

© Т.А.Барабанова, С.К.Чурина, 2003
УДК [611.127-008.318+663.6+664.4].001.5

Т.А. Барабанова, С.К. Чурина

МЕХАНИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ, РИТМОИНОТРОПНЫЕ ОТНОШЕНИЯ В МИОКАРДЕ КРЫС И ДЕФИЦИТ МИНЕРАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПИТЬЕВОЙ ВОДЕ

T.A. Barabanova, S.K. Churina

MECHANICAL ACTIVITY, RHYTHMOINOTROPIC RELATIONSHIPS IN MYOCARDIUM OF RATS AND DEFICIENCY OF MINERAL SUBSTANCES IN DRINKING WATER

Лаборатория клинической и экспериментальной кардиологии Института физиологии им. акад. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Сравнительное исследование механических свойств миокарда крыс, получавших дефинитивное питание. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** В условиях изометрического и физиологического режимов механических нагрузок проведен анализ сократимости миокарда крыс, получавших воду с нормальным низким содержанием катионов Ca^{++} и Mg^{++} . **РЕЗУЛЬТАТЫ.** При нормальном содержании кальция (120 мг/л) и магния (45 мг/л) в питьевой воде у крыс отмечается увеличение сократимости миокарда, которое сопровождается замедлением релаксации при всех конечносистолических длинах по сравнению с параметрами, регистрируемыми у животных, получавших воду с низким содержанием кальция и магния (петербургская водопроводная вода). **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Миокард крыс, получавших воду с нормальным содержанием кальция и магния, характеризуется ярко выраженной лестницей Боудича и постстимуляционной потенциацией, в отличие от животных, получавших воду с низким содержанием кальция и магния.

Ключевые слова: миокард, сократимость, релаксация, дефицит кальция и магния, питьевая вода.

ABSTRACT

THE AIM of the work was to comparatively investigate the mechanical properties of the myocardium of rats receiving definitive diet. **MATERIAL AND METHODS.** An analysis of myocardium contractility of rats drinking water with normal low content of Ca^{++} and Mg^{++} cations was carried out under conditions of isometric and physiological regimens of mechanical loading. **RESULTS.** Under conditions of normal content of calcium (120 mg/l) and magnesium (45 mg/l) in drinking water the rats showed increased contractility of the myocardium followed by delayed relaxation in all end-systolic lengths as compared to the parameters registered in the animals given water with low concentrations of calcium and magnesium (St. Petersburg pipe water). **CONCLUSION.** The myocardium of rats drinking water with normal concentration of calcium and magnesium is characterized by well pronounced Bowditch scale and post-stimulation potentiation unlike the animals given water with low concentration of calcium and magnesium.

Key words: myocardium, contractility, relaxation, calcium and magnesium deficiency, drinking water.

ВВЕДЕНИЕ

В свое время нами была сформулирована гипотеза, объясняющая высокую распространенность артериальной гипертензии в Ленинграде и Северо-Западном регионе Европы, согласно которой выявлены минералозависимые (кальций-магниевый дефицитные) ее формы. Гипотеза основана на сопоставлении распространения гипертензии в Ленинграде и особенностей ионного состава воды в этом регионе. Критическая оценка региональных различий в частоте артериальной гипертензии позволила предположить возможную связь ее с какими-то экологическими факторами, отличающими данный регион от остальных и имеющими отношение к формированию реакций сердечно-сосудистой системы [1].

Оказалось, что показатели общей минерализации и ионного состава воды рек и озер Северо-Запада Европы отличаются от должных в десятки раз [2]. Показатели жесткости воды этого региона крайне низки и составляют 0,8 мг-экв/л вместо 7,0 мг-экв/л. Вопрос о значении Ca^{2+} воды для развития артериальной гипертензии в литературе практически не обсуждается, а физиологические работы по этой проблеме отсутствуют. Кажется целесообразным проведение экспериментальных исследований в этом направлении для исключения одной из возможных причин высокой распространенности артериальной гипертензии в Северо-Западном регионе Европы [1].

Ранее нами было показано, что миокард крыс, получавших питьевую воду с нормальным содер-

жанием кальция и магния, и крыс, содержащихся в условиях дефицита этих ионов в составе воды (невская вода), отличался рядом особенностей действия основного кальцийрегулирующего гормона (паратиреоидного гормона) [3].

В настоящее время очевидно, что ионизированные минералы питьевой воды имеют высокие показатели физиологической адекватности [4], биологической доступности [5,6] и всасывания [7]. Благодаря этому относительно небольшие концентрации вносимых в «мягкую» питьевую воду минеральных веществ могут оказывать выраженный физиологический эффект и в большой степени компенсировать минеральную недостаточность. Была продемонстрирована большая важность кальция и магния питьевой воды для формирования критической массы костного скелета и цитоскелета, для уровня артериального давления и распространенности гипертонической болезни, а также для состояния сократительного миокарда, стромы и клапанных структур сердца. Настоящая работа посвящена исследованию механических свойств и ритмоинотропии миокарда у животных с дефицитом минеральных веществ в водном пуле суточного рациона.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В опытах использовались крысы-самцы линии Вистар в возрасте 24–26 нед. С момента перехода к дефинитивному питанию животные содержались на стандартном пищевом рационе. Воду животные получали *in libitum*: 1-я группа животных содержалась в течение двух месяцев на воде с должной концентрацией в ней двухвалентных катионов Ca и Mg (120.0 и 45.0 мг/л соответственно) ($n=10$); 2-я группа получала воду с низким содержанием Ca и Mg (8.0 и 3.0 мг/л соответственно) – петербургская водопроводная вода ($n=10$).

Эксперименты выполнены на тонких папиллярных мышцах правого желудочка сердца крыс. Под эфирным наркозом производили декапитацию. После быстрого иссечения препараты сердечной мышцы помещали в ванночку с физиологическим раствором следующего состава: NaCl-139,30; KCl-3,50; NaH_2PO_4 -0,58; Na_2HPO_4 -2,11; NaHCO_3 -1,79; глюкоза-8,33; CaCl_2 -2,25; MgSO_4 -0,63 ммоль/л. Буферные компоненты обеспечивали pH – 7.0–7.2. Температура раствора в экспериментах с миокардом теплокровных 28°C. Стимуляцию проводили через широкие платиновые электроды, расположенные вдоль мышцы, сверхпороговыми импульсами (длительность межимпульсного интервала – 3,0 с).

Одним концом мышцу прикрепляли к датчику силы, а другим – к рычагу прецизионного эргометра, с помощью которого осуществляли нагружение.

В режиме с физиологической последовательностью нагрузок одновременно регистрировали изменение длины и силы. В этом режиме мышца вначале сокращалась изометрически до тех пор, пока сила не становилась равной заданному грузу. Затем она укорачивалась под переменной нагрузкой, пропорциональной изменению длины и скорости её изменения (ауксотоническое укорочение). После достижения конечносистолической длины (Лкс) мышца изометрически расслаблялась до уровня предварительной нагрузки, а затем растягивалась по линейному закону. Описание сервосистемы и деталей экспериментов дано ранее [3,8].

При регистрации сокращений в изометрическом режиме в качестве измеряемых параметров служили: максимум силы изометрических сокращений (P_0), характерное время расслабления t_{30} . Последний параметр отражает время расслабления изометрического сокращения до 30% от его максимальной амплитуды.

Для более полной оценки сократимости миокарда, а также его способности к расслаблению использовали описанный выше физиологический режим. В последнем случае в качестве меры механической функции миокарда получали связь конечносистолическая длина (ксл)– конечносистолическая сила ($P_{ксл}$), а также $L_{ксл} - t_{30}$, где t_{30} – характерное время расслабления изолированного миокарда в фазу изометрического расслабления.

В нормальном растворе регистрировали серии сокращений для разных уровней постнагрузки.

При статистической обработке материалов использован метод Вилкасона. Статистические расчеты выполнялись с использованием стандартных пакетов прикладного статистического анализа (STATGRAPHICS V.3.0)

РЕЗУЛЬТАТЫ

Механическая активность миокарда крыс с нормальным и низким содержанием Ca и Mg в питьевой воде.

Изометрический режим. В экспериментах на папиллярных мышцах крыс, получавших воду с нормальным содержанием Ca и Mg, при постоянной частоте стимуляции (длительность межимпульсного интервала – 3.0с) наблюдалось увеличение максимальной силы сокращения (P_0), регистрируемой в изометрическом режиме в среднем на 45,0% от уровня, регистрируемого у крыс, получавших воду с низким содержанием Ca и Mg (петербургская водопроводная вода). Рост силы изометрического сокращения у крыс 1-й группы сопровождается увеличением характерного времени расслабления t_{30} , т.е. уменьшением относительной

скорости изометрического расслабления на $55,0 \pm 6,5\%$ по сравнению с результатами, регистрируемыми у крыс 2-й группы. При этом не наблюдалось достоверных изменений времени достижения максимума (ВДМ).

Физиологический режим. При проведении сравнительного исследования механической функции препаратов миокарда крыс, получавших воду с нормальным содержанием Са и Mg, и крыс, получавших воду с низким содержанием Са и Mg, в физиологическом режиме механических нагрузок были получены дополнительные сведения о влиянии диеты на эту функцию. На рис.1 приведены нормированные связи конечносистолическая длина – конечносистолическая сила (Лкс-Ркс) для препаратов миокарда крысы двух исследуемых групп.

При нормировке по оси ординат откладывали значения конечносистолического груза относительно максимальной силы сокращения, развиваемой в изометрическом режиме. Точно так же по оси абсцисс откладывали значение конечносистолической длины по отношению к этой длине в изометрическом режиме. В результате имелась возможность оценить угол наклона связи Лкс-Ркс в указанных координатах. Поскольку тангенс угла наклона нормированной связи Лкс-Ркс отражает сократимость миокарда [9], по изменению этого параметра можно оценить влияние диеты с нормальным содержанием кальция и магния на сократимость миокарда. Так, из рис. 1 видно, что у крыс 1-й группы тангенс угла наклона связи Лкс-Ркс увеличивается на 30% по сравнению с результатами, регистрируемыми у крыс 2-й группы. Полученные результаты свидетельствуют об увеличении сократимости миокарда у крыс, получавших воду с нормальным содержанием Са и Mg. При изучении связи конечносистолическая длина – характерное время расслабления t_{30} (Лкс- t_{30}) было показано, что увеличению сократимости миокарда у крыс 1-й группы при всех конечносистолических длинах (Лкс) сопутствует увеличение параметра t_{30} , т.е. уменьшение относительной скорости изометрического расслабления при всех фиксированных длинах (Лкс) (рис. 2).

Таким образом, у крыс, получавших воду с нормальным содержанием Са и Mg в питьевой воде, регистрируется увеличение сократимости миокарда, сопровождающееся уменьшением относительной скорости изометрического расслабления, т.е. замедлением релаксации при всех конечносистолических длинах по сравнению с параметрами, регистрируемыми у крыс, получавших воду с низким содержанием Са и Mg (петербургская водопроводная вода)

Ритмоинотропные отношения в миокарде

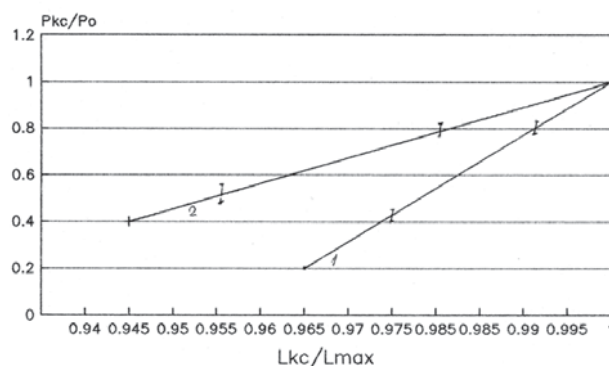


Рис. 1. Связь конечносистолическая длина – конечносистолическая сила (Лкс/Ркс) в миокарде. По оси ординат – конечносистолическая сила в долях от P_{max} . По оси абсцисс – конечносистолическая длина в долях от L_{max} . 1 – Крысы, получавшие воду с низким содержанием Са и Mg (петербургская водопроводная вода). 2 – Крысы, получавшие воду с нормальным содержанием Са и Mg.

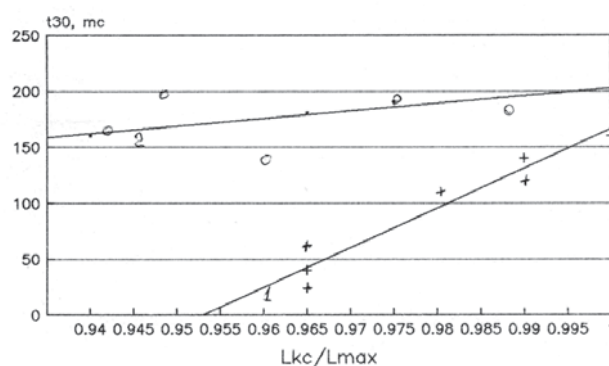


Рис. 2. Связь конечносистолическая длина – характерное время расслабления. По оси ординат – характерное время расслабления t_{30} . По оси абсцисс – конечносистолическая длина в долях от L_{max} . 1-2 – как на рис. 1.

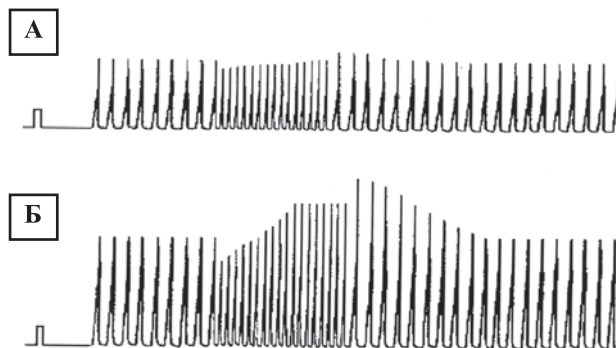


Рис. 3. Переходные процессы при изменении частоты стимуляции. Калибровка - 100 мВ.

А – Крысы, получавшие воду с низким содержанием Са и Mg (петербургская водопроводная вода). Б – Крысы, получавшие воду с нормальным содержанием Са и Mg.

крыс, получавших воду с нормальным и с низким содержанием Са и Mg в питьевой воде.

При исследовании **связи частота-сила** поступали следующим образом. Препарат «вработывался» при базовом интервале между стимулами 3 с. 30 мин. После достижения стационарной амплитуды сокращений с базового периода стимуляции переключали стимулятор на новый период стимуляции (1 с) и записывали переходный

процесс сокращений, т.е. динамику величин сокращений до достижения нового стационарного уровня. После установления стационарного уровня сокращений при новом периоде сокращений ступенчато переключали стимулятор на базовый ритм и вновь записывали переходный период. Таким образом, осуществляли следующую программу изменения межимпульсного интервала: 3 с - 1 с - 3 с.

Рис. 3 иллюстрирует изменение силы сокращений препаратов миокарда крыс при переходе от стимуляции с межимпульсным интервалом 3,0 с к стимуляции с межимпульсным интервалом 1,0 с. На рис. 3Б показан переходный процесс, наблюдаемый у крыс, получавших воду с нормальным содержанием Са и Mg в питьевой воде. При увеличении частоты стимуляции сила сокращения вначале падает, а затем растет, стационарные сокращения при высокой частоте стимуляции превосходят величину сокращений при базовой частоте на 20-25%. Переходный процесс с хорошо выраженной лестницей Боудича быстрый, его крутизна достаточно большая, требуется всего 8-10 сокращений, чтобы достичь стационарного уровня, не наблюдается рост диастолического напряжения. На рис. 3А представлен переходный процесс, наблюдающийся у крыс, получавших воду с низким содержанием Са и Mg. При переходе с базового периода стимуляции на период стимуляции с интервалом 1,0 с выраженность лестницы Боудича незначительна: величина стационарной амплитуды сокращений при высокой частоте стимуляции практически равна ее величине на базовой частоте. Рост диастолического тонуса отсутствует.

При переходе с высокой частоты стимуляции при межимпульсном интервале 1,0 с на базовую частоту, когда интервал равен 3,0 с, у животных 1-й группы наблюдалась выраженная **постстимуляционная потенция** (ПСП). Разность между величиной первого сокращения после перехода с высокой частоты на базовую и стационарной величиной сокращения на базовой частоте составляет 30-40%. У крыс 2-й группы выраженность постстимуляционной потенции значительно меньше – 7-10%.

Таким образом, полученные результаты показывают, что у крыс, получавших воду с нормальным содержанием Са и Mg, наблюдается более ярко выраженная лестница Боудича, что свидетельствует о влиянии водного пула минеральных веществ на ритмоинотропные отношения в миокарде. При увеличении частоты стимуляции сила сокращения вначале падает, а затем растет. Постстимуляционная потенция выражена хорошо. У крыс, получавших воду с низким содержанием Са и Mg, наблюдается сглаженная частотная зависимость силы сокраще-

ний и менее выраженные лестница Боудича и постстимуляционная потенция.

В ряде случаев переходные процессы в миокарде изучаются после предварительной паузы. При этом первое после паузы сокращение в сердцах некоторых животных, в частности крыс, оказывается высокоамплитудным (**потенция покоем**).

По методике, описанной ранее [1], оценивали изменения прироста амплитуды сокращений в лестницах Боудича, получаемых стимуляцией препарата с интервалом между стимулами 3,0 с после трехминутных интервалов покоя. У крыс, получавших воду с нормальным содержанием Са и Mg, после трехминутного периода покоя амплитуда первого сокращения составила $128,0 \pm 7,0\%$. У крыс, получавших воду с низким содержанием Са и Mg, наблюдается меньший прирост первого после периода покоя сокращения по сравнению с последним – $112,0 \pm 5,5\%$.

Таким образом, у крыс, получавших воду с нормальным содержанием Са и Mg, наблюдается более выраженная потенция покоем по сравнению с группой крыс, получавших воду с низким содержанием Са и Mg.

Полученные результаты показывают, что ритмоинотропные явления в миокарде (связь частотасила, ПСП, потенция покоем) более выражены у животных 1-й группы, получавших воду с нормальным содержанием Са и Mg. Снижение (вплоть до подавления) постстимуляционной потенции и потенции покоем, наблюдающиеся у крыс, получавших воду с низким содержанием Са и Mg, являются показателями очень низкой сократительной активности миокарда животных 2-й группы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Особенность нашей работы заключается в том, что влияние дефинитивного питания животных на механическую функцию миокарда исследовалось не только в изометрическом, но и в физиологическом режимах механических нагрузок, причем оценивали не только процесс сокращения сердечной мышцы, но и процесс расслабления, а также изменения ритмоинотропных отношений в миокарде крыс.

Результаты исследований, приведенные на рис. 1-2, показывают влияние Са- Mg диеты на уровень и кинетику внутриклеточного кальция в кардиомиоцитах крысы. Об этом косвенно свидетельствуют характерные изменения тангенса угла наклона нормированной связи Lкс-Ркс и выраженный положительный инотропный эффект у крыс, получавших воду с нормальным содержанием Са и Mg.

Установлено, что между параметрами сокращения и расслабления в определенных ситуациях имеется тесная корреляция [3]. Поскольку у крыс 1-й

группы, получавших воду с нормальным содержанием Са и Mg, имеет место выраженный инотропный эффект, то можно полагать, что по крайней мере частично влияние дефинитивного питания на расслабление опосредуется через изменение силы сокращений. В данном контексте появляется задача выделения чисто расслабляющего (лузитропного) эффекта Са-Mg диеты. Это можно реализовать путем изучения влияния диеты на расслабление в строго контролируемых механических условиях, т.е. при фиксированных значениях длины и нагрузки. Так, для разделения инотропного и лузитропного влияния дефинитивного питания животных использовали режим с физиологической последовательностью нагрузок, который позволил учесть влияние механических переменных. Было показано, что увеличению сократимости миокарда у крыс 1-й группы при всех конечносистолических длинах (Лкс) сопутствует увеличение параметра t_{30} , т.е. замедление релаксации при всех Лкс (см. рис.2) по сравнению с результатами, регистрируемыми у крыс 2-й группы, получавших воду с низким содержанием Са и Mg.

Можно предположить, что содержание животных на питьевой воде с должной концентрацией в ней двухвалентных катионов Ca^{2+} и Mg^{2+} приводит к росту силы сокращения и замедлению релаксации при всех конечносистолических длинах путем фосфорилирования тропонина, увеличения сродства тропонина к кальцию и замедления распада кальций-тропонинных комплексов. Возможно, при получении животными воды с нормальным содержанием Са и Mg происходит мобилизация дополнительного ионизированного кальция из комплекса кальсеквестрин-кальций, находящегося в терминальных цистернах саркоплазматического ретикулума. Об этом свидетельствуют и изменения ритмоинотропных отношений у крыс 1-й группы: ритмоинотропные явления (связь частота-сила, ПСП, потенциация покоем) более выражены у животных, получавших воду с нормальным содержанием Са и Mg. У крыс 2-й группы, получавших воду с низким содержанием Са и Mg, наблюдается снижение (вплоть до подавления) постстимуляционной потенциации и потенциации покоем, что является показателем очень низкой сократительной активности миокарда этих животных.

Учитывая, что ключевую роль в ритмоинотропии миокарда выполняет саркоплазматический ретикулум (СР), можно дать интерпретацию полученных нами данных. Появление «положительной лестницы» у крыс, получавших воду с нормальным содержанием Са и Mg, обусловлено увеличением входа Ca^{2+} по кальциевым каналам и

нагрузением СР. Сглаживание лестницы Боудича у крыс 2-й группы является результатом снижения как кальцийвысвобождающей, так и кальцийпоглощающей функции ретикулума при каждом цикле возбуждения. Снижение ПСП и потенциации покоем у крыс, получавших воду с низким содержанием Са и Mg, может быть следствием большой утечки Са из терминальных цистерн СР в интервалах между сокращениями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования сократимости миокарда показали, что у крыс питомника Колтуши (Санкт-Петербург), которые находятся в условиях низкой минерализации воды [2], когда показатели жесткости воды региона составляют 0,8 мг-экв/л вместо 7,0 мг-экв/л, двухмесячное получение воды с нормальным получением Са и Mg (120,0 и 45,0 мг-экв/л соответственно) приводит к адаптивным изменениям функции миокарда: росту силы сокращений и замедлению релаксации. Исследования ритмоинотропии миокарда у крыс, получавших в течение 2 месяцев воду с нормальным содержанием Са и Mg, свидетельствует о восстановлении сниженной кальцийпоглощающей и кальцийвысвобождающей функции саркоплазматического ретикулума.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Чурина СК. Эколого-физиологические аспекты формирования артериальной гипертензии в условиях Ленинграда (факты и гипотезы). *Физиол журн СССР* 1988; 74(11):1615-1621
2. *Международные стандарты питьевой воды*. ВОЗ. Женева. Медицина, М. 1973; 68 с
3. Барабанова ТА, Мархасин ВС, Никитина ЛВ, Чурина СК. Особенности влияния паратиреоидного гормона на механическую активность миокарда крыс при дефиците кальция и магния в питьевой воде. *Физиол журн СССР* 1992; 78(7):71-77
4. PM de la Sierra, Aquilera M et al. Increased activity of $\text{Mg}^{2+}/\text{Na}^{+}$ exchanger in red blood cells from essential hypertension patients. *Hypertension* 1994; 23(2): 987-991
5. Abdulla M, Beybeani A, Dashti H. Dietary intake and bioavailability of trace elements. *Biol Trace Elem Res* 1989; 21:173
6. Couzy F, Kastenmayer P, Vigo M et al. Ca bioavailability from Ca- and sulfate-rich mineral water, compared with milk in adult women. *Am J Clin Nutr* 1995; 62(6):1239-1244
7. Quo P, Sun P, Stacewicz-Sapuntzakis M. Bioavailability of calcium from various diet formulations in rats. *FASEB J* 1995; 9,abstr. 3620.
8. Бляхман ФА, Изаков ВЯ, Мих АД. Метод задания физиологического режима в изолированных полосках миокарда (имитация сердечного цикла). *Физиол журн СССР* 1984; 70(11): 1581-1583
9. Изаков ВЯ, Бляхман ФА, Проценко ЮЛ. Сокращение и расслабление миокарда в режиме с физиологической последовательностью нагрузок. *Физиол журн СССР* 1988; 74(2):209-215

Поступила в редакцию 23.06.2003 г.