopin. Nature, 1964, **201**, 301.
15. S. Hukovic. Muscholl Arch. exp. Pathol. u. Pharmakol., 1962, **244**, 81.
16. L. L. Iversen, J. Glowinski, J. Axelrod. J. Pharmacol., 1966, **151**, 273.
17. M. Goodall. Acta physiol. Scand., 1951, **24**, suppl. 85.
18. В. А. Говырин, Г. Р. Леонтьева. Адреналин и норадреналин. М., «Наука», 1964, 72.

19. Н. А. Кузмичева, В. М. Родионов, И. М. Родионов, Г. У. Большакова, Г. И. Лукичева, В. И. Меньшиков, Е. П. Фролов, В. И. Ярыгин. Физиологическая роль медиаторов. Казань, 1972, 123—125.
20. U. Trendelenburg. Pharmacol. Rev., 1963, **15**, 225.
21. J. R. Blinks, J. J. Koch-Weser. J. Pharmacol. Exper. Ther., 1961, **134**, 373—389.
22. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков, В. М. Шевелев. Физиол. ж., 1972, 57, 223.
23. L. A. Woodbury, H. H. Heiht, A. R. Ckristopherson. Amer. J. Physiol., 1951, **164**, 307—318.
24. G. W. Maiwood, S. L. Lee. Science, 1969, **166**, 396.
25. J. L. Webb. Science, 1956, **124**, 1209—1210.
26. W. Y. Nayler, D. McInnes, V. Chipperfild, J. Carson, J. Kurtz. J. Molecular. Cell. Cardiol., 1970, **1**, 307.
27. M. Morad. Science, 1969, **166**, 505.
28. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков, А. Т. Кеткин, И. П. Плеханов. Регуляторные механизмы клеток гладкой мускулатуры и миокарда. Л., «Наука», 1971.
29. В. С. Мархасин. Частота стимуляции и медиаторы в регуляции электрической активности волокон миокарда желудочка. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1968.
30. W. Trautwein, J. Dudel. Pflüg. Arch. gen. Physiol., 1954, **260**, 24—39.
31. В. Я. Изаков. Исследование электрической активности клеток миокарда. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1968.
32. U. S. Euler, F. Lishajko. Acta physiol. Scand., 1961, **51**, 193.
33. R. F. Furchgott, S. M. Kirpekar. Proc. 1-st Intern. Pharmac. Meet., 1963, **7**, 339.
34. Б. И. Манухин. Физиология адренорецепторов. М., «Наука», 1968.

✦✦✦

АКАДЕМИЯ НАУК СССР·УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА 1974

В. В. ГОРБАЧЕВ

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ХРОНОИНОТРОПИИ В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ МИОКАРДА

Рядом исследований показано, что ритм сердечных сокращений — важный фактор регуляции сократимости миокарда, который определяет характер действия многих фармакологических веществ [1—4]. Зависимость силы сокращений от частоты сердцебиений получила название хроноинотропии [5]. Однако до сих пор не изучены хроноинотропные характеристики в различных отделах сердца одного животного, хотя имеется достаточно большое количество исследований свойств различных камер порознь. Сопоставить данные экспериментов разных авторов, проведенных в различных условиях (состав среды, температура, оксигенация, состояние животного и др.), трудно — параметры хроноинотропии очень чувствительны к некоторым из них.

Вопрос о возможных различиях в зависимости силы сокращений от частоты сердцебиений был поставлен нами в связи с тем, что в настоящее время накапливаются данные об ионных, «метаболических», морфологических особенностях предсердной и желудочковой ткани. Так, концентрация внутриклеточного натрия в пересчете на воду волокна выше в предсердиях, чем в желудочках, тогда как концентрация калия на 1 *л* внутриклеточной воды выше в желудочках, чем в предсердиях [6, 7]. По некоторым данным [8], правое предсердие буйвола содержит меньше калия и больше натрия, чем левое; аналогичная картина отмечается и в желудочках, но различия между последними невелики. В сердце крыс, кошек, собак и кроликов коэффициент отношения калия к натрию для правого и левого предсердий 0,66 и 1,2 соответственно [9]. Кроме того, сердца имеют различные скорости обмена катионов с внешней средой [10, 11]. Вероятно, различия в скоростях обмена катионного фонда значительно зависят от внутриклеточной организации.

Электронномикроскопическими и гистохимическими исследованиями последних лет показано существенное различие в тонкой структурной организации клеток сократительного миокарда предсердий и желудочков [12]. Ряд данных [13—14] свидетельствует, что метаболизм в предсердиях и желудочках различен. Так, показано, что имеется существенная разница в поглощении

глюкозы предсердиями и желудочками кролика — на атриальных срезах оно выше, чем в желудочках. В предсердиях более высокая скорость окисления глюкозы, но продукция лактата выше в желудочках. Расщепление гликогена и глюкозы наиболее выражено в левом предсердии. Самая низкая скорость расщепления глюкозы отмечается в правом предсердии. Показана также разница в поглощении кислорода между разными камерами сердца [15]. На основании приведенных данных можно было априорно полагать, что указанные отличия могут быть причиной неодинаковой реакции предсердий и желудочков в ответ на изменение частоты сердцебиений.

Объектом исследования являлся рабочий миокард правого и левого желудочков (полоски весом 15—20 *мг*), правого и левого предсердий (полоски весом 10—15 *мг*) небеременных крыс весом 170—240 *г*. Препарат помещался в рабочую камеру с проточным раствором следующего состава, в *мМ/л*: NaCl 137; KCl 2,7; $NaHCO_3$ 12,0; NaH_2PO_4 1,8; $CaCl_2$ 2,7; $MgCl_2$ 0,5; глюкоза — 5,5; pH 7,4, температура 25° С. Аэрацию раствора производили смесью O_2+CO_2. Механическую активность регистрировали механотроном в изометрическом режиме, электрическую отводили внутриклеточными микроэлектродами. После 35—40-минутного периода «стабилизации» препарата при редкой частоте стимуляции (0,2 *сек*$^{-1}$) начинали эксперимент. Критерием «стабилизации» препарата являлось постоянство амплитуды сокращений. Для изучения хроноинотропных характеристик различных отделов сердца мы использовали длительную стимуляцию на различных частотах раздражения, метод экстрасистолического возбуждения и изучали влияние предшествующей паузы на сократительную активность.

Различия между отделами выявляются уже при сопоставлении временных характеристик сокращения — длительность сокращения в желудочках в 2—3 раза выше, чем в предсердиях. Обращает на себя внимание, что время укорочения меньше времени расслабления. При пересчете силы, развиваемой препаратом на единицу веса, оказалось, что наибольшая сила приходится на правое предсердие, наименьшая — на левый желудочек. Различие между правым желудочком и правым предсердием статистически достоверно — в предсердии эта величина больше.

Анализ установившихся значений амплитуды сокращений при различных ритмах сердцебиений показал, что во всех отделах сердца крысы она уменьшается с ростом частоты раздражения (рис. 1). Хотя форма связи одинакова в предсердиях и желудочках правого и левого сердца, следует отметить, что наиболее крутая зависимость силы сокращения от частоты отмечается в правом желудочке, а наименьшая — в левом предсердии. С ростом частоты (начиная с 30 *уд/мин*) одновременно с падением амплитуды одиночных сокращений растет остаточное диастолическое напряжение, которое наиболее выражено в же-

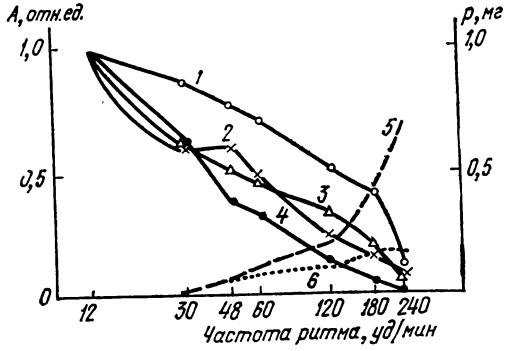


Рис. 1. Зависимость стационарных значений амплитуды сокращений от ритма сердцебиений.

1 — левое предсердие; *2* — правое предсердие; *3* — левый желудочек; *4* — правый желудочек; *5* — диастолическое напряжение желудочков; *6* — диастолическое напряжение предсердий.

лудочках (различий между правым и левым желудочками в этом отношении не выявлено). Диастолическое напряжение на этом уровне сохраняется до тех пор, пока продолжается стимуляция на данной частоте (нарастание его после паузы происходит достаточно быстро, после выключения стимуляции «тонус» медленно возвращается к исходному уровню). Характерно, что и в желудочках, и в предсердиях наиболее круто диастолическое напряжение увеличивается при ритме выше 120 *уд/мин* (частота сердцебиений у крыс перед опытом лежит в этом диапазоне). Следует отметить, что в предсердиях максимальное значение тонуса наблюдается при частоте сердцебиений 180 *уд/мин*. В желудочках с ростом частоты (в исследованном диапазоне) тонус неуклонно растет.

При очень высоких частотах раздражения (выше 300 *уд/мин*) появляется двухтактная альтернация сокращений. Это коррелирует с альтернацией по амплитуде потенциала действия (рис. 2). Менее всего альтернация выражена в препаратах правого желудочка, наиболее четко — в левом предсердии и левом желудочке (в последнем она начинается при ритмах 180 *уд/мин*). При ритме раздражения выше 240 *уд/мин* механический ответ миокарда во всех препаратах напоминает картину мелкозубчатого тетануса скелетной мышцы.

Одновременно с уменьшением амплитуды сокращений при увеличении частоты стимуляции происходит укорочение времени развития напряжения (тогда как длительность расслабления практически мало зависит от частоты). Однако длительность укорочения изменяется меньше, чем амплитуда сокращения, так что скорость развития напряжения с ростом частоты уменьшается. Указанные изменения наблюдаются во всех отделах сердца, но изменение длительности наиболее выражено в левом желудочке. Укорочение длительности сокращений с ростом частоты сердцебиений — общее свойство миокарда многих животных [16]. Обычно оно связано с уменьшением длительности потенциалов действия. Это же наблюдается и в сердце крысы, но

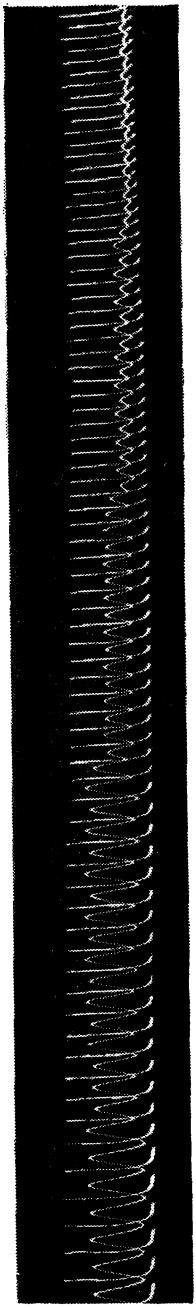


Рис. 2. Сила сокращений и амплитуда потенциалов действия при высоких ритмах сердцебиений (правый желудочек).

изменения длительности потенциалов действия невелики. С увеличением частоты сердцебиений во всех отделах сердца крысы уменьшается амплитуда потенциалов действия (падение овершута при изменении частоты до 240 *уд/мин* составляет 10—15 *мв*); в предсердиях это происходит слабее по сравнению с желудочками (в том же диапазоне частот изменение овершута редко превышало несколько милливольт). Создается впечатление, что амплитуда потенциала действия не играет в сердце крысы такой регулирующей роли в отношении сокращений при изменении частоты сердцебиений, как в сердцах других животных [17].

Метод экстрасистолической стимуляции дает более полное представление о следовом процессе после одиночного сокращения. В наших экспериментах экстрасистолическое раздражение наносили на фоне постоянной частоты 0,2 *сек*$^{-1}$. Во избежание возможных кумулятивных эффектов после каждого внеочередного раздражения выдерживался период, за который амплитуда сокращений на фоновой частоте возвращалась к исходному уровню. Сокращение, предшествующее экстрасистоле, называлось «фоновым»; вызванное внеочередным стимулом — «тестирующим».

Как видно из рис. 3, при малых расстояниях между тестирующим и фоновым импульсами второй потенциал действия не ведет к генерации дополнительного механического напряжения. По характеру механического ответа оба предсердия ведут себя одинаково (кривые *1* и *2*) — по мере приближения тестирующего стимула к фоновому сила изометрического напряжения, развиваемого препаратами, падает почти по экспоненциальной зависимости. Изменение электрического ответа выражается в падении амплитуды тестирующего потенциала действия при периоде между стимулами менее 150 *мсек*. В этом случае на тестирующий потенциал действия сокращение не только не возникает, но и не изменяется характер фонового механического ответа. В желудочках (кривые *3* и *4*) характер механического

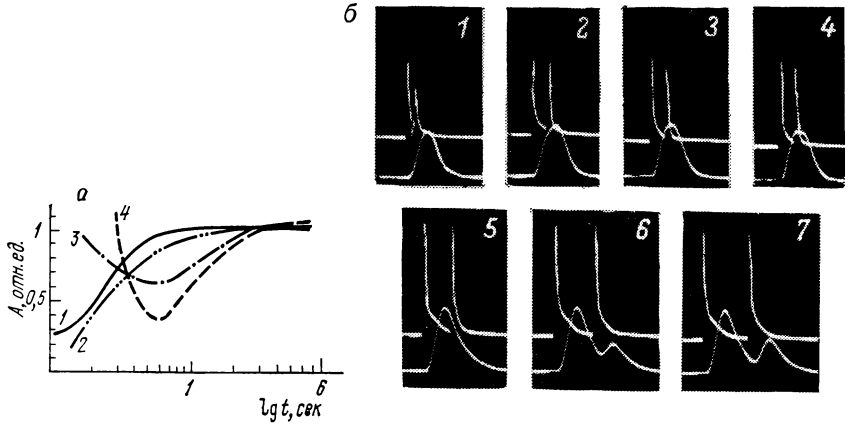


Рис. 3. Следовой процесс после одиночного возбуждения, выявленный методом экстрасистолии в различных отделах сердца. Амплитуда фонового потенциала действия 100 *мв*. Отметка времени 100 *мсек*.

а — изменение амплитуды тестирующего сокращения по отношению к фоновому: *1* — левое предсердие, *2* — правое предсердие, *3* — правый желудочек, *4* — левый желудочек; *б* — изменение амплитуды тестирующего потенциала действия: *1—4* — желудочек (развертка 10 *мм/сек*), *5—7* — предсердие (развертка 25 *мм/сек*).

ответа описывается кривой с экстремумом, причем при периоде между стимулами менее 600 *мсек* производная меняет знак. При 200—250 *мсек* амплитуда тестирующего потенциала действия уменьшается примерно на 10% по отношению к амплитуде фонового. Хотя дополнительное сокращение в этом случае не возникает, но фоновое удлиняется. При периоде между стимулами 200 *мсек* амплитуда тестирующего потенциала действия уменьшается, однако на фоне возникшего механического ответа появляется дополнительная волна напряжения. При 150 *мсек* амплитуда тестирующего потенциала действия значительно уменьшается (иногда до 50% по отношению к амплитуде фонового потенциала действия), а механического ответа не возникает.

Различия между предсердиями и желудочками выявлены в результате изучения переходных процессов, возникающих после остановки сердца (рис. 4). Во всех отделах сердца после паузы сила сокращений постепенно падает и устанавливается на стационарном уровне на 8—20-м сокращении (в зависимости от частоты стимуляции). Характер переходных процессов в предсердиях и желудочках значительно отличается — лестница круче в желудочках. Вычисление в логарифмической шкале коэффициента регрессии для ритма 0,2 *сек*$^{-1}$ дало значения для правого предсердия 0,0091±0,0031, для правого желудочка 0,026±0,004 (различие статистически достоверно); для левого предсердия и желудочка соответственно 0,0186±0,0027 и 0,417±±0,006. Потенциация покоем в сердце крысы выражена слабо. Амплитуда потенциалов действия во всех отделах сердца не

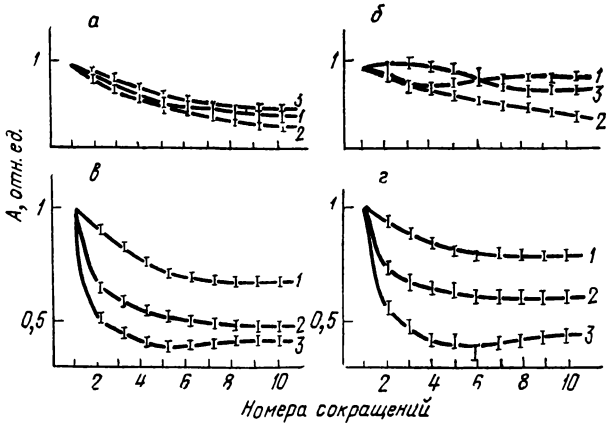


Рис. 4. Временной ход «обратной лестницы» в левом и правом предсердиях (*а, в*), в левом и правом желудочках (*б, г*).

Ритм сердцебиений, *сек*$^{-1}$: *1* — 0,2; *2* — 0,8; *3* — 2,0.

зависит от предшествующей паузы. Обработка экспериментального материала показала, что характер обратной лестницы на данной частоте не зависит от длительности покоя, но зависит от частоты стимуляции. В предсердиях различия в ходе обратной лестницы при разных ритмах сердцебиений не достоверны. Следует отметить, что при всех ритмах сердцебиений для достижения силы сокращений, которая была до паузы, требуется значительное время.

Таким образом, приведенные результаты свидетельствуют о существенных различиях в хроноинотропии в предсердиях и желудочках крысы. В дальнейших экспериментах предстоит выяснить ионные механизмы, лежащие в основе этого явления.

ЛИТЕРАТУРА

1. B. F. Hoffman, J. J. Kelly. Amer. J. Physiol., 1959, **197**, 1199—1204.
2. J. Koch-Weser, J. Blinks. Pharmacol. Rev., 1963, **15**, 601—652.
3. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков, А. Т. Кеткин, И. П. Плеханов. Регуляторные механизмы клеток гладкой мускулатуры и миокарда. М., «Наука», 1971.
4. Е. Ф. Элик. Материалы VI Уральской конференции физиологов и биохимиков. Тюмень, 1969, 193.
5. М. Г. Удельнов. Нервная регуляция сердца. М., Изд-во МГУ, 1961.
6. J. A. Barclay, E. J. Hamley, H. Houghton. Circul. Res., 1960, **8**, 1264—1267.
7. В. А. Сальманович. Физиология и патология сердечно-сосудистой системы. М., 1966.
8. F. Davies, R. E. Davies, E. T. B. Francis, R. Whittam. J. Physiol., 1952, **118**, 276—281.
9. В. С. Сальманович. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1962, **11**, 58—63.
10. В. И. Милько, В. М. Щепотин. Вопросы патологической физиологии. Киев, «Наукова думка», 1963, 176—180.

11. В. И. Милько, Б. М. Щепотин. Актуальные проблемы кардиологии. Киев, Изд-во АН УССР, 1965.
12. R. Hirakow. Amer. J. Cardiol., 1970, **25**, 195—203.
13. S. Matsumoto, T. Kishii, Y. Ito, T. Kobayashi. Jap. Heart. J., 1962, **3**, 55.
14. R. E. Belliveau, B. G. Covino. Arch. Int. Pharmacodyn., 1969, **180**, 2.
15. L. Szekeres, G. Licher. Acta Physiol. Acad. Scient. Hung., 1962, **21**, 243.
16. P. Bravený. Fac. Univ. Brun. Ser. Med., 1959, **32**, 193.
17. P. Bravený. Arch. Int. Physiol., 1964, **72**, 553—566.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР·УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА 1974

О. А. ЖИГАЛЬСКИЙ

О ВЗАИМООТНОШЕНИИ ГОМЕОМЕТРИЧЕСКОЙ И ГЕТЕРОМЕТРИЧЕСКОЙ СИСТЕМ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА

Согласно классификации Митчелла и Сарнофф [1], органные системы регуляции сократимости миокарда делятся на два класса: гомеометрические и гетерометрические. В основе гетерометрического механизма лежит зависимость силы сокращений от исходной длины мышечного волокна — феномен Франка — Старлинга [2—6]. Гомеометрическая регуляция управляет силой сокращений при постоянной длине мышечного волокна. Важное значение имеет хроноинотропная система — управление силой сокращения через изменение ритма сердцебиений [7—9]. Как сейчас установлено, зависимость силы сокращений от частоты сердцебиений — фундаментальное свойство всех отделов миокарда [10—14]. Хроноинотропные эффекты проявляются, в частности, в том, что после остановки сердца сила сокращений при очередной стимуляции изменяется постепенно (положительная лестница Боудича или нисходящая Вудворса). Указанные феномены отражают динамические свойства хроноинотропной системы, а параметры этого переходного процесса — ход следовых процессов, возникающих уже после одиночного возбуждения [14—16].

С точки зрения теории регулирования статическая характеристика хроноинотропной системы — зависимость силы стационарных сокращений от частоты (периода) стимуляции. Следовые процессы в миокарде при его ритмической деятельности, связаны с явлениями, протекающими у внутренней поверхности плазматической мембраны или в аппарате электромеханического сопряжения. Обусловлены они динамикой изменения внутриклеточных концентраций ионов, управляющих ионной проницаемостью и высвобождением ионов кальция из внутриклеточных мест связывания при очередном возбуждении [17]. Гетерометрический механизм действует, вероятно, на уровне миофибрилл, поскольку на глицеринизированных волокнах показано, что зависимость силы сокращений от степени растяжения сохраняется, как и основные соотношения Хилла [18].

Цель настоящей работы выяснить, являются ли две основные клеточные системы регулирования сократимости миокар-

да независимыми контурами, или при их совместном влиянии проявляются эффекты взаимодействия. Более конкретно — выяснить влияние растяжения на статические и динамические характеристики хроноинотропной системы регулирования.

Опыты проведены на изолированных полосках миокарда желудочка лягушки *Rana ridibunda,* которые находились в нормальном растворе. Механическую активность регистрировали в изометрическом режиме. Препарат раздражали сверхпороговыми импульсами длительностью 2 *мсек,* частота раздражения от 0,1 до 0,7 *сек*$^{-1}$. Растяжение задавалось специально сконструированным устройством, которое позволяет изменять растягивающую силу в любую фазу сердечного цикла. В нескольких экспериментах с помощью микроэлектродной техники изучали влияние растяжения на параметры внутриклеточно-регистрируемых потенциалов действия (ПД).

ВЛИЯНИЕ РАСТЯЖЕНИЯ НА ПАРАМЕТРЫ ОДИНОЧНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

Для выяснения вопроса о влиянии степени растяжения препарата на его механический ответ была избрана следующая последовательность проведения эксперимента. Вначале подбиралась такая частота стимуляции, при которой предшествующее сокращение не сказывалось значимым образом на последующем. Стимуляция продолжалась в течение 20—30 *мин,* за это время сокращения достигали стационарного уровня. Степень растяжения задавалась равной 300 *мг* (фоновое растяжение). Затем растяжение последовательно увеличивали на 100—200 *мг* (в зависимости от диаметра препарата). При даче ступенчатого растяжения возникал переходный процесс, который полностью заканчивался за 2—3 *мин.* После этого регистрировали сокращения. Затем процедуру повторяли при другой степени растяжения.

Наиболее характерные эффекты растяжения — возрастание амплитуды изометрических сокращений, увеличение их длительности, изменение скорости укорочения и расслабления. Суперпозиция сокращений для разных степеней растяжения представлена на рис. 1. Длительность сокращений в основном увеличивается за счет фазы расслабления. Общая зависимость силы одиночных сокращений от растягивающей силы показана на рис. 2. Видно, что кривая имеет *S*-образный вид и состоит из трех участков: участок малых приращений, линейный участок, зона насыщения. Эта характеристика снималась при последовательном увеличении растяжения. Дальнейшее увеличение нагрузки (для наших условий выше 1 *г*) снижает силу сокращений, причем исследования, проведенные в обратном порядке, т. е. от большей силы к меньшей, дают кривую, не совпадающую с начальной, т. е. наблюдается гистерезис. Он вы-

является при растяжениях 1,0—1,5 *г* и связан, вероятно, с перерастяжением препарата (наличие остаточной деформации). Поэтому в последующем применяли только тот диапазон растяжений, в котором видимых явлений гистерезиса не наблюдали.

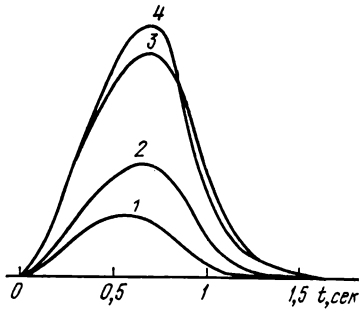


Рис. 1. Суперпозиция изометрических сокращений при различных растяжениях.
1 — 300, *2* — 400, *3* — 700, *4* — 900 *мг*.

В большинстве опытов (15 из 20) в диапазоне растяжений до 1 *г* регистрировались все участки кривой. В остальных случаях получалась или только линейная зависимость, либо последняя в сочетании с зоной насыщения, или кривая начиналась в области малых приращений и затем переходила в линейную область. Эти различия можно объяснить невозможностью строгой стандартизации полоски по длине, вариациями геометрии хода волокон и т. д.

Для объяснения *S*-образной характеристики зависимости силы сокращений от степени растяжения, с нашей точки зрения, необходимо учитывать два момента:

1. Изменение пространственного соотношения между тонкими и толстыми нитями под действием растяжения, вследствие чего увеличивается или уменьшается число мест, доступных для активации ионами кальция.

2. Изменение концентрации ионизированного кальция внутри клетки, поступающего при возбуждении из внеклеточного раствора или высвобождающегося из внутриклеточных мест связывания. Это может происходить за счет влияния растяжения на кальциевую проницаемость сарколеммы либо за счет изменений степени связывания кальция в элементах саркоплазматического ретикулюма (СР) или его эквивалентах (внутренняя поверхность мембраны в миокарде холоднокровных).

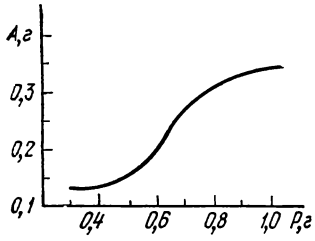


Рис. 2. Зависимость максимальной силы сокращения от степени растяжения.

Если первый момент не нуждается в дополнительных доказательствах, то влияние растяжения на концентрацию свободного кальция в миоплазме проблематично. Ряд исследований свидетельствует, что внутриклеточно-регистрируемые потенциалы действия не изменяются в широком диапазоне прикладываемых растяжений. Однако недавно было показано [20, 21], что изменение нагрузки при ритмической деятельности миокарда значимым образом сказывается на параметрах ПД.

В наших экспериментах потенциалы действия регистрировались, когда растяжение действовало или во время диастолы, или во время ПД, либо задавалось постоянное длительное растяжение. Во всех случаях увеличение силы сокращений не сопровождалось изменениями ПД. Рывки растяжения обычно препятствуют микроэлектродной регистрации (кончик микроэлектрода ломается, либо выходит из клетки). Брали только те случаи, когда удавалось записать влияние растяжения на ПД одной клетки.

Неизменность потенциалов действия при вариации степени растяжения, вероятно, свидетельствует о том, что растяжение в исследуемом диапазоне не влияет на проницаемость поверхностной мембраны к ионам, участвующим в генерации потенциалов действия. Это должно относиться и к ионам кальция, которые обусловливают значительную часть фазы плато. Отсюда следует, что растяжение, по-видимому, значимо не изменяет кальциевую проницаемость сарколеммы.

ВЛИЯНИЕ РАСТЯЖЕНИЯ НА СТАТИЧЕСКИЕ И ДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ХРОНОИНОТРОПИИ

На рис. 3, *а* показана зависимость установившейся силы сокращений от периода стимуляции для разных степеней растяжения. Каждая кривая получена по 8—10 точкам и представляет собой статическую характеристику хроноинотропии. Кривые имеют экстремальный характер, причем увеличение степени растяжения сдвигает кривые вверх вдоль оси силы. Ход кривых при этом не меняется. Для исследования растяжения на динамические характеристики хроноинотропии изучался переходный процесс, возникающий после остановки сердца (лестница Боудича) (рис. 3, *б*).

Вопрос о взаимодействии двух указанных систем — хроно-

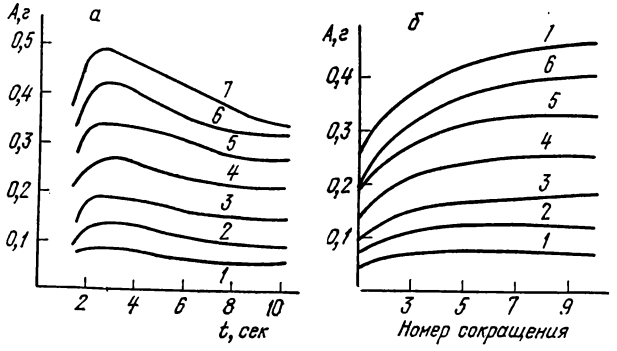


Рис. 3. Статические (*а*) и переходные (*б*) характеристики хроноинотропии в зависимости от растяжения.

Сила растяжения, г: *1* — фон; *2* — 0,1; *3* — 0,2; *4* — 0,3; *5* — 0,4; *6* — 0,5; *7* — 0,6.

инотропной и гетерометрической — сводится к выяснению свойств функции $f\ (p,\ n,\ T)$, где p — дистолическое растяжение, n — номер сокращения в переходном процессе, T — период стимуляции, f — максимальная сила сокращения и, в частности, ее аддитивности.

Если

$$f\,(p,\ n,\ T) = \varphi_1\,(n) + \varphi_2\,(p), \tag{1}$$

то хроноинотропная и гетерометрическая системы — два независимых контура в цепи регулирования сократимости миокарда. Если опытные значения $f\ (n,\ p,\ T)$ статистически значимо лучше аппроксимируются видом функции

$$f\,(n,\ p)_T = \varphi_1\,(n) + \varphi_2\,(p) + \varphi_3\,(n,\ p), \tag{2}$$

то контуры управления взаимозависимы. Иными словами, если влияние растяжения на лестницу Боудича связано лишь с изменением масштаба функции $f\ (n)_T$, то растяжение не влияет на следовые процессы, обусловливающие потенциацию сокращений; если изменение степени растяжения приводит к преобразованию функции, то можно утверждать, что, помимо раздельного влияния на силу сокращений гетерометрической и хроноинотропной систем, существует еще одна цепь, через которую происходит изменение характеристик под влиянием растяжения. Поскольку вопрос о соотношении хроноинотропной и гетерометрической систем принципиален для понимания природы клеточных саморегуляторных процессов, мы использовали два различных по своему принципу метода обработки кривых:

1. Описание исходных данных уравнениями множественной регрессии.

2. Вычисление автокорреляционных функций переходного процесса.

Анализ совокупности переходных характеристик с помощью уравнений множественной регрессии

Исходные данные описывались двумя уравнениями:

$$f_1 = (p,\ n) = a_0 + a_1 n + a_2 n^2 + a_3 p + a_4 p^2, \tag{3}$$

$$f_2 = (p,\ n) = a'_0 + a'_1 n + a'_2 n^2 + a'_3 p + a'_4 p^2 + a_5 pn. \tag{4}$$

Функции вычисляли для каждого периода стимуляции и определяли значимость коэффициента a_5. Увеличение порядка уравнений, т. е. введение $a_6 n^3 + a_7 p^3$, хотя и улучшало аппроксимацию, но не влияло на значимость взаимодействия. В уравнении (3) коэффициенты a_1 и a_2 оценивают вклад хроноинотропии в сократимость, a_3 и a_4 — гетерометрической системы. В уравнении (4) существует дополнительный коэффициент, который оценивает взаимодействие между хроноинотропной и гетерометрической системами.

Коэффициенты уравнений (3, 4) определяли методом наименьших квадратов [25]:

$$D=\frac{1}{N-e}\sum_{i=1}^{N}[f_i-f(p_i,\ n_i)]^2. \qquad (5)$$

Необходимым условием существования минимума функции является равенство нулю частных производных:

$$\frac{dD_к}{da_к}=0. \qquad (6)$$

После нахождения коэффициентов вычисляли дисперсии регрессий по формуле (5). Значимость различия D_1 и D_2 определялась по критерию Фишера. Если

$$\frac{D_1}{D_2}<F_p,$$

где F_p — табличное значение критерия Фишера, то различия в дисперсиях статистически недостоверны и образованы случайными ошибками или естественной вариацией. Следовательно, введение члена a_5np не способно достоверно уменьшить дисперсию. В наших экспериментах разница между D_1 и D_2 недостоверна ($p<0{,}05$). Лишь в пяти случаях из 42 введение члена a_5np улучшало аппроксимацию (на различных частотах стимуляции). Общее влияние эффекта взаимодействия оценивалось с помощью критерия знаков для пятипроцентного уровня значимости. Анализ показывает, что только в двух случаях из 42 влияние коэффициента a_5 значимо.

Таким образом, применение аппарата множественной регрессии и статистический анализ показывают, что растяжение значимо не влияет на переходный процесс в хроноинотропной системе. Гомеометрическая и гетерометрическая системы действуют как два независимых контура с общим выходом.

Анализ переходных характеристик с помощью автокорреляционной функции

Динамическая характеристика хроноинотропной системы является рядом, где каждый последующий член определенным образом коррелирован с предыдущим. Такие ряды удобно анализировать с помощью случайных функций. Сущность этого метода — выявление влияния предыдущего члена на последующий, т. е. каждого предыдущего сечения t_k на последующие $t_k+\tau_m$. Функция, которая отражает эту связь, называется автокорреляционной:

$$K_y(\tau_m)=\frac{1}{N-l}\sum_{k=1}^{N-m}\left\{[y(t_k)\cdot y(t_k+\tau_m)]-[\hat{y}(t_k)]^2\right\}, \qquad (7)$$

где $t_k=k\Delta t$; $\tau_m=m\Delta t$; $\hat{y}(t_k)$ — математическое ожидание функ-

ции $y(t)$ при $t=t_k$; Δt — единичный интервал, N — число одиночных интервалов в исследуемом временном диапазоне.

Поскольку в исследуемом процессе нет периодической составляющей, автокорреляционная функция аппроксимировалась зависимостью вида

$$K_y(\tau_m)=Ae^{-\alpha\tau_m},$$

где α — логарифмический декремент затухания. Чем больше α, тем быстрее затухает связь между сечениями процесса. Если увеличение степени растяжения при постоянной частоте раздражения приводит к изменению декремента затухания, это означает, что растяжение, кроме своего непосредственного влияния на силу сокращений, действует на потенциацию частотой сердцебиений силы сокращений. Если растяжение не изменяет показатель α, можно считать, что оба регулятора работают независимо друг от друга.

Для каждой совокупности переходных процессов при фиксированных значениях периода стимуляции вычисляли логарифмический коэффициент затухания. Затем аналогичную процедуру повторяли при других значениях растяжения и исследовали зависимость α от p. Анализ показал, что α статистически значимо не зависит от растяжения. Таким образом, оба метода дают одинаковый результат — растяжение не влияет на параметры, контролирующие хроноинотропию.

Применение методов множественной регрессии и теории случайной функции показывает, что хроноинотропная и гетерометрическая системы регуляции сократимости миокарда — два независимых контура управления деятельностью миокарда. Это возможно, если аппараты, через которые реализуется влияние ритма и растяжения на сократительные клетки, пространственно разделены. Важный вывод о том, что растяжение не влияет на электромеханическое сопряжение, согласуется с отсутствием значимых различий в изменении ПД при различных нагрузочных режимах работы миокарда. Таким образом, гетерометрический механизм работает отдельно и независимо от «контролирующих систем» [22]. Наш вывод не очевиден. Действительно, динамика содержания ионов в околоклеточных пространствах и в некоторых отсеках клетки может быть связана с геометрией клеток и геометрическими соотношениями клетка — околоклеточная среда. В ряде исследований показано, что сократительный режим миокарда влияет на ионные потоки [23, 24]. Изменение геометрических соотношений и большая сократительная активность при увеличении степени растяжения, вероятно, должны способствовать лучшему обмену ионов. С другой стороны, следовые процессы также связаны с динамикой входа, накопления и вывода ионов в клетке. В будущем предстоит выяснить, соблюдается ли найденная закономерность в сердце других животных и при изменении условий проведе-

ния опыта (температура, ионы, фармакологические агенты и т. д.).

ЛИТЕРАТУРА

1. S. J. Sarnoff, J. H. Mitchell. Handbook of Physiology. Washington, 1962, 489.
2. B. C. Abbott, W. F. Mommaerts. J. Gen. Physiol., 1959, **42**, 533.
3. A. J. Brady. J. Physiol., 1966, **184**, 560.
4. A. J. Brady. Amer. J. Zool., 1967, **7**, 603.
5. D. Brutsaerts, V. A. Claes, E. Sonnenblick. Circul. Res., 1971, **29**, 63.
6. E. Sonnenblick. Fed. Proc., 1962, **21**, 975.
7. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков, А. Т. Кеткин, И. П. Плеханов. Регуляторные механизмы клеток гладкой мускулатуры и миокарда. М., «Наука», 1971.
8. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков, В. М. Шевелев. Физиол. ж., 1971, 57, 223.
9. В. Я. Изаков. Ритм сердца в норме и патологии. Вильнюс, 1970, 307.
10. J. Koch-Weser, J. B. Blinks. Pharmac. Rev., 1963, 15, 601.
11. A. J. Brady, B. C. Aboot, W. F. Mommaerts. J. Gen. Physiol., 1960, **44**, 415.
12. D. L. Brutsaerts. Arch. Int. Physiol., 1966, 74, 642.
13. E. Carmeliet. Arch. Int. Physiol., 1955, 63, 222.
14. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков. Физиол. ж., 1969, 55, 823.
15. В. Я. Изаков, Е. Ф. Элик. Там же, 713.
16. В. Я. Изаков, Р. В. Гнитько, В. М. Шевелев. Физиол. ж., 1971, 57, 1471.
17. H. Reuter, N. Seitz. J. Physiol., 1968, 195, 451.
18. E. Sonnenblick. Circ. Res., 1968, 38, 29.
19. L. S. Gettles, N. Morehouse, B. Surawicz. Circ. Res., 1972, 30, 55.
20. R. L. Kauffmann. Pflüg. Arch., 1969, 312, 26.
21. R. L. Kauffmann, M. J. Lab, R. Hennekes, H. Krause. Pflüg Arch., 1971, 324, 100.
22. S. Ebashi, M. Endo, I. Ohtsuki. Qurt. Rev. Bioph., 1969, 2, 351.
23. H. L. Conn, J. S. Robertson. Am. J. Physiol., 1955, 181, 319.
24. J. P. Gilmore, E. D. Gerlinks. Circ. Res., 1968, 22, 769.
25. В. В. Налимов, Н. А. Чернова. Статистические методы планирования экстремальных экспериментов. М., «Наука», 1965.

✦✦✦

АКАДЕМИЯ НАУК СССР·УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА 1974

В. С. КРУГЛОВ, С. М. РУТКЕВИЧ, В. С. МАРХАСИН

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СВОЙСТВА СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ

Для животных температура — важный экологический фактор, определяющий их уровень активности [1—5]. Исследование температурных характеристик сердечной деятельности приобретает важное значение в связи с тем, что с изменением температуры происходят существенные сдвиги в метаболизме всех тканей и органов. Это должно сказываться на их гемодинамическом обеспечении. В условиях измененного метаболизма сердцу, вероятно, принадлежит особая роль в поддержании гомеостаза. Кроме того, миокард — удобная модель для изучения влияния температуры на возбудимые системы в целом, для выяснения и моделирования специфических аспектов клеточной деятельности [6].

Помимо чисто теоретического значения, исследования влияния температуры на свойства сердечной мышцы имеют практическое значение при изучении гипотермии и гибернации. В частности, важная современная проблема — консервация сердца при низкой температуре и выяснение вопроса, какие изменения возникают в этом случае в миокарде, как изменяется его реактивность. Температурные характеристики сердечной деятельности холоднокровных животных обусловлены условиями существования вида и, в свою очередь, могут определять, помимо других факторов, условия расселения вида [7].

Цель настоящей статьи — рассмотреть влияние температуры на основные свойства сердечной мышцы. Главное внимание уделено влиянию температуры на автоматию, сократимость, мембранные потенциалы и электромеханическое сопряжение миокарда холоднокровных животных. Помимо феноменологии, сделана попытка представить клеточные механизмы, лежащие в основе влияния температуры. Мы убеждены в том, что наиболее удобными и перспективными являются исследования, проводимые на полосках различных отделов сердца. Это позволяет изучать температурные характеристики того или иного звена миокарда в чистом виде, per se, без опосредованного влияния других свойств и многочисленных нервных и гуморальных влияний, имеющих место в целом органе и тем более организме.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СКОРОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Скорость химической реакции растет с увеличением температуры в соответствии с уравнением Аррениуса:

$$K = K_0 e^{-E/RT},$$

где R — газовая постоянная, T — абсолютная температура, E — энергия активации, K — константа скорости, K_0 — константа. Было постулировано, что для сложного биохимического или физиологического процесса энергия активации определяется тем его этапом, который лимитирует общую скорость процесса. Наиболее распространенной характеристикой температурной зависимости биологических реакций является коэффициент Q_{10}, который определяется отношением констант скоростей при температурах, отличающихся на 10°. Следует отметить, что Q_{10} — нелинейная функция температуры, и ее величина зависит от температурного диапазона. Значение $Q_{10} < 1$ указывает, что скорость процесса растет с понижением температуры.

В ряде случаев наблюдаемая температурная зависимость скорости биологических процессов отклоняется от уравнения Аррениуса [8, 9]. Отклонения проявляются в изломах прямой в координатах Аррениуса ($\frac{1}{T}$, $\ln K$), что интерпретируется как смена скоростьлимитирующих реакций при изменении температуры, в линейной или гиперболической связи показателя, характеризующего тот или иной процесс с температурой. Иногда, особенно в сложных многоконтурных системах, наблюдается экстремальная зависимость биологического параметра от температуры. Это заставляет обратить внимание на методологию анализа сложных систем, где определенное влияние на систему может давать противоположный выходной ответ по сравнению с влиянием того же фактора на составные элементы системы.

Как показано на разных животных, Q_{10} для метаболизма, определяемого по поглощению кислорода, как правило, лежит в пределах 2—3 [1,9—23] и сильно зависит от предадаптации организма. Так, у саламандры *Dicamptodon ensatus* обмен в личиночном состоянии характеризуется следующими величинами: при 10—15° $Q_{10} = 1{,}85$; при 15—20° $Q = 1{,}34$. У взрослых животных, обитающих при более высокой температуре, соответствующие величины Q_{10} 2,27 и 4,1 [24]. Сходные результаты получены и на других видах амфибий [25, 26]. Характерно, что при той температуре, к которой животное акклимировано, Q_{10} может достигать малых величин — 1,1—1,5 [19, 27, 28]. Показано также на рыбах [28, 29, 30], саламандрах [19, 21] и лягушках [22, 23], что при низкой температуре акклимации

уровень метаболизма по абсолютной величине во всем температурном диапазоне ниже, чем у животных, адаптированных к высокой температуре. В некоторых случаях возможна инверсия температурной зависимости обмена — увеличение обмена с понижением температуры на участке около зоны акклимации [31—33].

Тканевой метаболизм зависит от температуры таким же образом, как и общий, но имеет значительно меньшую нелинейность (Q_{10} примерно одинаково при всех температурах) [1, 8, 34—39]. Это можно объяснить тем, что неравномерность температурной характеристики увеличивается с ростом сложности системы вследствие появления дополнительных лимитирующих процессов.

Наблюдаемые в тканях, органах и целом организме сдвиги метаболизма связаны частично с изменениями сердечной деятельности, а следовательно, и с кислородным транспортом [40—51].

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЧАСТОТУ СЕРДЦЕБИЕНИЙ

Известно, что частота спонтанных сокращений сердца холоднокровных и теплокровных животных возрастает с повышением температуры и падает с ее понижением (Q_{10} колеблется в широких пределах). У пойкилотермных животных связь ритма сердцебиений с температурой in vivo выражена сильнее по сравнению с изолированным сердцем, вероятно, вследствие компенсаторного действия нервной системы [52]. Исключение составляют рыбы, у которых эффект обратен, что можно связать с отсутствием симпатической регуляции [53]. У теплокровных (с выключенной терморегуляцией) зависимость частоты сердцебиений от температуры в достаточной степени однородна и характеризуется следующими величинами: выше 20° Q_{10} равно 2,5—3, ниже 15° возрастает до 4—6 [54—60]. При этом у всех видов кривая не имеет гистерезиса, т. е. зависимость частота — температура одинакова при нагревании и охлаждении.

У холоднокровных температурная зависимость ритма в большей части температурного диапазона характеризуется $Q_{10}=1{,}5—2{,}5$. Так, для *Phrynosoma* Q_{10} в диапазоне 5—35° одинакова и составляет 1,8. Такие же низкие значения Q_{10} отмечены у *Dipsosaurus* [61] и *Crotaphytus* [62]. Для *Gerrhonotus* $Q_{10}=2{,}3$ [63]. Аналогичные данные получены для многих видов ящериц [64]. У одних видов зависимость ритма от температуры почти экспоненциальна, у других — логарифмическая нелинейность достаточно велика и в низкотемпературной области Q_{10} может быть в 1,5 раза больше. Такая закономерность (рост Q_{10} с понижением температуры) типична для многих видов [41, 65]. В ряде случаев у холоднокровных наблюдается гистерезис температурной зависимости ритма. Например, для *Tili-*

qua при нагревании Q_{10} составляет 1,8, а при охлаждении увеличивается до 2,2 в одном и том же температурном диапазоне [43]. Однако для *Pitnophys* [66] Q_{10} меньше при низких температурах в отличие от большинства пойкилотермных животных: при 10—20° $Q_{10}=1,5$; при 20—30° $Q_{10}=2,3$.

Следует отметить, что характеристика ритм — температура вариабельна. Различные авторы дают значения Q_{10} для одного вида животного, отличающиеся более чем на 50%. Это, вероятно, связано с тем, что не учитываются два важных фактора, влияющие на зависимость ритма от температуры: температурная предыстория и время года. Давно известно [67] влияние сезона на кривую ритм — температура для лягушки: летом зависимость линейна, зимой — экспоненциальна. Добавлением тироксина удается перевести «зимнюю» экспоненциальную зависимость в «летнюю» линейную; при введении тироксина летом изменений характеристики не наблюдается [68].

Некоторые исследователи [69—71] связывают действие тироксина с изменением чувствительности клеток к адреналину, ибо действие адреналина увеличивается при повышении температуры. У рыб (*Ciprinus carpio*) добавление адреналина урежает ритм, причем этот эффект наблюдается только при низких температурах (ниже 10°) [53]. У лягушек *Rana ridibunda* с переходом от зимы к весне крутизна термохронотропной характеристики увеличивается в области низких температур [71]. У животных, акклимированных к теплу, абсолютные значения сердечного ритма меньше, чем у животных, акклимированных к холоду, а крутизна термохронотропной характеристики увеличивается при низких температурах [72]. Изменение связи ритм — температура при акклимации животных может быть следствием изменения ионного состава плазмы крови и соотношения концентрации ионов внутри клетки [73, 74]. Были попытки использовать частоту сердцебиений как меру метаболизма у теплокровных и холоднокровных животных [75—85], ибо различные причины (не только температура) снижают частоту сердцебиений и одновременно уменьшают метаболизм [49, 51, 86, 87]. Во многих случаях изменения метаболизма, частоты сердцебиений и дыхания сходны и имеют одинаковые температурные коэффициенты. При крайних значениях температурного диапазона эта корреляция нарушается [88]. Как правило, термохронотропные характеристики более стабильны, а метаболизм значительно зависит от веса животного [89—99].

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК МИОКАРДА

Внедрение микроэлектродной техники позволило определить эффекты температуры на потенциалы покоя и действия в клетках различных отделов сердца. Согласно уравнению Нернста,

охлаждение должно уменьшать потенциал покоя (ПП). Это наблюдалось в пейсмекерных клетках [100—104]. Аналогично меняется ПП в клетках предсердия кролика [103—104], кошки [105—106], амфибий [107—108], рыб [109, 110]. В сердце кошки, теленка ПП падал более круто при температурах ниже 25° [105, 106, 111], что приводило к исчезновению спонтанной активности клеток. Однако в других работах подчеркивается, что ПП не меняется с температурой и это согласуется с выводом Ходжкина и Катца [112]. Так, не обнаружено изменения ПП в изолированном предсердии бурундука в диапазоне 6—31°. С другой стороны, в предсердии кролика и других животных, не впадающих в зимнюю спячку, наблюдалось заметное падение ПП в диапазоне 25—17° [113].

Микроэлектродными исследованиями установлено, что при понижении температуры скорость спонтанной или диастолической деполяризации уменьшается, как и уровень мембранного потенциала, а уровень критической деполяризации практически не изменялся [104]. В сердце теплокровных пейсмекерная активность среди других физиологических параметров наиболее устойчива к охлаждению. Добавление ацетилхолина (10^{-7} *г/мл*) к синусному узлу кролика восстанавливало пейсмекерную активность, предварительно подавленную охлаждением.

На клетках желудочка человека также не удалось выявить уменьшение ПП при гипотермии до 28,5° [114]. Аналогичные данные получены на пейсмекерных волокнах жабы и клетках предсердия морской свинки. Подробные исследования влияния температуры на ПП проведены на волокнах Пуркинье теплокровных [116—118]. При понижении температуры до 20° ПП меняется мало, от 20 до 10° волокна слегка деполяризуются, ниже 10° ПП составляет всего 10—30 *мв*, и клетки становятся невозбудимыми. Сдвигом мембранного потенциала можно вызвать анодоразмыкательное возбуждение пропусканием тока даже при 4° [119]. На папиллярной мышце морской свинки было показано, что высокая концентрация кальция в растворе предотвращает деполяризацию, обусловленную охлаждением [120].

Наблюдаемые сдвиги ПП можно легко объяснить изменением внутриклеточного содержания ионов натрия и калия. Известно, что понижение температуры замедляет скорость работы калий-натриевого насоса. Это должно приводить к увеличению внутри клетки концентрации ионов натрия и уменьшению — калия. Действительно, при температуре 2—6° в папиллярной мышце кошки за 30 *мин* концентрация внутриклеточного натрия увеличивается с 42 до 85 *мм*, за это же время концентрация калия уменьшается с 160 до 120 *мм* [121]. Аналогичные данные получены на ушках предсердия морской свинки [122] и волокнах Пуркинье овцы [119]. Уменьшение ПП в клетках сердца теплокровных при температурах, близ-

ких к 0°, вероятно, связано не только с изменением внутриклеточных концентраций ионов, но и обусловлено изменениями калиевой и натриевой проводимости клеточной мембраны.

То, что у теплокровных при снижении температуры до 25—20° (а у зимнеспящих животных до 10—5°) ПП не снижается или уменьшается незначительно, свидетельствует о существовании в клетке гомеостатического механизма, который в определенном температурном диапазоне может противодействовать понижению ПП, связанному с температурой. Зависимость скорости работы калий-натриевого насоса от внутриклеточной концентрации натрия показана на сердечной мышце и других тканях [123—130] — в «физиологическом» диапазоне концентраций натрия скорость выхода этого иона из клетки пропорциональна кубу внутриклеточной концентрации ионов натрия. Очевидно, при низких температурах этот механизм нарушается, и клетки быстро накапливают натрий. Отсюда понятно отсутствие или небольшое влияние температуры на ПП сократительных клеток миокарда холоднокровных [118, 131].

Отсутствие изменений ПП при понижении температуры косвенно подтверждается тем, что амплитуда потенциала действия (ПД) не уменьшается, а иногда и растет [115, 131]. Необходимо указать на одну важную методическую деталь. Из наших исследований следует, что если микроэлектроды вводить в клетку при низких температурах, то наблюдаются низкие величины ПП и ПД. В тех случаях, когда микроэлектрод был введен в клетку при высоких температурах и ПП и ПД снимались из одной клетки, их уменьшения с охлаждением не наблюдалось. Это можно объяснить тем, что при высоких температурах «залипание» мембраны вокруг микроэлектрода происходит лучше, чем при низких.

Если после выдерживания сердечной мышцы теплокровных при низкой температуре (в этих условиях происходит загрузка клеток натрием) препарат поместить в раствор с нормальной температурой, то возникает значительная гиперполяризация мембраны (до 300 *мв*) [132]. Она устраняется при ингибировании натриевого насоса. Вероятно, после загрузки клетки ионами натрия и активации насоса температурой последний становится электрогенным — выталкивание натрия не компенсируется полностью входом калия.

Изменение температуры значительно влияет на амплитуду ПД. В миокардиальной ткани некоторых животных (в предсердии и папиллярной мышце кошки, волокнах Пуркинье) с понижением температуры от 38 до 25° амплитуда ПД возрастает без заметного изменения мембранного ПП [105, 106, 111]. Охлаждение изолированного предсердия бурундука от 31 до 6° [103], желудочка жабы от 25 до 11° и предсердия морской свинки от 35 до 25° сопровождается значительным увеличе-

нием амплитуды и овершута ПД [115]. С другой стороны, в изолированном предсердии кролика ПД уменьшается в условиях понижения температуры от 25 до 17° [103].

Амплитуда ПД клеток синусного узла кролика оставалась постоянной в интервале 34—42° и уменьшалась выше 42° [133]. В волокнах Пуркинье собаки в интервале 25—40° она быстро снижается [116]. В клетках желудочка лягушки амплитуда ПД имеет максимальное значение при 18—24°, падает с повышением температуры до 30° и практически не меняется с понижением от 18 до 5° [6]. Видимо, уменьшение амплитуды ПД связано с падением величины ПП, ибо установлено, что деполяризация приводит к инактивации натрийпереносящей системы [134—151].

Труднее объяснить увеличение амплитуды ПД при понижении температуры. Может быть высказано несколько гипотез. Согласно теории Ходжкина — Хаксли, это можно объяснить уменьшением натриевой инактивации или изменением соотношения калиевой и натриевой проводимости [139]. Однако другие придерживаются мнения, что параметр h мало зависит от температуры [136]. Более вероятно предположение об увеличении кальциевой проницаемости (P_{Ca}) при низкой температуре, так как многочисленными исследованиями показана важная роль кальция в генерации ПД [152—166]. Ответственна за увеличение P_{Ca} концентрация внутриклеточного натрия, которая возрастает вследствие понижения скорости работы калий-натриевого насоса [167—171]. Помимо влияния на амплитуду, понижение температуры замедляет скорость нарастания деполяризации. В сердце собаки Q_{10} для максимальной скорости деполяризации (V_{max}) составляет 1,9, причем в диапазоне 38—26° связь V_{max} — температура линейна. Изменение скорости проведения при понижении температуры частично может быть связано с падением максимальной скорости деполяризации, частично с увеличением цитоплазматического сопротивления (Q_{10}=1,5). Так как температура влияет одновременно и на сопротивление внеклеточной жидкости, соотношение r_i/r_o меняется мало. Только в условиях глубокого охлаждения проведение начинает резко уменьшаться вследствие расхождения мембран в области нексуса [172, 173].

Наиболее выражено влияние охлаждения на длительность ПД. При изучении температурных коэффициентов различных фаз ПД [111] волокон Пуркинье парнокопытных получены следующие значения Q_{10}: для фазы быстрой деполяризации — 1,68; для фазы плато — 4,64; для фазы конечной реполяризации — 2,58; для фазы медленной диастолической деполяризации — 6,29. Для синусного узла кролика значения Q_{10} для тех же фаз ПД составляют 2,7; 4,7; 2,6; 3,2 соответственно [133].

Таким образом, наиболее чувствительны к действию температуры в пейсмекерных клетках фаза плато и фаза медленной диастолической деполяризации.

Анализируя действие температуры на разные фазы реполяризации ПД желудочка лягушки, обнаружили, что умеренное понижение температуры наиболее влияет на фазу плато, а резкое понижение значительно удлиняет фазу конечной быстрой реполяризации. Эта фаза нечувствительна к снижению температуры до 15° [174].

Влияние температуры на длительность ПД определяется частотой сердцебиений. Малая частота в условиях искусственной стимуляции сердца или препарата in vitro не укорачивает ПД при высокой температуре [102]. Увеличение частоты от 16 до 39 *мин*$^{-1}$ при 25° в предсердии морской свинки вызывало уменьшение длительности ПД. Такого укорочения длительности ПД не наблюдалось в желудочке жабы, если частота увеличивалась от 20 до 36 *мин*$^{-1}$ при 25° [115]. В исследованиях [106] на папиллярной мышце сердца кошки наименьшая длительность фазы плато ПД зарегистрирована при стимуляции частотой 120 *мин*$^{-1}$, наибольшая — при 30 *мин*$^{-1}$ в интервале 20—37°, хотя во всех случаях длительность ПД в условиях низких температур оказалась больше, чем в условиях высоких.

Нами подробно проанализировано действие температурного фактора в желудочке лягушки как на одиночные ПД, так и на ПД при различных режимах стимуляции [131, 175, 176]. Оказалось, что общая длительность ПД увеличивалась от 0,33 *сек* при 30° до 2,6 *сек* при 5°. Зависимость длительности ПД от температуры экспоненциальна. Зона последействия одиночного ПД увеличивается от 0,32 до 8,2 *сек* при тех же изменениях температуры. При ее понижении повышалась чувствительность клеток к частоте стимуляции: при 24° частота меньше 0,5 *сек*$^{-1}$ влияла на длительность ПД, а при 7—5° даже частота 0,1 *сек*$^{-1}$ уменьшает длительность ПД.

Вычисление энергии активации дало следующие значения μ (*кал/моль*): для зоны последействия — 27 300, для начальной части плато — 5700, для конечной части плато — 14 900, для фазы конечной быстрой реполяризации — 2900 независимо от участка.

Энергия активации в фазе плато нарастает с увеличением мембранного потенциала (МП), в фазе конечной быстрой реполяризации она не зависит от МП. Возрастание частоты стимуляции увеличивает μ фазы плато, не влияет на температурный коэффициент и μ конечной части реполяризации. Энергия активации реакции, управляющей фазой плато и зоной последействия ПД, совпадает с μ для многих ферментативных реакций, в том числе с энергией активации реакции АТФ—АТФ-аза.

При построении кривой в аррениусовских координатах ($\ln V$; $1/T$) оказалось, что начальная часть плато управляется по крайней мере двумя реакциями (энергия активации для разных температур неодинакова). Результаты экспериментов и расчетов согласуются с гипотезой, предполагающей что в основе контроля амплитуды ПД, фазы реполяризации и зоны последействия лежат химические реакции ферментативного типа.

Имеющиеся в настоящее время данные можно обобщить в форме утверждения, что охлаждение намного увеличивает длительность потенциала действия в волокнах всех типов и у всех видов животных и реполяризация в фазу плато наиболее чувствительна к измерениям температуры. Реакция ПД на частоту стимуляции возрастает с понижением температуры.

Возрастание длительности ПД при низких температурах можно объяснить тем [131], что в миокарде длительность фазы плато ПД контролируется внутриклеточной концентрацией натрия через изменение скорости работы калий-натриевого насоса. Это происходит следующим образом [175]: заброс ионов натрия во время деполяризации — активация насоса — электрогенное выталкивание натрия — задержка калиевой проницаемости (начало реполяризации) — достижение некоторого критического уровня (величина потенциала или падение внутриклеточной концентрации ионов натрия до определенной величины) — включение пассивной калиевой проницаемости — окончание реполяризации.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СОКРАТИМОСТЬ МИОКАРДА

Известно, что сила сокращений зависит от температуры и обычно растет при охлаждении [106, 177—188]. Однако большинство исследований выполнено на спонтанно сокращающихся препаратах, что не позволяет отделить действие частоты на сократимость от температурных эффектов, так как температура одновременно влияет и на ритм, и на силу сократительного ответа, а параметры сокращений зависят непосредственно от ритма сердцебиений [189, 190]. Еще труднее определить влияние температуры на сократимость миокарда, если охлаждению подвергается весь организм [191, 192].

Даже если известна зависимость силы сокращений от частоты при одной температуре, то ее нельзя использовать для коррекции, так как сама связь сила — частота сердцебиений меняется с изменением температуры. Также недостаточно изучать инотропные эффекты температуры на какой-то одной частоте в связи с тем, что ответы неодинаковы по интенсивности и направленности при различных частотах сердцебиений [106, 181, 184]. Наиболее информативно сравнение кривых период стимуляции — сила сокращений при различных температурах

или изучение температурной зависимости силы сокращений на оптимальных для данных температур частотах [7, 179, 181, 193]. Необходимо учитывать, что при интактном кровообращении понижение температуры увеличивает конечную диастолическую длину волокон, что само по себе увеличивает силу сокращений по закону Франка — Старлинга [194, 195]. Зависимость длина волокна — пиковое изометрическое напряжение также подвержена влиянию температуры — с охлаждением развиваемое напряжение растет больше при малых и средних длинах волокна, чем при больших [194, 196]. Разноречивость результатов изучения влияния температуры связана частично и с тем, что не всегда дожидаются установления стационарного состояния (адаптация к холоду может идти несколько часов) [179, 181, 197, 198]. Не менее важна последовательность исследования различных температур, состава раствора и условий, в которых животное выдерживалось перед экспериментом [184, 199—202]. Как правило, сила сокращений изолированной сердечной мышцы более стабильна при низких температурах, чем при высоких [203—209].

В условиях сохраненной гемодинамики и отсутствия контроля наполнения сердца охлаждение увеличивает ударный объем, сердечный выход остается либо почти постоянным в большом температурном интервале, либо немного падает, но падение всегда значительно меньше, чем уменьшение частоты [210—213].

Температура, при которой наблюдается максимум силы сокращений в сердце лягушек, лежит в диапазоне 10—25° [177, 179, 180, 184, 201, 214, 215]. Другие авторы указывают, что сила сокращений монотонно увеличивается при нагревании [216, 217]. При управляемом ритме на изолированных желудочках *Rana pipiens* и *Rana catesbiana* [184] при больших периодах (более 10 *сек*) зависимость силы сокращений монотонна с $Q_{10}=0{,}3\div0{,}5$. С повышением частоты зависимость из монотонной переходит в экстремальную, причем экстремум смещается в сторону больших температур, а максимальный сократительный ответ наблюдается при 10° и периоде сердцебиений 4 *сек*. Следует отметить, что при низких температурах зависимость силы сокращений от частоты уменьшается, лестница Боудича либо сглаживается, либо исчезает. Таким образом, в желудочке лягушки влияние частоты на силу сокращений много меньше при низких температурах, чем при высоких, в связи с чем в первом случае трудно определить оптимальную частоту сердцебиений.

Нашими исследованиями [7] на миокарде желудочка лягушки *Rana ridibunda,* проведенными при большом периоде (10 *сек*), установлено, что термоинотропное усиление сокращений сопровождается значительным увеличением их длительности, и температурная зависимость силы сокращений может

быть аппроксимирована экспонентой в диапазоне 0—30° с постоянной температуры 11±1° (для зимних лягушек). Связь силы сокращения с температурой различна для зимних и весенних животных. У зимних термоинотропная зависимость монотонна с отрицательной производной; весной эта связь изменяется — у кривых появляется экстремум, который смещается к более высоким температурам.

Как в миокарде амфибий, так и в миокарде рыб понижение температуры увеличивает силу сокращений с $Q_{10}=0{,}7\div0{,}8$ [7, 109, 218]. Максимальная сила сокращений спонтанно сокращающегося сердца черепахи получена при 13° [219] и 22° [220]. Предсердия и желудочек черепахи (*Psendomys elegans* и *Scripta troosti*) на повышение температуры отвечали уменьшением сократительного ответа [221] — при периоде 10 *сек* с увеличением температуры от 14 до 38° сила сокращений уменьшается примерно в 5 раз. С повышением частоты вид связи температура — сила сокращений меняется: при периоде 2÷3 *сек* максимальный сократительный ответ наблюдается при 20°. При низких температурах повышение частоты значительно уменьшало силу сокращений.

Интересные данные по термозависимости сократимости миокарда получены на ящерице *Dipsosaurus dorsalis* — в желудочке максимальный сократительный ответ отмечен при 25—30° [222]. Иногда наблюдаемая у холоднокровных экстремальная связь силы сокращений миокарда с температурой может быть связана с температурной предакклимацией [17, 18] — многие физиологические функции максимальны при температурах обитания животного.

Многочисленные исследования на миокарде теплокровных показали усиление сократимости при понижении температуры [106, 180, 181, 203, 204, 206, 208, 223—229]. Это верно и для сердца in situ, даже если частота сердцебиений не контролируется [230, 231]. Когда температура опускается ниже оптимальной, сила сокращений уменьшается медленно [181, 203, 232—236], при нагревании — более быстро, особенно, когда температура выше нормальной [203, 225, 236, 237]. Как и у холоднокровных, оптимум температуры для сократимости изменяется с частотой [106, 181, 198]. В некоторых работах сообщается, что сердечная мышца млекопитающих теряет способность сокращаться при температурах выше 46° и ниже 10°. Однако отсутствие сократимости в этом случае вторично и происходит вследствие падения возбудимости [236, 238]. Так, на папиллярной мышце кошки показано, что раздражение стимулом достаточной силы и длительности вызывает сокращение даже при температуре 1° [198]. У разных видов теплокровных и даже между разными отделами одного сердца имеются различия в температурных пределах сократимости [224, 237, 239].

Исследованиями на предсердии мелких мпекопитающих уста-

новлено, что частота, на которой сила сокращений максимальна, уменьшается при охлаждении от 37 до 14°; на оптимальной частоте сила сокращений заметно увеличивается с понижением температуры от 37 до 20°, но уменьшается при дальнейшем охлаждении. Если все частоты выразить относительно оптимальной, хроноинотропные характеристики для разных температур подобны [181, 233, 240]. Это противоположно прогрессивному «утолщению» таких кривых при охлаждении в желудочке лягушки. У белок и бурундуков после зимовки (при 4°) сила сокращений желудочка при 15° возрастает примерно в 3 раза по сравнению с незимовавшими [241].

Температура значительно влияет не только на силу, но и на длительность сокращений миокарда. Известно, что время сокращения растет с понижением температуры у холоднокровных [177, 184, 214, 242] и у теплокровных [106, 118, 181, 233, 243, 244], что коррелирует с температурными изменениями длительности потенциалов действия. Необходимо подчеркнуть, что на спонтанно сокращающихся препаратах очень трудно отделить прямое влияние охлаждения на длительность сокращения от действия уменьшения частоты сердцебиений [190]. Температура влияет на длительность фазы укорочения (развития напряжения) и на фазу расслабления, но время релаксации при охлаждении увеличивается больше, чем фаза укорочения [78, 106, 184, 185, 225, 236, 243, 245]. По нашим данным, зависимость длительности сокращений миокарда желудочка от температуры (при большом периоде стимуляции) у рыб (*Rutilus rutilus*) и лягушек (*Rana ridibunda*) экспоненциальна с постоянной температуры соответственно 14±3 и 10,5±1,0° [7, 109], причем с понижением температуры она увеличивается больше, чем длительность возбуждения.

На полосках предсердия морской свинки фаза укорочения изотонических сокращений на всех частотах растет при охлаждении от 37 до 22° [181, 233]. Увеличение длительности укорочения наиболее выражено при редкой частоте сокращений, а частота, на которой она максимальна, уменьшается с понижением температуры. Аналогичные данные получены на папиллярной мышце кошки [106]. Следует отметить, что в папиллярной мышце кошки время от начала сокращения до максимума его первой производной не зависит от температуры (в диапазоне 23—32°), тогда как вторая фаза укорочения (с отрицательной второй производной) удлиняется с уменьшением температуры [241].

Снижение температуры влияет на скорость укорочения и расслабления. Так, на предсердии морской свинки (в изотоническом режиме) максимальная скорость укорочения уменьшалась при охлаждении от 37 до 22° и не зависела от частоты [181]. Аналогичные данные получены на папиллярной мышце кошки и крысы, а также в предсердии крысы и желудочке

лягушки [106, 184, 188, 194, 206, 225]: Q_{10} для максимальной скорости укорочения папиллярной мышцы кошки составляет 2,5 (в диапазоне 27—34°), тогда как для силы сокращений 0,9, а для времени достижения максимума напряжения 0,46. Там же показано, что Q_{10} для скорости развития напряжения $\left(\frac{dP}{dt}\right)$ составляет 1,78. Такая же величина получается теоретически:

$$\frac{dP}{dt}=\frac{dl}{dt}\cdot\frac{dP}{dl};\quad Q_{10}\left(\frac{dP}{dt}\right)=Q_{10}\left(\frac{dl}{dt}\right)\cdot Q_{10}\left(\frac{dP}{dl}\right).$$

Отсюда делается вывод, что при понижении температуры увеличение силы сокращений определяется увеличением жесткости эластической компоненты и удлинением активного состояния. В миокарде лягушки скорость развития напряжения также растет с повышением температуры [100, 246].

Изучение зависимости сила — скорость контрактильного элемента методом быстрого высвобождения показало, что эта кривая для желудочка лягушки имеет гиперболический вид при температуре 8° и линейна при 23° [246]. При реконструкции кривой активного состояния найдено, что с понижением температуры растет и интенсивность (Q_{10}=0,65), и длительность (Q_{10}=0,38) активного состояния. Длительность активного состояния коррелирует с длительностью ПД при разных температурах, хотя длительность активного состояния несколько больше, чем ПД. Эти данные получены на желудочке лягушки (*Rana esculenta*), на желудочке и предсердии черепахи (*Testudo graeca*) [247].

Изучение работы изолированного желудочка лягушки в изотоническом режиме показало, что с уменьшением температуры работа, выполняемая сердцем, растет [246, 248]. Возможно, это связано с уменьшением эффективности преобразования химической энергии в механическую при повышении температуры [248]. Биологический смысл этого явления в том, что в условиях низких температур необходима большая энергия для движения крови в сосудистом русле (при понижении температуры увеличивается вязкость крови и общее периферическое сопротивление).

Влияние температуры на инотропные воздействия фармакологических веществ изучено пока мало. У интактных животных термозависимое влияние фармакологических веществ определить сложно. На изолированных препаратах установлено, что инотропное действие температуры и фармакологических веществ не аддитивно, что можно объяснить условиями насыщения. Более того, в ряде случаев вещества с выраженным положительным инотропизмом обладают слабым действием при низких температурах. Это установлено для адреналина [231, 249—252] и строфантина [208, 227, 253, 254]. При низких

температурах наиболее выражен эффект фармакологических веществ на длительность сокращений. Например, адреналин и тирамин уменьшают длительность сокращений при низких температурах в большей степени, чем при высоких [249]. Таким же действием обладает ацетилхолин [255].

По мнению некоторых авторов [256], инотропная активность катехоламинов (КХА) исчезает при низких температурах. Исследуя влияние температуры на адренорецепторы изолированного желудочка лягушки, обнаружили, что величина инотропной реакции почти не меняется с повышением температуры от 10 до 20° [257]. При дальнейшем повышении или понижении ее инотропная реакция уменьшалась, около 0° инотропное действие полностью исчезает, причем сердце не реагирует на адреналин в очень высокой концентрации. Падение величины инотропной реакции КХА под влиянием температуры связано, вероятно, со снижением сродства адренорецептора к КХА. На основании этих исследований предположили, что адренорецепторы, так же, как ферменты, являются белками с определенным температурным оптимумом действия.

Положительный инотропный эффект температуры зависит от ионного состава раствора [120, 184, 258]. У теплокровных при низкой концентрации кальция он становится меньше; при высокой охлаждение давало отрицательный инотропный эффект [120]. Авторы заключили, что при 37° кальций является ограничивающим фактором в активации контрактильных элементов, так как длительность ПД недостаточно велика для достижения абсолютного максимума сократимости. Изменение сократимости миокарда при вариациях температуры интерпретируется в рамках кальциевого обмена. Температура может оказывать влияние на абсолютное содержание ионов кальция во внутриклеточных местах связывания, на скорость его высвобождения при возбуждении, на адсорбционную способность саркоплазматического ретикулюма и на количество кальция, поступающего в клетку в течение деполяризации из окружающей среды [259]. Необходимо также учитывать изменение содержания других ионов, в особенности натрия (как результат уменьшения скорости работы насоса в условиях низких температур), поскольку внутриклеточная концентрация натрия влияет на заброс кальция [260, 261] и, вероятно, на степень его связывания в местах хранения [262].

Как уже отмечалось, при понижении температуры наблюдается хорошая корреляция между длительностью ПД и ТРТ (время достижения максимума — длительность фазы с положительной производной). Это установлено в клетках миокарда теплокровных (теленок, морская свинка) и холоднокровных (лягушка, черепаха, амблистома) [263]. Аналогичная связь наблюдается при искусственном изменении длительности ПД воздействием де- и гиперполяризующих импульсов тока [264],

а также изменением частоты [265]. Следовательно, наблюдаемые сдвиги в сократимости миокарда в зависимости от температуры в первую очередь связаны с влиянием ее на длительность ПД и количеством активатора (ионов кальция), поступающего в клетку или высвобождающегося из внутриклеточных мест связывания при возбуждении. Подробное изучение ионного обмена при низких температурах [260] показало, что задержка внутриклеточного натрия с понижением температуры увеличивает внутриклеточные запасы кальция и как следствие этого — изменяет скорость нарастания напряжения. Но высвобождение кальция при понижении температуры затруднено. В скелетной мышце при низких температурах кривая мембранный потенциал — механическое напряжение сдвигается влево, что свидетельствует об уменьшении контрактильного порога [266].

Таким образом, анализ литературных данных показывает, что температура влияет на многие параметры сердечной деятельности. Однако в настоящее время лишь в самых общих чертах ясна феноменология. Имеются только отдельные попытки связать это как с гемодинамическими сдвигами, так и с условиями существования животного. Не выяснены молекулярные сдвиги, ответственные за изменение сократимости миокарда при вариации температуры. В будущем предстоит связать термодинамический и кинетический аспекты действия температуры на миокард с их значением для приспособления организма к определенным температурным условиям.

ЛИТЕРАТУРА

1. Л. Проссер, Ф. Браун. Сравнительная физиология животных. М., «Мир», 1967, 283—331.
2. J. R. Brett. Resp. Physiology, 1972, **14**, 151.
3. J. W. Brown. Physiology of amphibia. Ed. J. A. Moore. N. Y., A. P., 1964, 86.
4. J. R. Brett. Marine ecology, v. 1. Enviromental factors. Ed Kinne. London, 1970.
5. Comparative physiology of termoregulation. Ed. G. C. Whittow. N. Y., A. P., 1970.
6. Г. И. Косицкий, И. А. Чернова. Сердце как саморегулирующаяся система. М., «Наука», 1968.
7. В. Я. Изаков, С. М. Руткевич, В. С. Круглов, О. А. Жигальский. Экология, 1973, 1, 283—291.
8. F. J. Johson, H. Eyring, M. J. Polissar. The kinetic basis of molecular biology, ch 4. N. Y., A. P., 1954.
9. И. В. Ивлева. Успехи совр. биологии, 1972, **73**, 134.
10. W. S. Hoar. General and Comparative Physiology. New Jersey, 1966.
11. F. J. Vernberg, W. B. Vernberg. The Animal and the Environment. N. Y., Winston, 1970.
12. J. N. R. Grainger. Nature, 1956, **178**, 4539.
13. A. A. Prieto, W. G. Whitford. Copeia, 1971, **3**, 498.
14. P. E. Pickens. Physiol. Zool., 1965, **38**, 4, 390.
15. P. Dondoroff. Biol. Bull., 1945, **88**, 2, 194.
16. H. J. Precht. Zool. Ann. Sup., 1961, **24**, 38.
17. R. J. Brett. J. Fish Res. Board Can., 1964, **21**, 1183.

18. R. J. Brett. Am. Zoologist, 1971, **11**, 99.
19. L. C. Fitzpatrick, J. R. Bristol, R. M. Stokes. Comp. Biochem. Physiol., 1971, **40**, 681.
20. F. W. H. Beamish. Can. J. Zool., 1964, **42**, 2, 177.
21. Z. Pocrnjic. Arch. Biol. Nauka, 1965, **17**, 139.
22. D. G. Dunlap. Comp. Biochem. Physiol., 1969, **31**, 555.
23. D. G. Dunlap. Comp. Biochem. Physiol., 1971, **38A**, 1.
24. S. C. Wood. Copeia, 1972, **1**, 177.
25. W. G. Whitford, R. F. Sherman. Herpetologica, 1968, **24**, 233.
26. W. G. Whitford, V. H. Hutchison. Physiol. Zool., 1967, **40**, 127.
27. L. C. Fitzpatrick, J. R. Bristol, R. M. Stokes. Comp. Biochem. Physiol., 1972, **41A**, 89.
28. J. L. Roberts. Molecular Mechanisms of Temperature Adaptation. Ed. J. Prosser. Washington, AAAS, 1967, 245—262.
29. H. Precht. Ecol. Monogr., 1958, **33**, 23.
30. J. L. Roberts. Helgolander wiss. Meeresunters, 1966, **14**, 451.
31. P. F. Scholander, W. Flagg, V. Walters, L. Irving. Physiol. Zool., 1953, **26**, 67.
32. K. P. Rao, T. H. Bullock. Am. Natur., 1954, **88**, 838, 33.
33. F. E. J. Fry, J. S. Hart. Biol. Bull., 1948, **94**, 66.
34. I. W. Sizer. Adv. Enzymol., 1943, **3**, 35.
35. W. Kanzmann, A. M. Chase, E. H. Brigham. Arch. Biochem., 1949, **24**, 281.
36. A. M. Chase, F. Hurts, H. J. Zeft. J. Cell. Comp. Physiol., 1959, **54**, 115.
37. F. A. Fuhrman, G. J. Furman, D. A. Farr, J. H. Fail. Am. J. Physiol., 1961, **201**, 231.
38. R. C. Newell. Nature, 1966, **212**, 426.
39. В. В. Хаскин. Ж. эвол. биохим. физиол., 1972, **8**, 2, 142.
40. E. Asmussen, M. Nielsen. Acta physiol. Scand., 1953, **27**, 217.
41. G. A. Bartolomew, V. A. Tucker. Physiol. Zool., 1963, **36**, 199.
42. G. A. Bartolomew, V. A. Tucker. Physiol. Zool., 1964, **37**, 341.
43. G. A. Bartolomew, V. A. Tucker, A. K. Lee. Copeia, 1965, **2**, 169.
44. G. Shelton, D. R. Jones. J. Exp. Biol., 1965, **42**, 339.
45. H. Leivestad. Arbok. Univ. Bergen, 1960, **5**, 1.
46. G. F. Lund, H. Dingle. J. Exp. Biol., 1968, **48**, 265.
47. D. R. Jones, G. Shelton. J. Exp. Biol., 1964, **41**, 417.
48. D. R. Jones. J. Exp. Biol., 1966, **44**, 397.
49. D. R. Jones. Comp. Biochem. Physiol., 1967, **20**, 691.
50. D. R. Jones. Там же, 1968, **25**, 821.
51. D. R. Jones. Там же, 1972, **41A**, 97.
52. F. E. J. Fry. Ann. Rev. Physiol., 1958, **20**, 207.
53. J. Laffont, R. Labat. J. Physiol. (Paris), 1967, **59**, 219.
54. П. М. Старков, Ю. Р. Шейх-заде. Физиол. ж., 1972, **58**, 949.
55. C. P. Liman, D. C. Blinks. J. Cell. Comp. Physiol., 1959, **54**, 1, 1959.
56. C. P. Liman. J. Exp. Zool., 1948, **109**, 55.
57. C. P. Liman. Am. J. Physiol., 1958, **194**, 83.
58. I. Chao, C. J. Yeh. Chin. J. Physiol., 1951, **18**, 17.
59. A. R. Dawe, P. R. Morrison. Am. Heart J., 1955, **49**, 367.
60. R. M. Nardone. Am. J. Physiol., 1955, **182**, 364.
61. P. Licht. Physiol., 1965, **38**, 129.
62. W. R. Dawson, J. R. Templeton. Physiol. Zool., 1963, **36**, 219.
63. W. R. Dawson, J. R. Templeton. Ecology, 1966, **47**, 759.
64. W. R. Dawson. Lizard ecology. Ed. W. W. Milstead. Columbia, Missoury Press, 1967, 230—257.
65. W. R. Moberly. Comp. Biochem. Physiol., 1968, **27**, 1.
66. O. E. Greenwald. Copeia, 1971, **1**, 98.
67. J. Barcroft, J. J. Izquierdo. J. Physiol., 1931, **71**, 145.
68. G. S. Carter. J. Exp. Biol., 1933, **10**, 256.

69. C. C. Ring. Am. J. Physiol., 1942, **137**, 582.
70. C. H. Best, N. B. Taylor. The Physiological Basis of Medical Practice. London, 1950.
71. C. L. Smith. J. Exp. Biol., 1951, **28**, 141.
72. E. Segal. Biol. Bull., 1956, **111**, 1, 129.
73. C. P. Hickman, R. A. McNabb, J. S. Nelson, E. D. Van Breeman, D. Comfort. Can. J. Zool., 1964, **42**, 577.
74. C. L. Prosser, W. Mackay, K. Katok. Physiol. Zool., 1970, **43**, 2, 81.
75. C. L. Evans, Y. Matsuoka. J. Physiol., 1914, **49**, 378.
76. S. J. Sarnoff, E. Braunwald, G. H. Welch, R. B. Case, W. N. Stainsby, R. Macruz. Am. J. Physiol., 1958, **192**, 148.
77. K. S. Lee. J. Physiol., 1960, **151**, 186.
78. R. G. Monroe, G. N. French. Circ. Res., 1961, **9**, 362.
79. R. G. Monroe. Circ. Res., 1964, **14**, 294.
80. R. C. Lasiewski. Physiol. Zool., 1964, **37**, 212.
81. S. Rodbard, C. B. Williams, D. Rodbard, E. Berglund. Circ. Res., 1964, **14**.
82. A. J. F. Webster. Brit. J. Nutr., 1967, **21**, 769.
83. R. H. McDonald. Am. J. Physiol., 1966, **210**, 351.
84. R. H. McDonald, R. R. Taylor, H. E. Cingolany. Am. J. Physiol., 1966, **211**, 3.
85. R. B. Jr. Owen. Comp. Biochem. Physiol., 1969, **27**, 455.
86. H. T. Andersen. Physiol. Rev., 1966, **46**, 212.
87. G. V. Pickwell. Comp. Biochem. Physiol., 1968, **27**, 455.
88. W. R. Dawson, G. A. Bartholomew. Physiol. Zool.. 1958, **31**, 2, 100.
89. W. R. Dawson, G. A. Bartholomew. Physiol. Zool., 1956, **29**, 40.
90. F. G. Benedict. Carnegie Inst., Wash. Public., 1932, 425.
91. S. F. Cook. Univ. Calif. Pub. Zool., 1949, **53**, 367.
92. М. Н. Виленкина. Дыхание тканей некоторых морских беспозвоночных. Автореф. дисс. М., 1965.
93. Г. Н. Юркевич. Вопр. ихтиол., 1972, **12**, 202.
94. H. M. Vernon. J. Physiol., 1897, **21**, 443.
95. R. E. Tashian, C. Ray. Zoologica, 1957, **42**, 63.
96. A. F. Riech, J. A. Belli, M. E. Blaskovics. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1959, **103**, 436.
97. M. S. Kanungo, C. L. Prosser. J. Cell. Comp. Physiol., 1959, **54**, 265.
98. M. S. Kamungo, C. L. Prosser. Там же, 259.
99. P. Licht. Am. Zool., 1961, **1**, 155.
100. В. С. Круглов. Исследование температурных характеристик сократимости миокарда различных видов лягушек. Статья в наст. сборнике, стр. 171.
101. S. Weidmann. Electrophysiologie der Herzmuskelfaser. Bern, Huber, 1956.
102. Б. Гоффман, П. Крейнфилд. Электрофизиология сердца. М., ИЛ, 1962.
103. J. M. Marshall, E. M. V. Williams. J. Physiol. (L.), 1956, **131**, 186.
104. J. M. Marshall. Circul. Res., 1957, **5**, 664.
105. A. S. V. Burgen, K. G. Terroux. J. Physiol. (L.), 1953, **119**, 139.
106. W. Trautwein, J. Dudel. Pflügers Arch., 1954, **260**, 104.
107. E. B. Wright, M. Ogata. Am. J. Physiol., 1961, **201**, 1101.
108. L. A. Woodbury, H. H. Hecht, A. R. Christopherson. Am. J. Physiol., 1951, 164.
109. С. М. Руткевич. Общая характеристика системы регуляции сократимости миокарда рыб. Статья в наст. сборнике, стр. 77.
110. Y. M. Gargouil, E. Coraboeuf. Comp. rend. Acad. Sci. Paris, 1957, **245**, 1949.

111. E. Coraboeuf, S. Weidmann. Helv. physiol. pharmacol. Acta, 1954, **12**, 32.
112. A. L. Hodgkin, B. Katz. J. Physiol., 1949, **109**, 240.
113. J. M. Marshall, J. S. Willis. J. Physiol., 1962, **160**, 317.
114. B. Bromberg-Barnea, P. Caldini, G. W. Wittenstein. Circ. Res., 1959, 7, 138.
115. A. Illanes, R. Carpentier, L. Reus. Am. J. Physiol., 1970, **218**, 2, 536.
116. W. Trautwein, U. Gottstein, K. Federschmidt. Pflügers Arch., 1953, **258**.
117. J. Délèze. Circ. Res., 1960, **8**, 553.
118. R. F. Schmidt, J. J. Chang. Pflügers Arch., 1961, **272**, 393.
119. J. Dudel, R. Rüdel. Pflügers Arch., 1970, **315**, 136.
120. R. Kaufmann, A. Fleckenstein. Pflügers Arch., 1965, **285**, 1.
121. E. Page, S. R. Storm. J. Gen. Physiol., 1965, **48**, 957.
122. H. G. Glitsch. Pflügers Arch., 1969, 307, 29.
123. G. A. Landger. Physiol. Rev., 1968, **48**, 708.
124. R. D. Keynes, R. Renata. J. Physiol. (L.), 1963, **168**, 58p.
125. R. H. Adrian, C. L. Slayman. J. Physiol. (L.), 1966, **184**, 970.
126. Y. Hashimoto. Kumamoto Med. J., 1964, **18**, 23.
127. A. J. Frumento. Science (N. Y.), 1965, **147**, 1142.
128. A. J. Frumento, L. I. Mullins. Nature, 1964, **204**, 1312.
129. S. R. Cross, R. D. Keynes, R. Renata. J. Physiol., 1965, **181**, 865.
130. E. J. Conway. Fed. Proc., 1964, **23**, 680.
131. В. Я. Изаков. Изучение электрической активности клеток миокарда. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1968.
132. T. Tamai, S. Kagiyama. Circ. Res., 1968, **22**, 423.
133. S. Yamagishi, T. Sano. Am. J. Physiol., 1967, **212**, 829.
134. P. C. Caldwell. Physiol. Rev., 1968, **48**, 1.
135. K. S. Cole. Membranes, ions and impulses. N. Y., Pergamon Press, 1968.
136. J. Eccles. The neurophysiological basis of mind. N. Y., Pergamon Press, 1960.
137. B. Frankenhaeuser. Prog. Biophys. a. Molecul. Biol., 1968, **8**, 97—105.
138. A. L. Hodgkin. Biol. Rev., 1951, **26**, 339.
139. A. L. Hodgkin, A. F. Huxley. J. Physiol. (L.), 1952, **117**, 500.
140. A. L. Hodgkin, A. F. Huxley. Там же, **116**, 449.
141. R. Guttman. J. Gen. Physiol., 1966, **49**, 1007.
142. A. L. Hodgkin, A. F. Huxley. J. Physiol. (L.), 1952, **118**, 473.
143. W. K. Chandler, H. Meves. J. Physiol., 1970, 211, 623.
144. W. K. Chandler, H. Meves. Там же, 653.
145. W. K. Chandler, H. Meves. Там же, 679.
146. D. Agin. J. Theoret. Biol., 1963, **5**, 161.
147. D. Noble. J. Physiol. (L.), 1962, **160**, 317.
148. J. W. Woodbury. Biophysics of physiological and pharmacological actions. Ed. A. Shans. N. Y., A. P., 1961, 501—527.
149. S. Weidmann. J. Physiol. (L.), 1955, **127**, 213.
150. W. Trautwein, J. Dudel, K. Peper. J. Cell. Comp. Physiol., 1965, **66**, sup 2.
151. D. Noble. Physiol. Rev., 1966, **46**, 1, 1.
152. W. R. Gibbons, H. A. Fozzard. Circ. Res., 1971, **28**, 446.
153. H. A. Fozzard, D. C. Hellam. Nature (L.), 1968, **218**, 588.
154. M. Goto, Ch. Mc. C. Brooks. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1969, **131**, 4.
155. M. Goto, Y. Kimoto, Y. Kato. Jap. J. Physiol., 1971, **21**, 159.
156. H. Reuter, G. W. Beeler. Science, 1969, **163**, 399.
157. M. Morad, W. Trautwein. Pflügers Arch., 1968, **299**, 66.
158. G. W. Beeler, H. Reuter. J. Physiol. (L.), 1970, **207**, 211.
159. A. Basseau, Y. M. Gargouil. J. Physiol. (L.), 1969, **204**, 95P.
160. M. Tarr. J. Gen. Physiol., 1971, **58**, 523.

161. O. Rougier, G. Vassort, D. Garnier, Y. M. Garouil, E. Coraboeuf. Pflügers Arch., 1969, **308**, 91.
162. O. Rougier, G. Vassort, R. Stämpfli. Pflügers Arch., 1968, **301**, **91**.
163. K. A. Deck, R. Kern, W. Trautwein. Pflügers Arch., 1964, **280**, 50.
164. A. Paes de Carvalho, B. F. Hoffman, M. de Paula Carvalho. J. Gen. Physiol., 1969, **54**, 607.
165. H. Ohshima. Jap. J. Physiol., 1969, **19**, 568.
166. R. Ochi. Pflügers Arch., 1970, **316**, 81.
167. G. A. Langer. J. Mol. Cell. Cardiol., 1970, **1**, 203.
168. Р. В. Гнитько, В. М. Шевелев, В. Я. Изаков, Р. С. Орлов. Биофизика мембран. Каунас, 1971, 309—317.
169. В. Я. Изаков, В. М. Шевелев, Р. В. Гнитько. Физиол. ж., 1971, **57**, 1471.
170. В. М. Шевелев. К изучению механизмов хроноинотропии в клетках миокарда. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1971.
171. В. Я. Изаков. Ритм сердца в норме и патологии. Вильнюс, 1970, 307—314.
172. G. E. Burch, R. S. Sonal. Am. Heart J., 1969, **78**, 358.
173. Т. Н. Белоусов. Вестн. Акад. мед. наук СССР, 1971, **10**, 44.
174. P. Heintzen. Pflügers Arch., 1954, **259**, 381.
175. Е. Ф. Элик, В. Я. Изаков. Теоретические проблемы действия низких температур на организм. Л., 1969, 120—123 (ИЭМ).
176. В. Я. Изаков, Е. Ф. Элик. Физиол. ж., 1969, 55, 713.
177. E. V. Cyon. Ber. d. kön. sachs. Ges. d. Wiss., Math. phus. Kl., 1966, 256—306.
178. O. Langendorff. Arch. Ges. Physiol., 1895, **61**, 291.
179. A. Bornstein. Arch. Anat. Physiol. (Lpz.), 1906, suppl., 343.
180. A. J. Clark. J. Physiol. (L.), 1920, **54**, 275.
181. V. Kruta. Arch. Int. Physiol., 1938, **47**, 35.
182. A. H. Hegnauer, W. Shriber, H. O. Haterius. Am. J. Physiol., 1950, **161**, 455.
183. J. L. Webb. Brit. J. Pharmacol., 1950, **5**, 335.
184. S. Hajdu, A. Szent-Georgyi. Am. J. Physiol., 1952, 168, 1.
185. R. M. Berne. Circ. Res., 1954, **2**, 90.
186. G. B. Spurr, B. K. Hutt, S. H. Horvath. Am. J. Physiol., 1954, **179**, 139.
187. H. Badeer. Circ. Res., 1955, **3**, 28.
188. O. Wiegmann, H. G. Kraft, J. Küper. Zs. Biol., 1957, **109**, 270.
189. J. Koch-Weser, J. R. Blinks. Pharmacol. Rev., 1963, **15**, 601.
190. Р. С. Орлов, В. Я. Изаков, А. Т. Кеткин, И. П. Плеханов. Регуляторные механизмы клеток гладкой мускулатуры и миокарда. Л., «Наука», 1971.
191. R. D. Dripps. The Physiology of Induced Hypothermia. Nat. Res. Council. Publ. 451. Washington, Nat. Acad. Sci., 1956.
192. A. C. Taylor. Hypothermia, Ann. N. Y. Acad. Sci., 1959, **80**, 285—549.
193. В. С. Круглов. Теоретические проблемы действия низких температур на организм, вып. 2. Владимир, 1972, 315—317.
194. J. R. Blinks, J. Koch-Weser. Pharmacol. Rev., 1963, **15**, 579.
195. В. М. Покровский. Бюлл. экспер. биол. мед., 1969, 68, 8.
196. I. Doi. J. Physiol. (L.), 1920, **54**, 218.
197. J. Belahradek. Arch. Int. Physiol., 1928, **30**, 205.
198. G. K. MacLeod, J. Koch-Weser. Fed. Proc., 1963, **22**, 246.
199. A. Bornstein. Arch. Anat. Physiol. (Lpz.), 1909, 100.
200. S. Hajdu. J. Pharmacol., 1957, **120**, 90.
201. E. Gellhorn. Pflügers Arch., 1924, **203**, 140.
202. V. Kruta. C. R. Soc. Biol. (Paris), 1938, **129**, 791.
203. G. A. Feigen, G. B. Sutherland, C. H. Macpherson. Stanf. med. Bull., 1952, **10**, 89.
204. R. F. Furchgott, T. de Gubareff. J. Pharmacol., 1958, **124**, 203.
205. S. Garb, M. Penna. J. Appl. Physiol., 1956, **9**, 431.
206. J. J. Kelly, B. F. Hoffmann. Am. J. Physiol., 1960, **199**, 157.

207. R. J. S. McDowall, A. F. Munro, A. F. Zayat. J. Physiol. (L.), 1955, **130**, 615.
208. H. F. Meyer, W. R. Kuchetz. Arch. Exp. Path. Pharmak., 1962, **242**, 409.
209. G. Noren, D. Goldring, W. Sleator. Circ. Res., 1961, **9**, 1229.
210. F. F. Kao, B. B. Schlig. J. Appl. Physiol., 1956, **9**, 387.
211. J. Bock. Arch. Exp. Path. Pharmak., 1908, **59**, suppl., 83.
212. F. P. Knowlton, E. H. Starling. J. Physiol. (L.), 1912, **44**, 206.
213. W. Kukovetz. Arch. Exp. Path. Pharmak., 1957, **231**, 496.
214. H. Kronecker. Das characteristische Merkmal der Herzmuskelbewegung. Leipzig, Vogel, 1874, 178—204.
215. C. Sprinceans. C. R. Soc. Biol. (Paris), 1925, **73**, 224—227.
216. A. Ekstein. Pflügers Arch., 1920, **183**, 40—70.
217. O. W. Barlow, T. Sollmann. J. Pharmacol., 1926, **17**, 325—339.
218. С. М. Руткевич. Теоретические проблемы действия низких температур на организм, вып. 2. Владимир, 1972, 150—154.
219. M. Cattell, D. J. Edwards. Am. J. Physiol., 1930, **93**, 97—104.
220. G. Galeotti, F. Piccinini. Arch. Physiol., 1910, **8**, 337—356.
221. B. Katzung, A. Farah. Am. J. Physiol., 1956, **184**, 557—562.
222. W. R. Dawson, G. A. Bartholomev. Physiol. Zool., 1958, **31**, 100—111.
223. G. A. Feigen, D. T. Masuoka, C. H. Thienes, P. R. Saunders. Sutherland Stanf. Med. Bull., 1952, 27—31.
224. L. Hirvonen, H. Lybeck. Acta Physiol. Scand., 1956, **36**, 29—37.
225. P. B. Hollander, J. L. Webb. Circul. Res., 1955, **3**, 604—612.
226. G. B. Sutherland, C. Thompson, G. A. Feigen. Arch. Inst. Cardiol. Mex., 1952, **22**, 714—721.
227. P. R. Saunders, P. N. Sanyal. J. Pharmacol., 1958, **123**, 161—163.
228. C. J. Rothberg, A. Sachs. Pflügers Arch., 1938, **240**, 60—81.
229. Ю. Р. Шейх-заде. Изменение свойств сердечной мышцы при охлаждении ее до 0°. Автореф. канд. дисс. Краснодар, 1972.
230. M. Cotten, T. G. Brown. J. Pharmacol., 1957, **121**, 319—329.
231. L. Goldberg. Am. J. Physiol., 1958, **194**, 92—98.
232. W. E. Garrey, S. E. Townsend. Am. J. Physiol., 1948, **152**, 219—224.
233. V. Krupta. C. R. Biol. (Paris), 1937, **125**, 498—501.
234. H. O. Haterius, G. L. Maison. Am. J. Physiol., 1948, **152**, 225—232.
235. C. McC. Brooks. B. F. Hoffman, E. E. Suckling, O. Orias. Excitability of the Heart. Grune, Starton N. Y., 1955.
236. L. Hirvonen. Acta Physiol. Scand., 1956, **36**, 38—46.
237. H. Meltzer, K. Mononobe. Pflügers Arch., 1928, 219, 286—300.
238. W. Lutz. Z. Kreislanfforsch., 1948, **37**, 314—321.
239. J. Fairfield. Am. J. Physiol., 1948, **155**, 355—365.
240. V. Krupta, J. Stejskalova. Arch. Inter. Physiol., 1960, **68**, 152—164.
241. Z. J. Penefsky. Am. J. Physiol., 1968, **214**, 730—736.
242. P. Heintzen, H. G. Kraft, C. Weigmann. Zs. Biol., 1956, **108**, 401—411.
243. S. Garb, M. B. Chenoweth. Am. J. Physiol., 1949, **156**, 27—34.
244. K. R. Reissman, S. Kapoor. J. Physiol., 1956, **184**, 162—170.
245. L. Hirvonen. Ann. Med. Exp. Fenn., 1955, **33**, suppl. 7.
246. H. Mashima, M. Matsumura. Jap. J. Physiol., 1964, **14**, 422—438.
247. H. Reichel, A. Bleichert. Nature, 1959, **183**, 826—827.
248. C. Pfeiffer, W. Rosler, E. Schubert. Acta Biol. et med. Germ., 1970, **25**, 411—419.
249. V. Krupta, R. Zadina. Arch. Int. Pharmacodyn., 1938, **59**, 198—211.
250. T. G. Brown, M. V. Cotten. J. Pharmacol., 1954, **110**, 8.
251. W. M. Booker. Arch. Int. Pharmacodyn., 1960, **124**, 11—20.
252. M. deV. Cotten, T. Cooper. J. Pharmacol., 1962, **136**, 97—106.
253. H. F. Hausler, M. Wieland. Arch. Exp. Path. Pharmak., 1962, **242**, 403—408.

254. H. F. Meyer. Arch. Exp. Path. Pharmak., 1960, **238**, 76—77.
255. A. S. Burgen, K. G. Terroux. J. Physiol., 1953, **120**, 449—464.
256. W. G. Neyler, J. E. Wright. Circul. Res., 1963, **13**, 199.
257. Б. Н. Манухин. Физиология адренорецепторов. М., «Наука», 1968.
258. J. P. Sumbera, V. Braveny, N. Krupta. Arch. Intern. Physiol. Bioch., 1967, **75**, 261.
259. G. A. Langer, A. J. Brady. J. Gen. Physiol., 1968, **52**, 682—713.
260. P. F. Baker, M. P. Blaustein, A. L. Hodgkin, R. R. Steinhardt. J. Physiol., 1967, **192**, 42—44P.
261. H. Reuter, N. Seitz. J. Physiol., 1968, **195**, 451—470.
262. Р. В. Гнитько. Статья в наст. сборнике, стр. 97.
263. E. Rumberger. Pflügers Arch., 1968, **301**, 70—75.
264. В. Я. Изаков. Статья в наст. сборнике, стр. 27.
265. E. Rumberger, H. Reichel. Pflügers Arch., 1972, **12**, 206—217.
266. C. Caputo. J. Physiol., 1972, **223**, 461—483.

✦✦✦

АКАДЕМИЯ НАУК СССР·УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА 1974

В. С. КРУГЛОВ

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЛЯГУШЕК

Влияние температуры на различные физиологические функции (особенно сердечно-сосудистой системы) изучено достаточно подробно. При понижении температуры увеличивается сила сердечных сокращений, их длительность, падает частота сердцебиений [1]. Такая закономерность справедлива как для гомойотермных (в определенном температурном диапазоне), так и пойкилотермных животных. Однако до сих пор практически отсутствуют работы, в которых сопоставлялись бы показатели сердечной деятельности одного вида, но обитающего в разных климатических зонах, а также систематические исследования термозависимых параметров миокардиальной сократимости разных видов лягушек. Сопоставить данные разных авторов трудно ввиду различия методических подходов, условий содержания животных, времени года. Задачи исследований, в которых изучаются свойства изолированной сердечной мышцы в зависимости от температуры, чисто «физиологические», и практически не исследована биологическая значимость наблюдаемых сдвигов, не затрагивается экологический аспект.

Установлены [2, 3] различия в соотношении потенциал действия — сокращение у лягушек вида *Rana arvalis* из северной и южной популяций. Однако количественные оценки их отсутствуют, а «биологический смысл» проблематичен. Ряд данных свидетельствует о наличии глубоких отличий в показателях деятельности мышечного препарата северной (Аляска — 65° с. ш.) *Rana sylvatica* и южной (Мексика — 28° с. ш.) *Rana pipiens* [4]. У первых величина развиваемого мышцей изометрического напряжения возрастала в 1,5—2,0 раза (амплитуда потенциала действия нерва и мышцы не изменялась) при понижении температуры от 25 до 0° С. У вторых изометрическое напряжение и амплитуда потенциала действия в том же температурном диапазоне падали. Следовательно, северные формы имеют определенные механизмы приспособления, обеспечивающие сохранность мышечной деятельности при низких температурах. Однако распространяются ли такие механизмы на миокард, не ясно a priori. Более того, даже если выявляется разница у се-

верных и южных форм в отношении некоторого физиологического показателя, всегда остается открытым вопрос, с чем они связаны — с закрепленными межпопуляционными отличиями или различной предадаптацией. Мы полагали, что устойчивые, закрепленные генетически различия (если таковые существуют) у двух форм одного вида можно выявить, создавая им одинаковую температурную предысторию.

Цель настоящей работы — понять значение физиологических приспособлений к температуре среды (на примере миокарда желудочка) у лягушек, обитающих в различных климатических зонах, и ответить на некоторые из поставленных выше вопросов.

Исследование выполнено на изолированных полосках миокарда желудочка лягушек видов: *Rana arvalis* («северная» — Южный Ямал и «южная» — Ильменский заповедник, оз. Миассово), *Rana macrocnemis* (Северный Кавказ, Голубые Озера), *Rana camerani* (окрестности г. Еревана). Особей каждого вида делили на две подгруппы: одну перед опытом выдерживали при 2—5° (холодовая адаптация), другую — при 18—20° (тепловая адаптация). Северные *R. arvalis* представлены только одной подгруппой, адаптированной к холоду. Животные находились при заданной температуре не менее месяца. После иссечения полоску помещали в модифицированный раствор Рингера. Механическую активность регистрировали в изометрическом режиме механотроном 6МХІС. Температурные характеристики сократимости миокарда исследовали в диапазоне 1—40° (температура задавалась с точностью ±0,2° в диапазоне 40—5° и ±0,5° при 1 и 5°). При каждой температуре препарат выдерживался не менее 0,5 *ч*. Вес препаратов варьировал от 10 до 45 *мг*. Все расчеты произведены на 10 *мг* веса препарата. Начальное растяжение составляет 100—200 *мг*.

У всех исследованных видов лягушек сила изометрических сокращений миокарда на оптимальных частотах стимуляции падает с повышением температуры (табл. 1). У лягушек, адаптированных к холоду, для силы сокращений получены следующие значения Q_{10}:

Температура, °С	Северные	Миассовские	*R. camerani*
1—10	0,28±0,03	0,49±0,03	0,45±0,02
10—20	0,32±0,03	0,45±0,03	0,64±0,04
20—30	0,62±0,07	0,47±0,05	0,56±0,04

Следует отметить, что у северных *R. arvalis* крутизна термоинотропной характеристики миокарда в диапазоне температур 1—20° значительно выше, чем у южных *R. arvalis* (оз. Миассово) и *R. camerani*, в то время как в области 20—30° она примерно одинакова.

Миокард северных лягушек возбудим в более широком диапазоне температур, чем миассовских, адаптированных к холоду. При 35° сердце первых сохраняет возбудимость и тепловых контрактур не возникает, у вторых тепловая контрактура возникает уже при 30—33°, а при 35° ее величина достигает 200—300 *мг* и полностью исчезает возбудимость. Сила сокращений миокарда *R. camerani,* адаптированных к холоду, при 20 и 30° значительно выше, чем сила сокращений миокарда *R. arvalis* в тех же условиях.

У лягушек, адаптированных к теплу, сила сокращений миокарда желудочка возрастает с понижением температуры в меньшей степени, чем у особей, адаптированных к холоду (см. табл. 1). Так, у *R. arvalis* (оз. Миассово) с изменением температуры от 30 до 1° она увеличивается в 4,5±0,5, а у *R. macrocnemis* — в 2,8±0,4 раза (различия достоверны при $P>0{,}95$). У лягушек, адаптированных к теплу, для силы сокращений получены следующие значения Q_{10}:

Температура, °C	*R. arvalis*	*R. macrocnemis*
1—10	0,72±0,08	0,59±0,04
10—20	0,52±0,05	0,70±0,06
20—30	0,56±0,07	0,79±0,10
30—40	—	0,59±0,10

Различия между *R. arvalis, R. macrocnemis, R. camerani* особенно четко проявляются при высоких температурах. С повышением температуры от 10° сократимость миокарда у *R. arvalis* резко падает, а у кавказских видов — мало изменяется. Миокард *R. arvalis* сохраняет возбудимость при 35°, но уже при этих условиях нарушается проведение и начинает развиваться тепловая контрактура, в ответ на один стимул может возникнуть несколько сокращений. Подобные явления на миокарде *R. camerani* и *R. macrocnemis* наблюдаются при 37—40°.

Сравнивая две группы лягушек (адаптированных к теплу и холоду), отметим следующее: холодовая адаптация повышает крутизну термоинотропной характеристики миокарда (сократимость повышается при низких температурах и понижается — при высоких).

В миокарде северных лягушек средняя скорость развития напряжения (dP/dt) не изменяется с температурой (табл. 2). Отметим, что средняя скорость прямо пропорциональна максимальной скорости развития напряжения [5]. У всех остальных лягушек dP/dt сильно зависит от температуры, а именно, растет с ее повышением. У лягушек, адаптированных к холоду, dP/dt при низких температурах значимо выше, чем у лягушек, адаптированных к теплу; при повышении температуры наоборот — dP/dt выше у лягушек, адаптированных к теплу. При дальнейшем повышении температуры dP/dt начинается умень-

Таблица 1

Величина развиваемого миокардом изометрического напряжения при различных температурах, *мг* на 10 *мг* веса препарата

Вид	Температура, °С						
	1	5	10	20	30	35	40
Адаптированные к холоду (2—5°С)							
R. arvalis (северная)	350±26	231±21	108±7	35±3	23±2	14±3	—
R. arvalis (оз. Миассово) . . .	178±10	126±4	93±3	40±3	19±3	0	—
R. camerani (г. Ереван)	195±7	164±7	98±4	63±3	35±2	—	—
Адаптированные к теплу (18—22°)							
R. arvalis (оз. Миассово) . . .	140±8	—	105±9	55±4	31±6	18±3	—
R. camerani (г. Ереван)	—	103±3	87±2	77±2	53±1	—	30±4
R. macrocnemis (Голубые озера) . . .	142±11	103±8	89±3	62±4	49±6	—	29±4

шаться: у *R. arvalis,* адаптированных к холоду, при 30°, к теплу — при 35°. У кавказских лягушек аналогичное уменьшение dP/dt наблюдается при более высоких температурах.

Обращает на себя внимание то, что у лягушек, адаптированных к холоду, зависимость dP/dt от температуры значительно меньше по сравнению с лягушками, адаптированными к теплу. Для миокарда миассовских *R. arvalis,* адаптированных к холоду, при 1—10° $Q_{10}=1{,}55\pm0{,}07$, адаптированных к теплу — $2{,}15\pm0{,}17$. Наибольшая зависимость dP/dt от температуры наблюдается у кавказских лягушек, адаптированных к теплу.

По литературным данным [6], северные виды амфибий способны сохранять нормальную активность при пониженной температуре среды [6]. Для этого необходимо приспособление животного в целом, а также его органов и клеток к этим экстре-

Таблица 2

Средняя скорость развития напряжения миокардом при различных температурах, *мг/сек* на 10 *мг* веса препарата

Вид	Температура, °С						
	1	5	10	20	30	35	40
Адаптированные к холоду							
R. arvalis (северная)	73±3 $n=14$	76±4 $n=14$	77±3 $n=20$	68±4 $n=10$	77±5 $n=7$	70±10 $n=5$	—
R. arvalis (оз. Миассово) . . .	40±2 $n=18$	46±1 $n=17$	60±1 $n=38$	64±3 $n=25$	47±5 $n=10$	—	—
R. camerani (г. Ереван)	41±2 $n=19$	57±2 $n=20$	50±3 $n=41$	84±4 $n=30$	92±4 $n=24$	—	—
Адаптированные к теплу							
R. arvalis (оз. Миассово) . . .	28±2 $n=15$	36±1 $n=12$	60±4 $n=29$	79±6 $n=25$	96±7 $n=18$	68±8 $n=7$	—
R. camerani (г. Ереван)	—	30±2 $n=20$	38±2 $n=27$	82±4 $n=14$	140±8 $n=19$	—	145±14 $n=7$
R. macrocnemis (Голубые озера) . .	29±2 $n=17$	39±2 $n=23$	40±2 $n=20$	91±4 $n=24$	137±10 $n=18$	—	130±16 $n=8$

мальным условиям. Такое приспособление наблюдалось на нервномышечных препаратах лягушек *R. sylvatica* с Аляски [4]. Вероятно, для поддержания нормальной активности животного при низких температурах необходимы определенные сдвиги и в сердечно-сосудистой системе животного, так как сердце отвечает за кислородный транспорт. Но при понижении температуры значительно увеличивается вязкость любой жидкости, особенно крови, а с повышением вязкости возрастает сопротивление движению крови по сосудистому руслу. Чтобы в этих условиях сохранить нормальный кровоток, необходимо увеличить силу сердечных сокращений. Отсюда понятно, почему у северных *R. arvalis* значительно возрастает сила сердечных сокращений при температурах ниже 10° и почему у лягушек, адаптированных к холоду, увеличивается сократимость

при низких температурах. Значительные различия в сократимости миокарда северных и южных лягушек, вероятно, закреплены генетически в результате отбора особей с более крутой термоинотропной характеристикой при продвижении их на север.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. С. Круглов, С. М. Руткевич, В. С. Мархасин. Влияние температуры на свойства сердечной мышцы. Статья в наст. сборнике, стр. 150.
2. Ю. П. Ведерников, Р. С. Орлов. Экология, 1971, **4**, 57.
3. Р. С. Орлов, Ю. П. Ведерников. Докл. АН СССР, 1972, **202**, 3, 700.
4. L. K. Miller, P. J. Dehlinger. Comp. Biochem. Physiol., 1969, **28**, 915.
5. G. A. Langer, A. J. Brady. J. Gen. Physiol., 1968, **52**, 682.
6. С. С. Шварц, В. Г. Ищенко. Пути приспособления наземных позвоночных животных к условиям существования в Субарктике. Т. 3. Земноводные. Труды Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1971, вып. 79.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие 3

В. Я. Изаков. Морфо-функциональная характеристика клеток миокарда 4

В. Я. Изаков. Электромеханическое сопряжение в миокарде . 27

С. М. Руткевич. Общая характеристика системы регуляции сократимости миокарда рыб 77

Ю. Л. Проценко, О. А. Жигальский. Некоторые проблемы изучения электромеханического сопряжения в миокарде 85

Р. В. Гнитько. О возможном механизме регуляции сократимости миокарда 97

В. М. Шевелев, Р. В. Гнитько. О роли ионов натрия в регуляции электрической и механической активности клеток ритмически работающего миокарда 109

Е. Ф. Четверикова, В. Я. Изаков. К механизму действия адреналина на электромеханическое сопряжение в клетках миокарда 118

Б. Г. Ткаченко. Влияние адреналина на хроноинотропию предсердий и желудочка черепахи (*Testudo horsfieldi*) . . 129

В. В. Горбачев. Сравнительное изучение хроноинотропии в различных отделах миокарда 135

О. А. Жигальский. О взаимоотношении гомеометрической и гетерометрической систем регуляции сократимости миокарда 142

В. С. Круглов, С. М. Руткевич, В. С. Мархасин. Влияние температуры на свойства сердечной мышцы 150

В. С. Круглов. Исследование температурных характеристик сократимости миокарда различных видов лягушек 171

УДК 612.172

Морфо-функциональная характеристика клеток миокарда. Изаков В. Я. «Клеточные механизмы регуляции сократимости миокарда». Свердловск, 1974 (УНЦ АН СССР).

Анализируются работы по изучению внутриклеточной структуры миокарда по данным электронной микроскопии. Рассматривается формирование внутриклеточных структур в онто- и филогенезе: и в том, и в другом случае происходит развитие саркоплазматического ретикулюма (СР), усложняется и повышается организация внутриклеточной геометрии. Развитый СР отмечается в клетках миокарда теплокровных, тогда как у холоднокровных позвоночных он выражен слабо. Более простая внутриклеточная структура имеет место в миокарде беспозвоночных. Основное внимание уделено структуре аппарата электромеханического сопряжения и клеточных контактов.

Иллюстраций 6. Библиогр. 133 назв.

УДК 612.172

Электромеханическое сопряжение в миокарде. Изаков В. Я. «Клеточные механизмы регуляции сократимости миокарда». Свердловск, 1974 (УНЦ АН СССР).

На основе новейших литературных данных рассматривается ЭМС в различных миокардиальных клетках. В отличие от скелетных мышц, потенциал действия (ПД) миокарда — не только триггер, но и регулятор сокращения. Регуляция в основном осуществляется забросом в клетку ионов кальция, связанным с параметрами (в основном с длительностью фазы плато) ПД, а также высвобождением кальция из саркоплазматического ретикулюма. Для холоднокровных животных значительную роль играет первый фактор, в связи с чем ПД холоднокровных — важное звено регуляции сократимости. В миокарде теплокровных регулирующая роль ПД менее выражена. Подробно рассматриваются основные гипотезы о механизмах ЭМС.

Таблиц 2. Библиогр. 251 назв.

УДК 612.172

Общая характеристика системы регуляции сократимости миокарда рыб. Руткевич С. М. «Клеточные механизмы регуляции сократимости миокарда». Свердловск, 1974 (УНЦ АН СССР).

Рассматриваются основные органные и клеточные механизмы регуляции силы сокращений миокарда желудочка плотвы (*Rutilus rutilus*). Показано, что регуляторные характеристики сердца плотвы принципиально не отличаются от таковых для леща *Abramis brama*, окуня *Perca fluviatilis*, ерша *Acerina cernua* и достаточно общие для всех *Teleostei*. Изучено инотропное влияние частоты сердцебиений, ионного состава среды, степени растяжения мышцы желудочка на сократимость, а также температурные изменения всех инотропных характеристик. Анализируется связь сердечного выхода с миокардиальной сократимостью. Делается вывод, что система регуляции как на уровне клетки, так и на уровне всего органа обеспечивает некоторую стабилизацию гемодинамической функции сердца при изменении температуры.

Иллюстраций 5. Библиогр. 13 назв.

УДК 612.172

Некоторые проблемы изучения электромеханического сопряжения в миокарде. Проценко Ю. Л., Жигальский О. А. «Кле-

точные механизмы регуляции сократимости миокарда». Свердловск, 1974 (УНЦ АН СССР).

Для изучения электромеханического сопряжения в миокарде лягушки использован метод создания искусственной деполяризации мембраны ионными и фармакологическими воздействиями. Изменения потенциала сопоставляются с возникающими контрактурами. Показано принципиальное различие в механизме генерации одиночных сокращений и контрактур. Приводится ряд фактов о «парадоксальном» эффекте адреналина на сократимость миокарда. Предложена гипотеза, объясняющая механизм электромеханического сопряжения в свете полученных данных.

Иллюстраций 8. Библиогр. 49 назв.

УДК 612.172

О возможном механизме регуляции сократимости миокарда. Гнитько Р. В. «Клеточные механизмы регуляции сократимости миокарда». Свердловск, 1974 (УНЦ АН СССР).

Приведены данные о влиянии деполяризующих и гиперполяризующих толчков тока, которые прикладывались в различные моменты потенциалов действия. Показано, что деполяризующий ток удлиняет фазу плато потенциала действия и резко активирует сократимость миокарда; гиперполяризующий ток обладает противоположным действием. Исследовано действие тока при различных режимах деятельности сердца. На основе приведенных данных формулируется гипотеза об электромеханическом сопряжении в миокарде холоднокровных.

Иллюстраций 7. Библиогр. 19 назв.

УДК 612.172

О роли ионов натрия в регуляции электрической и механической активности клеток ритмически работающего миокарда. Шевелев В. М., Гнитько Р. В. «Клеточные механизмы регуляции сократимости миокарда». Свердловск, 1974 (УНЦ АН СССР).

Исследованы параметры электрической и сократительной активности клеток миокарда желудочка лягушки на различных ритмах стимуляции при изменении наружной концентрации ионов натрия. Обнаружена выраженная зависимость сократительного ответа от параметров потенциала действия и от ритма стимуляции. На основе предложенной ранее модели анализируется хроноинотропия в клетках миокарда. Сделано предположение об обратных конкурентных отношениях ионов натрия и кальция у наружной и внутренней поверхности возбудимой мембраны и о наличии конкуренции между ними в некоторых участках саркотубулярной системы.

Таблиц 2. Иллюстраций 4. Библиогр. 29 назв.

УДК 612.172

К механизму действия адреналина на электромеханическое сопряжение в клетках миокарда. Четверикова Е. Ф., Изаков В. Я. «Клеточные механизмы регуляции сократимости миокарда». Свердловск, 1974 (УНЦ АН СССР).

Исследовано действие адреналина при различных частотных режимах деятельности сердца. Показано, что на высокой частоте сердцебиений адреналин обладает отрицательным инотропным действием. На фоне повышенной концентрации ионов кальция и при ингибировании кальциевой проницаемости ионами марганца эффект адреналина реализуется через изменение кальцие-

вой проницаемости и степени связывания кальция в саркоплазматическом ретикулюме. Обсуждаются ионные механизмы отрицательного инотропного действия адреналина.

Иллюстраций 6. Библиогр. 40 назв.

УДК 612.172

Влияние адреналина на хроноинотропию предсердий и желудочка черепахи. (*Testudo horsfieldi*). Ткаченко Б. Г. «Клеточные механизмы регуляции сократимости миокарда». Свердловск, 1974 (УНЦ АН СССР).

Рассматривается электромеханическое сопряжение в клетках предсердий и желудочка черепахи. Основное внимание уделено изучению зависимости силы сокращений от ритма сердцебиений и роль адреналина в регуляции электромеханического сопряжения. Показано, что предсердия и желудочек существенно различаются рядом физиологических характеристик: временным ходом сокращений и потенциалов действия, зависимостью силы сокращений от частоты раздражения, «потенциацией покоя», переходными процессами после пауз, характером реакции на воздействие адреналина. Высказано предположение, что различия в реакциях между предсердиями и желудочком могут быть обусловлены концентрацией эндогенных катехоламинов, которые модулируют электромеханическое сопряжение ритмически работающего миокарда.

Иллюстраций 4. Библиогр. 34 назв.

УДК 612.172

Сравнительное изучение хроноинотропии в различных отделах миокарда. Горбачев В. В. «Клеточные механизмы регуляции сократимости миокарда». Свердловск, 1974 (УНЦ АН СССР).

Сравниваются хроноинотропные свойства различных отделов сердца крысы. Выявлены существенные различия во временном ходе механического ответа предсердий и желудочков. Сняты характеристики «сила — частота» для правого и левого сердца. Характер переходных процессов в обоих предсердиях сходен, в желудочках крутизна лестницы Вудворса прямо пропорциональна изменению частоты стимуляции. Показано различие в характере электромеханического сопряжения в предсердиях и желудочках.

Иллюстраций 4. Библиогр. 17 назв.

УДК 612.172

О взаимоотношении гомеометрической и гетерометрической систем регуляции сократимости миокарда. Жигальский О. А. «Клеточные механизмы регуляции сократимости миокарда». Свердловск, 1974 (УНЦ АН СССР).

С помощью аппарата нелинейной множественной регрессии и теории случайных функций проанализировано влияние растяжения на динамические характеристики хроноинотропной системы регулирования сократимости миокарда. Показано, что хроноинотропная и гетерометрическая системы — независимые контуры регулирования сократимости. Обсуждаются клеточные механизмы влияния ритма на параметры сокращений сердца.

Иллюстраций 3. Библиогр. 25 назв.

УДК 612.172

Влияние температуры на свойства сердечной мышцы. Круглов В. С., Руткевич С. М., Мархасин В. С. «Клеточные

механизмы регуляции сократимости миокарда». Свердловск, 1974 (УНЦ АН СССР).

Приведены данные о влиянии температуры на параметры электрической и механической активности клеток миокарда преимущественно холоднокровных. Анализируется влияние температуры на ритм сердцебиений, механизмы изменения потенциалов действия и электромеханического сопряжения при изменениях температуры.

Библиогр. 266 назв.

УДК 591.112

Исследование температурных характеристик сократимости миокарда различных видов лягушек. Круглов В. С. «Клеточные механизмы регуляции сократимости миокарда». Свердловск, 1974 (УНЦ АН СССР).

Исследована зависимость силы изометрических сокращений миокарда лягушек (*Rana arvalis* (две формы), *R. camerani* и *R. macrocnemis*) от температуры после предадаптации к теплу и холоду. Сила сокращений миокарда повышалась с понижением температуры в большей степени у особей, адаптированных к холоду. Средняя скорость развития напряжения миокардом при низких температурах больше у лягушек, адаптированных к холоду, при высоких температурах — у лягушек, адаптированных к теплу.

Таблиц 2. Библиогр. 6 назв.

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ
СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА

Труды Института экологии растений и животных
УНЦ АН СССР, вып. 92

Утверждено к печати
Редакционно-издательским советом
Уральского научного центра АН СССР

Редактор **К. И. Ушакова.** Обложка **М. Н. Гарипова.**
Техн. редактор **Н. Р. Рабинович.** Корректор **А. С. Осокина.**

РИСО УНЦ № 604—25(74). Сдано в набор 28/III 1974 г.
НС 15003. Подписано к печати 3/I 1975 г. Печ. л. 11,5.
Уч.-изд. л. 12,8. Формат 60×90/16. Заказ 193. Тираж 1000.
Цена 1 р. 28 к.

РИСО УНЦ АН СССР, Свердловск, К-49, ул. Первомайская, 91.
Типография изд-ва «Уральский рабочий», г. Свердловск, пр. Ленина, 49.