

УДК 612.172

## КИНЕТИКА ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ И ПОТЕНЦИАЛ ДЕЙСТВИЯ В МИОКАРДЕ ЖЕЛУДОЧКОВ СПОНТАННО-ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС ЛИНИИ ISIAH

© 2020 г. А.А. Балакин, О.Н. Лукин, Д.А. Кузнецов, Ю.Л. Проценко

*Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН,  
Екатеринбург, 620049, ул. Первомайская, 106*

*E-mail: virus\_x@mail.ru*

Поступила в редакцию 03.10.2019 г.

После доработки 13.02.2020 г.

Принята к публикации 25.02.2020 г.

На многоклеточных препаратах миокарда правого и левого желудочков здоровых контрольных крыс и крыс с врожденной артериальной гипертензией показана зависимость кинетики внутриклеточного кальция и длительности потенциала действия кардиомиоцитов от возраста животных. В препаратах миокарда контрольных и гипертензивных крыс кинетика спада свободного внутриклеточного кальция с возрастом замедляется, а различия между группами минимизируются. При этом сглаживается фаза кратковременного замедления спада внутриклеточного кальция, отчетливо выраженной в правом желудочке молодых гипертензивных крыс. С возрастом длительность реполяризации в кардиомиоцитах обоих желудочков у крыс контрольной и спонтанно гипертензивной групп уменьшается, однако в препаратах правого желудочка контрольных крыс она всегда остается большей по отношению к миокарду гипертензивных крыс. Таким образом, впервые экспериментально получены данные о возрастной динамике некоторых характеристик электромеханического сопряжения в миокарде крыс с врожденной артериальной гипертензией, которые свидетельствуют о развитии спонтанной гипертрофии, вероятно, вызванной активацией ренин-ангиотензиновой системы.

*Ключевые слова: миокард; возраст; гипертензия; кинетика свободного внутриклеточного кальция; потенциал действия.*

DOI: 10.31857/S0006302920030187

Длительное действие гипертензии является одной из основных причин развития гипертрофии сердца и сердечной недостаточности. Существует несколько экспериментальных моделей развития артериальной гипертензии, и, как правило, у большинства моделей механизмы инициации гипертензии запускаются практически сразу после воздействия (инъекции активных веществ, различные перевязки и т.д.). Относительно недавно появились линии крыс с генетически обусловленной гипертензией, которая развивается постепенно. Одна из таких линий — это широко известная линия спонтанно-гипертензивных крыс (SHR), вторая — выведенная в

России линия с генетически обусловленной стресс-чувствительной артериальной гипертензией (ISIAH — Inherited Stress-Induced Arterial Hypertension) [1, 2]. Представляет интерес исследовать изменения биофизических характеристик миокарда крыс линии ISIAH в ходе развития гипертензии.

Известно, что гипертрофия проявляется рядом изменений в системе электромеханического сопряжения возбуждения с сокращением миокарда и, в частности, в изменении длительности потенциала действия и кинетики свободного  $Ca^{2+}$  в миоцитах [3]. Также на кинетику  $Ca^{2+}$  и длительность потенциала действия влияет и возраст [4]. Для того чтобы сопоставить данные изменений кинетики цитозольного  $Ca^{2+}$  и длительности потенциала действия от возраста и постепенного развития гипертрофии, исследование проводили на самцах крыс двух возрастов — полутора- и семимесячных. В качестве контрольных (нормотензивных) животных использовали крыс

*Сокращения: SHR — линия спонтанно-гипертензивных крыс (Spontaneously Hypertensive Rats), ISIAH — линия крыс с генетически обусловленной стресс-чувствительной артериальной гипертензией (Inherited Stress-Induced Arterial Hypertension), WAG — линия нормотензивных крыс Wistar Albino Glaxo, WKY — линия нормотензивных крыс Wistar-Kyoto,  $[Ca^{2+}]_i$  — ионы несвязанного цитозольного кальция.*

линии WAG (Wistar Albino Glaxo), в качестве экспериментальных (гипертензивных) – крыс линии ISIAN с генетически обусловленной стресс-чувствительной артериальной гипертензией. Поскольку электромеханическое сопряжение в миокарде крыс линии ISIAN практически не изучено, учитывая экспериментально подтвержденную содружественность функций желудочков [5–8], можно ожидать развитие гипертрофии обоих отделов сердца. В связи с этим мы исследовали изолированные препараты правого и левого желудочков сердца животных.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты были выполнены на самцах крыс двух возрастных групп – полутора и семи месяцев. Исследованы сердечные мышцы нормотензивных крыс линии WAG и гипертензивных крыс линии ISIAN; полученные данные сопоставлены друг с другом, а также с имеющимися литературными данными для крыс линии SHR. Поскольку у генетически модифицированных крыс гипертензия развивается постепенно, то исследования проводили на изолированных папиллярных мышцах и трабекулах правого (RV) и левого (LV) желудочков сердца крыс линий WAG и ISIAN для указанных выше возрастов: ISIAN 1.5 мес. ( $n = 14$ ), WAG 1.5 мес. ( $n = 9$ ), ISIAN 7 мес. ( $n = 8$ ), WAG 7 мес. ( $n = 14$ ). Для исследования и анализа сформированы восемь групп исходя из линии, возраста и отдела сердца: WAG(1.5)-RV, ISIAN(1.5)-RV, WAG(7)-RV, ISIAN(7)-RV, WAG(1.5)-LV, ISIAN(1.5)-LV, WAG(7)-LV, ISIAN(7)-LV.

Артериальное давление у крыс регистрировали плетизмографическим методом. Измерение проводили на наркотизированных самцах крыс линий ISIAN и WAG семимесячного возраста с использованием аппаратного комплекса PowerLab-30 Series (ADInstruments, США) и программного комплекса LabChart 7 (ADInstruments, США). В группах молодых крыс измерение давления представляет сложности в связи с малыми размерами животных, что приводит к высокой вариабельности данных. Перед процедурой измерения артериального давления крысам внутримышечно вводили препарат ксилазин в дозе 0.6–0.8 мл/кг, через 10–15 мин внутримышечно вводили золетил 50 в дозе 0.06 мл/кг внутримышечно. Это позволяло ввести животных в состояние поверхностного наркоза и устранить помехи, обусловленные мышечной активностью, регистрируемые пульсоксиметрическим датчиком у активных животных.

Затем животных подвергали эвтаназии методом цервикальной дислокации, извлекали сердце и помещали в препаративную ванночку с раствором Кребса–Хенселейта (в mM): NaCl – 118,

KCl – 4.7, MgSO<sub>4</sub> – 1.2, NaHCO<sub>3</sub> – 14.5, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1.2, CaCl<sub>2</sub> – 2.5, глюкоза – 11.1 при pH 7.35 и насыщении смесью 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>. В раствор добавляли 30 mM 2,3-бутандион монооксида для предотвращения повреждения препаратов миокарда при их иссечении. Из правого желудочка сердца вырезали тонкие папиллярные мышцы и трабекулы, из левого – только папиллярные мышцы. Извлеченные препараты миокарда перемещали в экспериментальную ванну с проточным раствором Кребса при насыщении смесью 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>. Измерения выполняли при длине препаратов миокарда, равной 95% от максимальной, температуре 25°C и частоте электрической стимуляции 0.33 Гц.

Для регистрации свечения несвязанного внутриклеточного кальция ( $[Ca^{2+}]_i$ ) в кардиомиоцитах сердечной мышцы использовали кальцийсвязывающий флуоресцентный краситель fura-2/AM (Sigma-Aldrich, США) в концентрации 4 мкМ и специальный агент Pluronic F-127 (Sigma-Aldrich, США), способствующий проникновению флуорофора сквозь саркоплазматическую мембрану, в концентрации 0.2%. Перфузию этим раствором проводили в течение 1 ч, после чего омывающий раствор вновь заменяли на стандартный раствор Кребса без флуорофора. Измерения начинали через 30 мин после замены раствора. Оптическую регистрацию свечения флуорофора в многоклеточном препарате выполняли с помощью системы для исследования мышечной активности Muscle Research System (Scientific Instruments GmbH, Германия) на базе инвертированного эпифлуоресцентного микроскопа Axiovert 200 (Carl Zeiss, Германия). Для возбуждения флуорофора fura-2/AM использовали широкополосную ртутную лампу и систему вращающихся узкополосных светофильтров с длиной волны пропускания 340 и 380 нм (Scientific Instruments GmbH, Германия). Световой поток эмиссии флуорофора направляли на светоделительный кубик с полосой пропускания 510/590 нм (FilterSet #21HE, Carl Zeiss, Германия).

Регистрацию мембранного потенциала в клетках изолированной сердечной мышцы осуществляли с помощью плавающих стеклянных микроэлектродов с использованием системы Intracellular Electrometer IE-210 (Warner Instrument Corporation, США). Микроэлектроды были получены с помощью пуллера KOPF needle/pipette puller, model 730 (David KOPF Instruments, США), заполнены 3 M раствором KCl и с помощью вставленной внутрь хлорсеребряной проволоки прикреплены к выносному блоку согласователя измерительной системы.

Измерительные и задающие периферийные устройства через АЦП/ЦАП PCI-1716S (AdLink

Морфометрические показатели сердец нормотензивных (WAG) и гипертензивных (ISIAN) крыс для двух возрастных групп (полтора и семь месяцев)

Показатели	Группа			
	ISIAN, 1.5 мес., $n = 14$	WAG, 1.5 мес., $n = 9$	ISIAN, 7 мес., $n = 8$	WAG, 7 мес., $n = 14$
Масса тела, г	187.5 (170.0; 196.0) * #	159.0 (154.0; 170.0) * ##	398.0 (374.0; 416.0) #	374.5 (358.0; 393.00) ##
$L_{tibia}$	31.25 (29.30; 31.80) * #	27.80 (26.95; 28.30) * ##	42.40 (41.45; 43.20) ** #	39.95 (38.70; 41.40) ** ##
Масса сердца, г	0.6791 (0.5917; 0.7287) * #	0.5294 (0.5222; 0.5720) * ##	1.0967 (1.0547; 1.1672) ** #	0.8367 (0.7882; 0.9505) ** ##
Отношение массы сердца к массе тела, г/г	0.0037 (0.0033; 0.0040) * #	0.0034 (0.0033; 0.0034) * ##	0.0028 (0.0027; 0.0029) ** #	0.0023 (0.0022; 0.0024) ** ##
Отношение массы сердца к $L_{tibia}$ , Г/мм	0.0213 (0.0189; 0.0241) #	0.0192 (0.0187; 0.0194) ##	0.0254 (0.0250; 0.0274) ** #	0.0212 (0.0208; 0.0233) ** ##
$P_{сист}$ , мм рт. ст.	—	—	169.3 (142.7; 194.3) **	114.7 (104.3; 123.0) **

Примечание. Данные представлены в следующем виде: медиана (нижний квартиль, верхний квартиль);  $L_{tibia}$  — длина берцовой кости,  $P_{сист}$  — систолическое артериальное давление крови в хвостовой артерии. Различия статистически значимы ( $U$ -тест Манна-Уитни,  $P < 0.05$ ): \* — между группами ISIAN 1.5 мес. и WAG 1.5 мес., \*\* — между группами ISIAN 7 мес. и WAG 7 мес., # — между группами ISIAN 1.5 и 7 мес., ## — между группами WAG 1.5 и 7 мес.

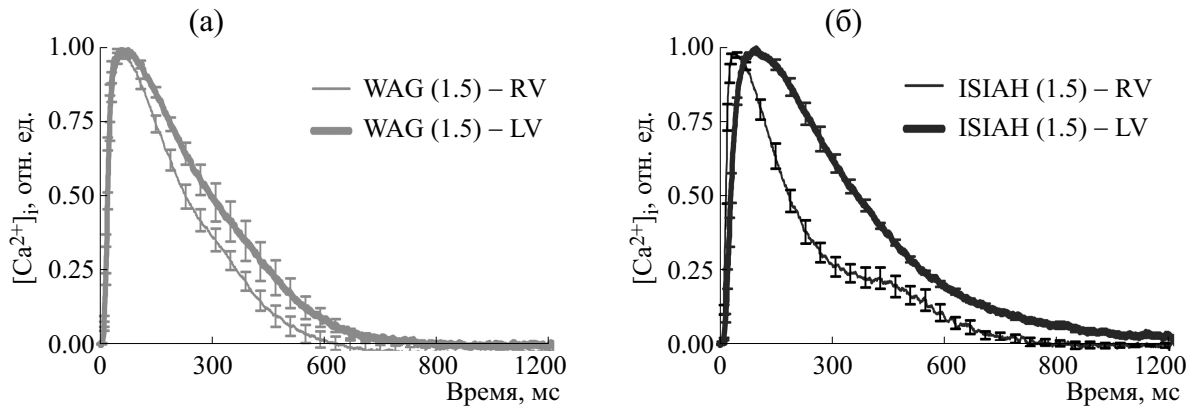
Technology Inc., Тайвань) были связаны с персональным компьютером для регистрации сигналов с временной дискретностью 0.1 мс. Для онлайн-измерения использовали собственный пакет программного обеспечения, работа которого была реализована в подсистеме реального времени HyperKernel (Arc Systems Ltd., Япония), интегрированной в ОС Windows XP.

Экспериментальные данные были проверены на нормальность распределения с использованием тестов Колмогорова—Смирнова и Лиллифорса, Шапиро—Уилка и анализа асимметрии и эксцесса. Полученные нами данные не имели нормального распределения, поэтому для статистической оценки результатов были использованы непараметрические методы оценки статистической значимости различий между группами животных ( $U$ -тест Манна—Уитни и односторонний дисперсионный анализ Краскела—Уоллиса для множественных сравнений), различия считались статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Артериальное систолическое давление и морфометрия миокарда.** Для оценки степени гипертрофии сердца проведены неинвазивные измерения систолического артериального давления крови в хвостовой артерии, а также проанализированы

морфометрические показатели сердец животных. У семимесячных крыс линии ISIAN обнаружено достоверное превышение артериального давления приблизительно в полтора раза по сравнению с крысами группы WAG того же возраста (таблица). Одним из признаков гипертрофии является утолщение стенки желудочков и увеличение их массы [9, 10]. В полуторамесячном возрасте медианное значение массы сердца крыс линии ISIAN составляло 0.68 г и к семимесячному возрасту достигло 1.1 г, в то время как у крыс линии WAG медианное значение массы сердца составляло 0.53 г и 0.8 г соответственно (различия достоверны между группами для каждого возраста,  $P < 0.05$ ). Мы обнаружили, что индекс отношения массы сердца к массе тела больше у крыс линии ISIAN по сравнению с крысами линии WAG и с возрастом различия стали еще существеннее (0.0037 против 0.0034 в полуторамесячном возрасте и 0.0028 против 0.0023 — в семимесячном возрасте, см. таблицу). Таким образом, возрастной прирост массы сердца, нормированной на вес тела, в группе спонтанно-гипертензивных крыс превышает прирост в контрольной группе, что можно объяснить развитием гипертрофии сердца в группе ISIAN. Индекс отношения массы сердца к длине берцовой кости также больше у крыс линии ISIAN и с возрастом различия также усилились (0.0213 против 0.0192 в полуторамесячном воз-



**Рис. 1.** Сопоставление кривых кинетики несвязанного цитозольного кальция ( $[Ca^{2+}]_i$ ) для препаратов миокарда правого и левого желудочков сердец полуторамесячных нормотензивных (линия WAG) (а) и гипертензивных (линия ISIAH) (б) крыс. Измерения выполнены при длине мышцы 95% от оптимальной длины. Кривые нормированы на собственный максимум, диастолический уровень вычтен. Данные приведены как среднее для всех препаратов группы  $\pm$  ошибка среднего.

расте и 0.0254 против 0.0212 — в семимесячном возрасте), что свидетельствует о прогрессировании гипертрофии сердца спонтанно-гипертензивных крыс наряду с возрастными изменениями.

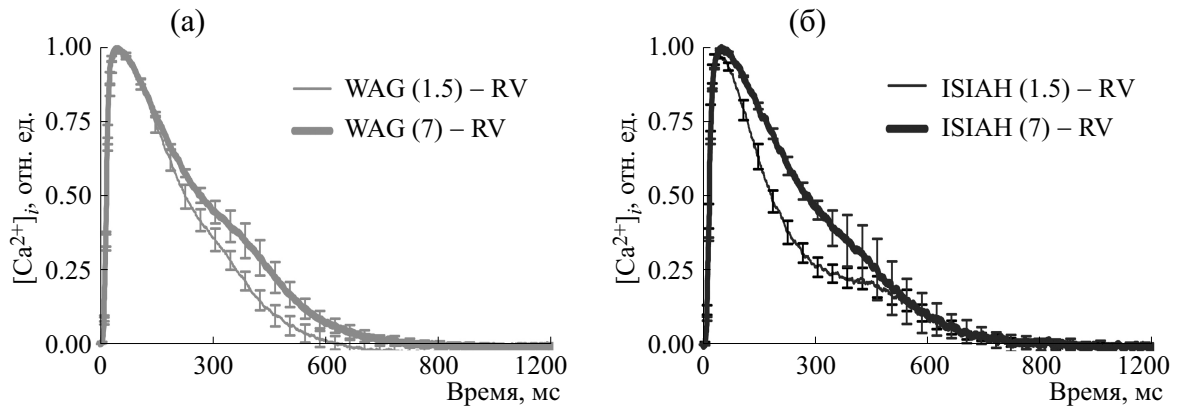
**Кинетика несвязанного внутриклеточного кальция.** Кинетику несвязанного кальция в цитозоле регистрировали в стимулируемых изометрически сокращающихся изолированных многоклеточных препаратах миокарда при длине 95% от максимальной. Следует отметить, что абсолютные величины интенсивности свечения существенно зависят от: 1) геометрических размеров препарата, 2) длительности окраски препарата флуорофором, 3) качества окраски препарата флуорофором. Для исключения влияния указанных факторов мы сопоставляли нормированные на собственный максимум кривые интенсивности свечения флуорофора fura-2/AM при вычтенном диастолическом уровне, полученные в каждом препарате. Это позволило выявить особенности в кинетике  $[Ca^{2+}]_i$  для препаратов миокарда различных групп животных.

Было обнаружено, что у крыс линии WAG полуторамесячного возраста длительности фазы нарастания кальциевых переходов ( $[Ca^{2+}]_i$ ) в препаратах миокарда правого и левого желудочков совпадают (рис. 1а). При этом у крыс линии ISIAH фаза нарастания  $[Ca^{2+}]_i$  в миокарде левого желудочка более чем в два раза длиннее по сравнению с миокардом правого желудочка. У обеих линий животных полуторамесячного возраста время спада  $[Ca^{2+}]_i$  от пика до уровня  $<5\%$  амплитуды  $[Ca^{2+}]_i$  в миокарде левого желудочка было существенно больше, чем в миокарде правого желудочка. При этом такое увеличение времени спада

$[Ca^{2+}]_i$  (замедление фазы спада) более выражено в миокарде крыс линии ISIAH. Более того, в отличие от крыс линии WAG, у крыс линии ISIAH хорошо заметно различие характера спада  $[Ca^{2+}]_i$  между препаратами миокарда левого и правого желудочков (ср. рис. 1а и 1б). Спад кальциевого перехода в миокарде левого желудочка монотонен, в то время как в миокарде правого желудочка имеет выраженную фазу кратковременного замедления, формирующую характерный коленообразный ход спада (так называемая фаза «bump» [11, 12]).

С возрастом у крыс обеих линий кинетика спада  $[Ca^{2+}]_i$  в препаратах миокарда правого желудочка замедляется (рис. 2). Интересно, что при этом характер спада у крыс линии WAG (рис. 2а) не изменяется. Напротив, у крыс линии ISIAH фаза кратковременного замедления спада  $[Ca^{2+}]_i$  с возрастом становится менее выраженной за счет значительного замедления начальной фазы спада (рис. 2б).

При сопоставлении изменений кинетики кальциевого перехода ( $[Ca^{2+}]_i$ ) в препаратах миокарда правого желудочка у крыс линий WAG и ISIAH полуторамесячного возраста было обнаружено, что характер этого спада является существенно немонотонным только у крыс линии ISIAH, так что в начальную фазу спад происходит быстрее, чем у нормотензивных крыс, но замедляется в более позднюю фазу и происходит позднее, чем у нормотензивных крыс (рис. 3а). Это обуславливает и то, что общая длительность кальциевого перехода в миокарде правого желудочка у полуторамесячных крыс линии ISIAH на  $\sim 25\%$  больше, чем у контрольных крыс того же возраста. Для препаратов миокарда левого желудочка у



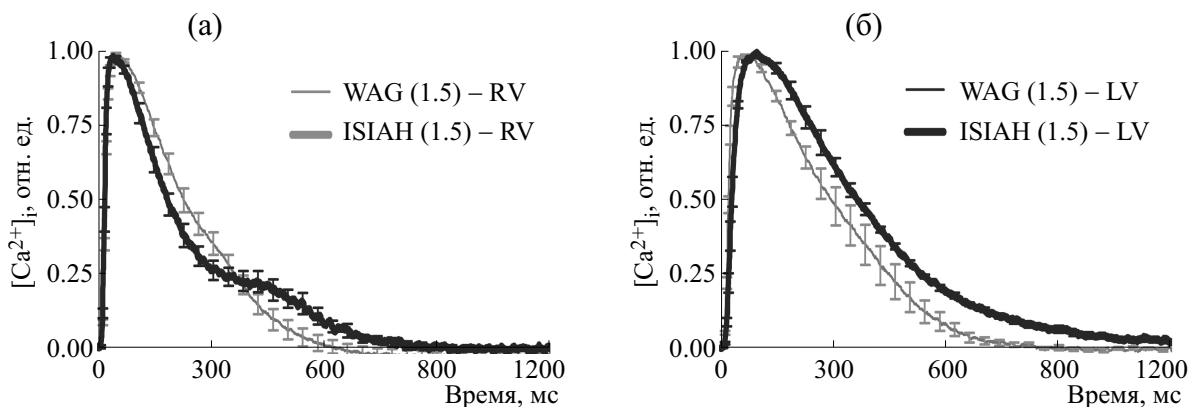
**Рис. 2.** Сопоставление кривых кинетики несвязанного цитозольного кальция ( $[Ca^{2+}]_i$ ) для препаратов миокарда правого желудочка сердца полутора- и семимесячных нормотензивных (линия WAG) (а) и гипертензивных (линия ISIAH) (б) крыс. Измерения выполнены при длине мышцы 95% от оптимальной длины. Кривые нормированы на собственный максимум, диастолический уровень вычтен. Данные приведены как среднее для всех препаратов группы  $\pm$  ошибка среднего.

крыс линий WAG и ISIAH полуторамесячного возраста показано, что при врожденной артериальной гипертензии спад  $[Ca^{2+}]_i$  происходит медленнее независимо от уровня этого спада (начальный или более поздний, см. рис. 3б). Интересно, что у семимесячных крыс линий WAG и ISIAH не оказалось различий в кинетике роста или спада  $[Ca^{2+}]_i$  в препаратах миокарда правого желудочка (данные не приведены).

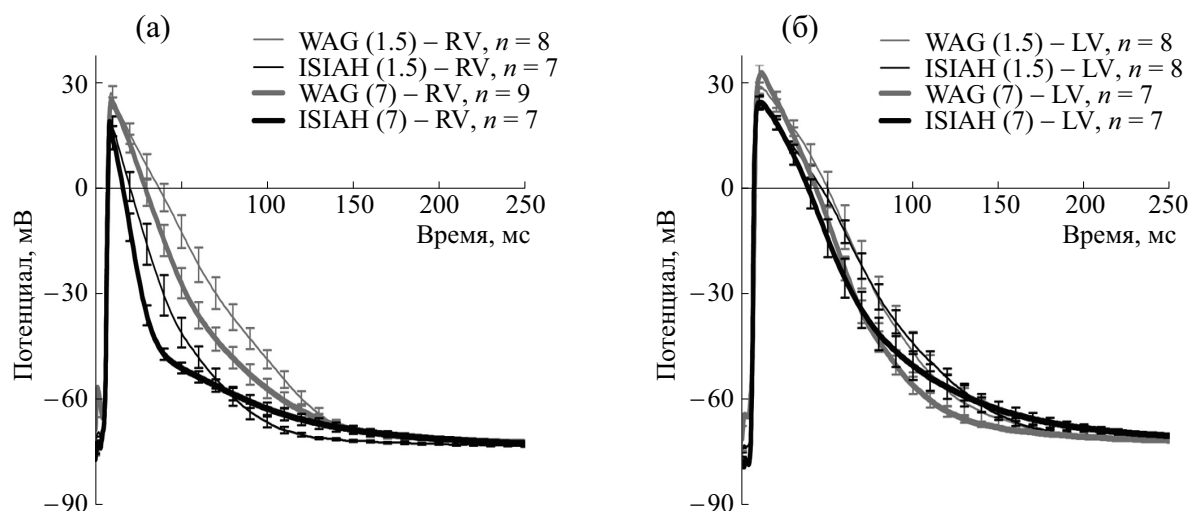
В миокарде правого желудочка сердец крыс линий WAG и ISIAH показано существенное влияние степени растяжения мышцы на характер спада  $[Ca^{2+}]_i$  в ее клетках независимо от возраста животного. Так, если в нерастянутой мышце спад кинетики кальция монотонен, то при задании растяжения до 95% от оптимальной длины препа-

рата спад  $[Ca^{2+}]_i$  при расслаблении сердечной мышцы в стационарных условиях имеет характерную фазу кратковременного замедления, причем эта фаза более выражена в миокарде крыс с врожденной артериальной гипертензией. Важно отметить, что в миокарде левого желудочка этот эффект отсутствует.

**Потенциал действия.** Потенциалы действия кардиомиоцитов крыс линий WAG и ISIAH полутора- и семимесячного возраста имели характерную для миокарда крыс форму, как в препаратах правого, так и левого желудочка (рис. 4). Наиболее выраженные возрастные отличия зарегистрированы в длительности фазы реполяризации потенциалов действия в препарате правого желудочка обеих групп крыс (рис. 4а). В правом желудочке длительность реполяризации была до-



**Рис. 3.** Сопоставление кривых кинетики несвязанного цитозольного кальция ( $[Ca^{2+}]_i$ ) для препаратов миокарда правого (а) и левого (б) желудочков сердец полуторамесячных нормотензивных (линия WAG) и гипертензивных (линия ISIAH) крыс (сопоставление между группами). Измерения выполнены при длине мышцы 95% от оптимальной длины. Кривые нормированы на собственный максимум, диастолический уровень вычтен. Данные приведены как среднее для всех препаратов группы  $\pm$  ошибка среднего.



**Рис. 4.** Сопоставление потенциалов действия кардиомиоцитов препаратов миокарда правого (а) и левого (б) желудочков сердец полутора- и семимесячных нормотензивных (линия WAG) и гипертензивных (линия ISIAH) крыс. Измерения выполнены при длине мышцы 95% от оптимальной длины. Данные приведены как среднее для всех препаратов группы  $\pm$  ошибка среднего.

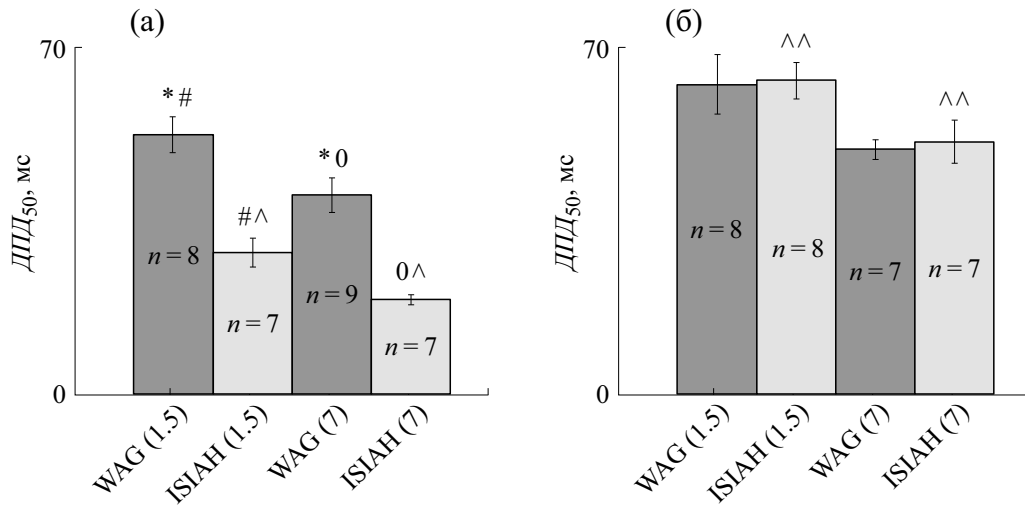
стоверно больше в миокарде контрольных крыс, в сравнении со спонтанно-гипертензивными крысами линии ISIAH. С возрастом у животных экспериментальной и контрольной групп длительность реполяризации уменьшалась. Так, в препаратах миокарда правого желудочка длительность реполяризации потенциалов действия на уровне 50% амплитуды при частоте стимуляции 0.33 Гц составляла у полуторамесячных крыс линии WAG  $56.1 \pm 3.8$  мс, а у семимесячных крыс этой же линии —  $43.1 \pm 3.7$  мс ( $p = 0.0383$ , тест Краскела–Уоллиса). В миокарде правого желудочка полуторамесячных крыс линии ISIAH длительность потенциала действия на уровне 50% амплитуды составила  $30.7 \pm 3.1$  мс, а у семимесячных крыс этой же линии —  $20.6 \pm 1.1$  мс ( $p = 0.0086$ , тест Краскела–Уоллиса). В папиллярных мышцах левого желудочка значимые отличия обнаружены между группами крыс линии ISIAH полутора- и семимесячного возраста, длительность потенциала действия на уровне 50% амплитуды составила  $67.8 \pm 3.9$  мс и  $54.6 \pm 4.6$  мс соответственно ( $p = 0.0489$ , тест Краскела–Уоллиса). С возрастом в обеих группах длительность потенциалов действия на уровне 50% амплитуды также уменьшается (рис. 4б).

Для более наглядного представления приведена сводная диаграмма величин длительности потенциалов действия в сердечных мышцах всех исследованных групп (рис. 5). Видно, что в сердечных мышцах правого и левого желудочка спонтанно-гипертензивных (ISIAH) и нормотензивных (WAG) крыс длительность потенциалов действия с возрастом уменьшается. Препараты миокарда правого желудочка отличаются от тако-

вых для левого тем, что длительность потенциалов действия на уровне 50% амплитуды у крыс линии ISIAH меньше, чем у крыс линии WAG, независимо от возраста. В левом желудочке длительность потенциалов действия зависит только от возраста крыс нормальной и гипертензивной групп.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Различия характеристик кинетики кальциевых переходов ( $[Ca^{2+}]_i$ ), обнаруженных нами в изолированных многоклеточных препаратах миокарда желудочков сердец крыс линии ISIAH (с наследственной артериальной гипертензией) и в миокарде нормотензивных крыс линии WAG, не согласуются с литературными данными о различиях кинетики несвязанного цитозольного кальция в миокарде крыс со спонтанной артериальной гипертензией (SHR) и нормотензивных крыс линии Wistar-Kyoto (WKY). А именно, в наших экспериментах у крыс линии ISIAH длительность сигнала свечения  $[Ca^{2+}]_i$  больше, а амплитуда — меньше, в сравнении с таковыми в миокарде нормотензивной группы WAG. Большинство исследований на одиночных вентрикулярных кардиомиоцитах крыс линий SHR и WKY в возрасте от одного до шести месяцев показывают, что амплитуда  $[Ca^{2+}]_i$  выше у гипертензивных животных [3, 13, 14]. При этом длительность  $[Ca^{2+}]_i$  в миокарде гипертензивных крыс не изменяется [13] или же возрастает [15], как это показали мы в нашем исследовании. По другим данным,



**Рис. 5.** Усредненные значения длительности потенциала действия на уровне 50% амплитуды потенциала действия (ДПД<sub>50</sub>) в кардиомиоцитах папиллярных мышц правого (а) и левого (б) желудочков сердца самцов полтора- и семимесячных нормотензивных (линия WAG) и гипертензивных (линия ISIAN) крыс. Измерения выполнены при длине мышцы 95% от оптимальной длины. Данные приведены как среднее для всех препаратов группы  $\pm$  ошибка среднего. Различия статистически значимы (тест Краскела–Уоллиса,  $p < 0.05$ ): \* – WAG 1.5 мес. по сравнению с WAG 7 мес. (правый желудочек), ^ – ISIAN 1.5 мес. по сравнению с ISIAN 7 мес. (правый желудочек), # – WAG 1.5 мес. по сравнению с ISIAN 1.5 (правый желудочек), ° – WAG 7 мес. по сравнению с ISIAN 7 мес. (правый желудочек), ^^ – ISIAN 1.5 мес. по сравнению с ISIAN 7 мес. (левый желудочек).

ни амплитуда, ни длительность  $[Ca^{2+}]_i$  у крыс со спонтанной гипертензией не изменяются [16].

Обратное соотношение длительности потенциалов действия в миокарде нормотензивных и гипертензивных крыс, показанное в нашей работе, также противоречит большинству литературных данных о соотношении длительности потенциалов действия в нормальном и гипертрофированном миокарде. Как и в большинстве моделей гипертрофии сердца животных, миокард крыс линии SHR характеризуется увеличением длительности потенциалов действия [14]. Этот феномен был впервые описан в работах на многоклеточных препаратах [17]. Показано значительное увеличение длительности потенциалов действия в миокарде крыс линии SHR по сравнению с крысами линии WKY: на уровне 50% амплитуды он был равен  $39.8 \pm 18.9$  мс у крыс линии SHR и  $10.0 \pm 2.7$  мс – у крыс линии WKY [3]. Также показано удлинение потенциалов действия в кардиомиоцитах левого желудочка двух- и семнадцатимесячных самцов спонтанно-гипертензивных крыс (SHR) по сравнению с нормотензивными крысами (WKY) при частоте стимуляции 0.2 Гц и температуре 35°C [18].

В гипертрофированных сердцах крыс удлинение потенциалов действия обусловлено падением плотности реполяризирующего калиевого тока  $I_{to}$ . Этот феномен прямо связан с длительностью гипертензии. Ток  $I_{to}$  играет ведущую роль в фазе реполяризации потенциала действия в миокарде

крысы [19]. При этом показано, что плотность медленного кальциевого тока ( $I_{CaL}$ ) была незначительно изменена в гипертрофированных миоцитах крыс линии SHR, по сравнению с контрольными крысами. Поскольку удлинение потенциалов действия показано на одиночных кардиомиоцитах, авторы приходят к выводу, что это может быть связано только с изменением свойств мембраны [18].

Кроме этого, нами впервые получены данные о кинетике внутриклеточного кальция ( $[Ca^{2+}]_i$ ), потенциалах действия и морфометрических характеристиках препаратов миокарда левого и правого желудочков сердец крыс линии ISIAN в ходе развития возрастных изменений.

Обнаружено полуторакратное превышение артериального давления у семимесячных крыс линии ISIAN в сравнении с WAG того же возраста, что свидетельствует о развитии выраженной артериальной гипертензии. Превышения показателей массы сердца, а также индексов отношения массы сердца к массе тела, либо к длине берцовой кости для крыс линии ISIAN в сравнении с WAG, усиливающиеся с возрастом, указывают на развитие прогрессирующей гипертрофии сердца. Показаны существенные отличия не только в длительности фаз нарастания и спада концентрации  $Ca^{2+}$ , но и в характере спада кальциевого перехода в препаратах миокарда правого желудочка крыс линии ISIAN относительно препаратов из

левого желудочка сердец крыс той же линии, а также относительно нормотензивных животных.

Существенные изменения длительности потенциалов действия найдены нами в препаратах правого отдела. Длительность потенциалов действия на уровне 50% амплитуды у препаратов правого желудочка крыс линии ISIAN меньше, чем у крыс линии WAG, независимо от возраста. В левом желудочке длительность потенциалов действия зависит только от возраста животных, как для нормотензивной, так и для гипертензивной групп. Представленные результаты также подтверждают развитие гипертрофии сердца у крыс линии ISIAN, так как укорочение потенциалов действия, наблюдаемое при ишемии или подавлении метаболизма, в большей степени выражено в клетках гипертрофированных желудочков, по сравнению со здоровыми сердцами [20].

По современным данным запуск одного из основных механизмов развития гипертрофии происходит через высвобождение и активацию ангиотензина II [22]. Можно предположить, что механизм развития гипертонии у крыс линии ISIAN опосредует активацию ангиотензина II. Это проявляется в укорочении длительности потенциалов действия по сравнению с контрольными препаратами миокарда, как показано при активации  $AT_1$ -рецепторов ангиотензина II [23].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, совокупность представленных морфометрических, биомеханических, электрофизиологических и кальциевых характеристик позволяет предположить, что развитие гипертрофии в миокарде правого и левого желудочков сердец самцов спонтанно-гипертензивных крыс линии ISIAN хотя и отличается от таковой в миокарде крыс линии SHR, но имеются и общие черты. Необходимо заметить, что корректно сопоставлять характеристики сократимости каждой из двух линий спонтанно-гипертензивных животных лишь относительно исходной линии нормотензивных животных. По нашим данным и по данным других авторов, гипертрофия миокарда, развивающаяся в ответ на постепенно нарастающую гипертонию в сердцах крыс линии ISIAN (или линии SHR), отличается по свойствам электромеханического сопряжения от гипертрофии миокарда, развивающейся в ответ на длительную, но внезапно предъявляемую нагрузку. В этом отношении гипертрофия сердца животных этих двух линий наиболее близка к гипертрофии миокарда при эссенциальной гипертонии человека.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят проф., д.б.н. А.Л. Маркеля (Институт цитологии и генетики СО РАН, Ново-

сибирск) за предоставление лабораторных животных для проведения экспериментов.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (регистрационный номер НИОКТР №АААА-А18-118020590031-8).

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все манипуляции с подопытными животными соответствовали международным правилам обращения с лабораторными животными и были одобрены комиссией Института иммунологии и физиологии УрО РАН по контролю за лабораторными животными.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. L. Markel, *Genetic Hypertension* **218**, 405 (1992).
2. Л. Смолюк, Д. Кузнецов, Р. Лисин и др., *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова* **101** (5), 559 (2015).
3. Y. Chen-Izu, L. Chen, T. Banyasz, et al., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **293** (6), H3301 (2007).
4. J. Weisser-Thomas, Q. Nguyen, M. Schuettel, et al., *Age (Dordr.)* **29** (4), 205 (2007).
5. L. La Vecchia, L. Zanolta, L. Varotto, et al., *Am. Heart J.* **142** (1), 181 (2001).
6. S. Mital, *Arch. Mal. Coeur Vaiss.* **99** (12), 1244 (2006).
7. M. M. Tumuklu, U. Erkorkmaz, and A. Ocal, *Echocardiography* **24** (4), 374 (2007).
8. F. Haddad, R. Doyle, D. J. Murphy, et al., *Circulation* **117** (13), 1717 (2008).
9. G. Olivetti, E. Cigola, R. Maestri, et al., *Cardiovasc. Res.* **45** (1), 68 (2000).
10. K. Berenji, M. H. Drazner, B. A. Rothermel, et al., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **289** (1), H8 (2005).
11. Y. Jiang, M. F. Patterson, D. L. Morgan, et al., *Am. J. Physiol.* **274** (5, Pt 1), C1273 (1998).
12. O. Lookin and Y. Protsenko, *Open Life Sci.* **6** (5), 730 (2011).
13. S. R. Shorofsky, R. Aggarwal, M. Corretti, et al., *Circ. Res.* **84** (4), 424 (1999).
14. P. Brooksby, A. J. Levi, and J. V. Jones, *Cardiovasc. Res.* **27** (7), 1268 (1993).
15. M. L. Ward, D. J. Crossman, and M. B. Cannell, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **38** (10), 711 (2011).
16. M. R. Fowler, J. R. Naz, M. D. Graham, et al., *J. Mol. Cell. Cardiol.* **42** (3), 582 (2007).



17. H. Hayashi and S. Shibata, *Eur. J. Pharmacol.* **27** (3), 255 (1974).
18. E. Cerbai, M. Barbieri, and A. Mugelli, *Circulation* **94** (7), 1674 (1996).
19. M. Lambert, A. Boet, C. Rucker-Martin, et al., *Cardiovasc. Res.* **114** (6), 880 (2018).
20. T. Furukawa, R. J. Myerburg, N. Furukawa, et al., *Am. J. Physiol.* **266** (3, Pt 2), H1121 (1994).
21. S. M. Bryant, S. J. Shipsey, and G. Hart, *Cardiovasc. Res.* **35** (2), 315 (1997).
22. H. E. Cingolani, N. G. Perez, O. H. Cingolani, et al., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **304** (2), H175 (2013).
23. D. P. Zankov, M. Omatsu-Kanbe, T. Isono, et al., *Circulation* **113** (10), 1278 (2006).

## **The Kinetics of Intracellular Calcium and Action Potential in The Ventricular Myocardium of Spontaneously Hypertensive ISIAH Rats**

**A.A. Balakin, O.N. Lookin, D.A. Kuznetsov, and Yu.L. Protsenko**

*Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,  
ul. Pervomayskaya 106, Yekaterinburg, 620049 Russia*

The multicellular myocardial preparations from the right and left ventricles of healthy rats (control group) and rats with inherited stress-induced arterial hypertension (ISIAH group) were used to show the animal age dependent differences in the kinetics of intracellular calcium transient ( $[Ca^{2+}]_i$ ) and the action potential duration in cardiomyocytes. In rat myocardial preparations from control and ISIAH groups, the kinetics of the decline of  $[Ca^{2+}]_i$  slows down with age and the differences in  $[Ca^{2+}]_i$  between groups become mild. At the same time, the short-term  $[Ca^{2+}]_i$  decline phase clearly expressed in the right ventricle of young hypertensive rats is smoothed out. The time course of action potential repolarization in the left and right ventricular cardiomyocytes from control and ISIAH groups tends to be shorter with age. However, in preparations of the right ventricle of control rats, the duration of repolarization remains greater than that in preparations of hypertensive rats. Thus, experimental data on some characteristics of age-dependent electromechanical coupling dynamics in the myocardium of rats with inherited stress-induced arterial hypertension were obtained for the first time. Our results indicate that spontaneous hypertrophy seems to develop due to activation of the renin-angiotensin system.

*Keywords: myocardium; age; hypertension; kinetics of free intracellular calcium; action potential*