

на правах рукописи

АКАДЕМИЯ НАУК СССР  
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
ИНСТИТУТ ЭКОЛОГИИ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ

Лигальский Олег Антонович

ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОНОТРОПИИ  
МИОКАРДА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТЕПЕНЯХ  
РАСТЯЖЕНИЯ

( 03 .00.13 - физиология человека и животных )

А в т о р е ф е р а т  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Свердловск  
1973

на правах рукописи

АКАДЕМИЯ НАУК СССР  
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
ИНСТИТУТ ЭКОЛОГИИ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ

Жигальский Олег Антонович

И С С Л Е Д О В А Н И Е   Х Р О Н О И Н О Т Р О П И И  
М И О К А Р Д А   П Р И   Р А З Л И Ч Н Ы Х   С Т Е П Е Н Я Х  
Р А С Т Я Ж Е Н И Я

( О 3 .00.13 - физиология человека и животных)

А в т о р е ф е р а т  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Свердловск  
1973

Работа выполнена в лаборатории количественной экологии  
Института экологии растений и животных Уральского научного  
центра АН СССР.

Научные руководители:

Доктор биологических наук, профессор В.А.Шидловский;  
кандидат медицинских наук, доцент В.Я.Изаков.

Официальные оппоненты:

Доктор биологических наук, профессор А.В.Трубецкой;  
доктор медицинских наук, профессор В.М.Покровский.

Ведущее предприятие - Уральский ордена Трудового Крас-  
ного Знамени государственный университет им. А.М.Горького.

Автореферат разослан ..... 18/5 ..... 1973 г.

Защита диссертации состоится ..... 18/VI ..... 1973 г. в 14 час.  
на заседании Объединенного Ученого Совета по биологическим  
наукам при Уральском научном центре АН СССР.

Адрес: г.Свердловск, ул. 8 марта, 202

Институт экологии растений и животных.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке инсти-  
тута.

Ученый секретарь Совета - кандидат биологических наук  
М.Г.Нифонтова.

Согласно известной классификации ( Sarnoff, Mitchell - 1962) имеются две основные системы регуляции сократимости миокарда - гомеометрическая и гетерометрическая. Гетерометрическая система подразумевает регуляцию сократимости за счет изменения длины миокардиальных волокон и является основным механизмом гемодинамической саморегуляции сердца. Гомеометрическая система реализует свое действие при постоянной длине волокон, она включает в себя управление сократимостью гуморальными агентами (ионный состав среды, физиологически активные вещества) и частотой сердцебиений. Гомеометрическое управление выступает как основной механизм регуляции функционального состояния миокарда. Управление силой сокращения через величину межспайкового интервала является основным звеном гомеометрического регулирования. Для обозначения системы регулирования через частоту был принят термин - хронотропия (М.Г.Удельнов - 1968).

Для сердец пойкилотермных животных температура среды является важным фактором, влияющим на сократимость миокарда (термотропия) в естественных условиях жизнедеятельности. Поэтому мы сочли целесообразным включить температурный фактор в круг нашего исследования для выяснения температурных характеристик хронотропного и гетерометрического ауторегуляторных механизмов порознь и при их совместном действии.

Основной задачей нашего исследования было выяснение статических и динамических характеристик хронотропной системы и ее взаимоотношений с другими системами управления сократимостью миокарда и, в первую очередь, с гетерометрической. Опыты были поставлены таким образом, чтобы получить феноменологическую модель, удобную для интерпретации в рамках общей теории регулирования.

#### МЕТОДИКА И МАТЕРИАЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служили полоски желудочка лягушки *Rana ridibunda*. Механическая активность регистрировалась в изометрическом режиме механотроном БМХС. В ряде опытов отводились внутриклеточные потенциалы действия. Состав основного раствора: NaCl - 110 мМ; KCl - 2,5 мМ; CaCl<sub>2</sub> - 1,08 мМ; NaHCO<sub>3</sub> - 2,38 мМ; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,08 мМ,

глюкоза - 5,5 мМ. Раствор в течение всего эксперимента обогащался кислородом.

Препарат стимулировался прямоугольными импульсами отрицательной полярности, длительностью 5 - 15 мсек, которые поступали с электронного стимулятора ЭСУ-1 через высокочастотную приставку на раздражающие электроды. Частота стимуляции в большинстве опытов изменялась от 0,1 до 1 сек<sup>-1</sup>. Амплитуда раздражающего стимула всегда была надпороговой и оставалась постоянной в течение опыта.

Ванночка с размещенными в ней препаратами помещена в специальную камеру. Диапазон исследованных температур (0 - - 30°)С. Точность задания и поддержания необходимой температуры  $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .

Растяжение задавалось специально сконструированным для этих целей растягивающим устройством, которое способно задавать необходимые степени растяжения в различные фазы кардицикла. Диапазон применяемых нагрузок до 1,2 г. Внеклеточная концентрация ионов кальция варьировала от 0 до 20 мМ. Животное перед опытом содержалось при температуре 4-5°С в течение 10 дней.

Эксперименты проведены на 131 препарате (225 опытов). Распределение материала по главам: глава 3 - 27 опытов; глава 4 - 42 опыта; глава 5 - 48 опытов; глава 6 - 28 опытов; глава 7 - 80 опытов. В каждом опыте произведено в среднем по 300 измерений. Статистические расчеты проведены на ЦВМ "Проминь".

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Механические свойства полоски миокарда в кардицикле.**

При ступенчатом изменении длины полоски напряжение в ней не сразу достигает своего установившегося значения.

Можно выделить три основные фазы этого процесса:

1. фаза быстрого нарастания напряжения;
2. фаза быстрого падения напряжения;
3. фаза медленного падения напряжения.

Наличие первой фазы (фазы быстрого нарастания напряжения) в ответ на быстрое растяжение свидетельствует о том,

что в миокардиальной полоске существует упругий элемент, который определяется законом Гука.

Второй и третий участки определяются вязкоэластическими свойствами миокардиальной полоски. Указанное поведение препарата хорошо согласуется с двухкомпонентной моделью Максвелла - Хилла (Hill 1964). Следует обратить внимание на отсутствие необратимой (остаточной) деформации при снятии растяжения. Это особенно проявляется при действии кратковременных рывков растяжения. Кроме того, следует отметить отсутствие последствия - предшествующее воздействие не влияет на последующее.

Аналогичное поведение полоски наблюдается, если рывки задаются во время диастолы при различных частотах стимуляции. Это свидетельствует о том, что после окончания одиночного сокращения механическая характеристика препарата тождественна таковой в покоящейся мышце. Более того, рывки удлинения, задаваемые в диастолу, не влияют на амплитуду изометрических сокращений. Этот эффект не зависит от частоты стимуляции и величины рывка. Исходя из приведенных выше данных, можно сделать следующий вывод: процессы, имеющие место после одиночного сокращения, не оказывают влияния на активные механические свойства мышцы. Справедливо и обратное заключение: одиночные сокращения в исследуемом диапазоне частот сердцебиений не влияют на пассивные механические свойства мышцы (хрононотропные процессы не оказывают влияния на пассивные механические свойства мышцы).

Феномен Старлинга проявляется тогда, когда растяжение задается к моменту начала сокращения или действует определенное время в течение систолы.

Наиболее характерным эффектом растяжения, задаваемого в систолу, является возрастание амплитуды изометрических сокращений, увеличение их длительности, изменение скорости укорочения и расслабления, увеличение максимальной скорости укорочения и расслабления. Длительность сокращений увеличивается, в основном, за счет фазы расслабления. Обобщенная зависимость силы одиночных сокращений от степени растяжения имеет S - образный вид и состоит из трех участков: участок малых приращений, линейный участок, зона насыщения. Эта характеристика снималась при последовательном

увеличении степени изометрии. Дальнейшее увеличение нагрузки (для наших условий выше одного грамма) ведет к падению силы сокращения, причем проведение исследования в обратном порядке, т.е. от большей степени изометрии к меньшей, дает кривую, не совпадающую с начальной, наблюдается гистерезис. Гистерезис наблюдался при растяжениях (1,0 - 1,5) г. В последующем применялся только тот диапазон растяжений, в котором видимых явлений гистерезиса не наблюдалось.

При одновременной регистрации изометрических сокращений и потенциалов действия (ПД) было найдено, что рывки растяжения, задаваемые в любую фазу кардиоцикла, не изменяли параметров ПД, что справедливо для различных частот сердцебиений. Эти наблюдения согласуются с литературными данными (Dudel, Trautwein - 1954, Penefsky, Hoffman - 1963), хотя и противоречат недавним результатам, полученным на сердцах теплокровных (Kauffman, Lab, Henneker, Krause - 1971, Kauffman - 1969).

Для выяснения вопроса об изменениях механических свойств миокарда в кардиоцикле была поставлена серия опытов, в которых рывки быстрого растяжения и высвобождения задавались во все фазы сердечного цикла. По мере "приближения" рывка растяжения к максимуму сокращения растет амплитуда ответного сигнала. Напряжение, которое развивает миокард после прекращения рывка, падает. Если рывок задается после максимума сокращения, регистрируемый ответ на рывок уменьшается по амплитуде. Если рывок приходится на 75% от общей длительности сокращения, то ответ по величине становится равным ответу на рывок в диастолической паузе. Увеличение амплитуды ответа на рывок, наблюдаемое до момента достижения максимума сокращения, и последующее падение характеризуют ход активного состояния контрактильного элемента. Приведенные данные свидетельствуют о том, что:

1. активное состояние начинается и заканчивается раньше, чем регистрируемое изометрическое сокращение;
2. рывки растяжения, задаваемые в систолу, обладают эффектом последействия, но последействие это сказывается только в том сокращении, в котором был задан рывок, и не сказывается на последующих сокращениях.

Изменение сокращения после снятия нагрузки (вторичная волна) тем меньше, чем позже происходит выключение рывка, и может отражать спад активного состояния.

### Влияние растяжения на хроноинтропию миокарда

Цель настоящего раздела состояла в том, чтобы выяснить, являются ли две органичные системы регулирования сократимости миокарда (хроноинтропная и гетерометрическая) независимыми контурами или при их совместном действии проявляются эффекты взаимодействия. Более конкретно речь шла о влиянии растяжения на статические и динамические характеристики хроноинтропии.

В рамках теории регулирования статической характеристикой хроноинтропной системы является зависимость силы стационарных сокращений от частоты (периода) стимуляции. Хроноинтропные эффекты проявляются еще и в том, что после остановки сердца сила сокращений при очередной стимуляции изменяется постепенно (для лягушки наблюдается положительная лестница Боудича). Указанный феномен отражает динамические свойства хроноинтропной системы, а параметры этого переходного процесса являются следствием суммации следовых процессов, возникающих после одиночного возбуждения.

Исследование взаимодействия хроноинтропной и гетерометрической систем сводится к выяснению свойств функции  $f(P, n)$  и, в частности, ее аддитивности, где  $P$  - степень изометрии,  $n$  - номер сокращения,  $T$  - период стимуляции.

Если 
$$f(P, n) = f_1(n) + f_2(P), \quad (1)$$

то хроноинтропная и гетерометрическая системы - два независимых контура регулирования сократимости миокарда. Если же опытные значения статистически значимо лучше аппроксимируются функцией вида:

$$f(P, n) = f'_1(n) + f'_2(P) + f_3, \quad (2)$$

где  $f_3$  - функция взаимовлияния двух систем, то имеется взаимодействие. Иными словами, если влияние растяжения на лестницу Боудича связано лишь с изменением масштаба функции  $A = f(n)_T$ , то растяжение не влияет на следовые процессы, обуславливающие потенциацию сокращений. Если изменение степени растяжения приводит к преобразованию функции  $A = f(n)_T$  и  $A = Q(T)_n$ , то можно утверждать, что помимо отдельного влия-



ния на силу сокращений гетерометрической и хроноинотропной систем существует еще одна цепь. Через эту цепь происходит влияние степени изометрии на характеристики хроноинотропии.

Для обработки кривых мы использовали два различных метода. (Поскольку имеются определенные вариации в динамике переходного процесса, то критерий в обоих случаях был статистическим).

1. Описание исходных данных уравнениями множественной регрессии.

2. Вычисление автокорреляционных функций переходного процесса.

Исходные данные описывались двумя уравнениями. В первом уравнении амплитуда сокращения являлась функцией номера сокращения и степени растяжения. Второе уравнение отличалось от первого тем, что в него введен член взаимодействия (т.е. член, который давал дополнительный вклад в амплитуду сокращения при совместном действии этих двух факторов).

$$f_1(P, n) = a_0 + a_1 n + a_2 n^2 + a_3 P + a_4 P^2 \quad (3)$$

$$f_2(P, n) = a_0 + a_1 n + a_2 n^2 + a_3 P + a_4 P^2 + a_5 Pn \quad (4)$$

где  $f_1(P, n)$  и  $f_2(P, n)$  - максимальная амплитуда сокращения,  $n$  - номер сокращения после предшествующей остановки,  $P$  - степень растяжения. Функции вычислялись для каждого периода стимуляции и определялась 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 уравнениях (3) и (4) коэффициенты  $a_1, a_1^I, a_2, a_2^I$  оценивают вклад хроноинотропии в сократимость миокарда, коэффициенты  $a_3, a_3^I, a_4, a_4^I$  - гетерометрической системы. Коэффициент  $a_5$  в уравнении (4) оценивает степень взаимовлияния между хроноинотропной и гетерометрической системами. Коэффициенты уравнений (3) и (4) определялись методом наименьших квадратов и приведены в таблице I.

После нахождения коэффициентов уравнений проводился статистический анализ. Для этого вычислялись дисперсии уравнений регрессии (3) и (4). Значимость различия дисперсий определялась по критерию Фишера. Результаты статистической обработки приведены в таблице 2. В таблице 2 знак (+) означает отсутствие достоверных различий между дисперсиями, знак (-) говорит

Таблица 1  
 Вычисленные значения коэффициентов уравнения (3)  
 и (4) и дисперсии этих уравнений.

| Т<br>(сек): | 10     | 8      | 5      | 4      | 3      | 2      | 1,41  |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|
| $a_0$       | -52,81 | -9,53  | -21,33 | -26,53 | -24,05 | -8,751 | 7,57  |
| $a'_0$      | -14,42 | -16,47 | -31,94 | -33,91 | -35,70 | -25,50 | -7,37 |
| $a_1$       | 3,710  | 6,170  | 9,370  | 12,70  | 13,81  | 15,20  | 12,5  |
| $a'_1$      | 5,36   | 7,43   | 11,29  | 14,01  | 15,89  | 18,23  | 15,2  |
| $a_2$       | -0,31  | -0,47  | -0,73  | -0,91  | -0,993 | -1,14  | -0,92 |
| $a'_2$      | -0,31  | -0,48  | -0,73  | -0,91  | -0,994 | -1,13  | -0,92 |
| $a_3$       | 17,31  | 17,00  | 19,93  | 23,33  | 20,47  | 14,54  | 8,62  |
| $a'_3$      | 18,34  | 18,40  | 21,48  | 24,30  | 22,18  | 16,99  | 11,1  |
| $a_4$       | -0,782 | -0,72  | -0,905 | -1,301 | -1,120 | -0,772 | -0,28 |
| $a'_4$      | -0,781 | -0,72  | -0,91  | -1,301 | -1,124 | -0,724 | -0,29 |
| $a_5$       | 0,241  | 0,180  | 0,278  | 0,186  | 0,312  | 0,442  | 0,39  |
| $D_1$       | 48,66  | 47,16  | 50,31  | 24,28  | 46,06  | 28,75  | 20,79 |
| $D_2$       | 51,14  | 48,56  | 53,74  | 25,74  | 50,41  | 37,67  | 27,54 |
| $D_1/D_2$   | 1,06   | 1,02   | 1,07   | 1,06   | 1,09   | 1,31   | 1,33  |

Таблица 2  
 Результаты статистического анализа данных.

| Т<br>(сек) :     | :  | : | : | : | : | :    | : |
|------------------|----|---|---|---|---|------|---|
| Номер<br>серии : | 10 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1,41 | : |
| опытов :         | :  | : | : | : | : | :    | : |
| 1                | +  | + | + | - | + | -    |   |
| 2                | +  | + | + | + | + | +    |   |
| 3                | +  | + | + | + | + | +    |   |
| 4                | -  | + | + | + | + | +    |   |
| 5                | +  | - | - | + | + | +    |   |
| 23               | +  | + | + | + | - | +    |   |

о наличии достоверных различий. Как видно из табл. 2, в большинстве случаев разница между дисперсиями недостоверна, но в пяти случаях введение члена  $a_5$  улучшало аппроксимацию (на различных периодах стимуляции). Анализ полученных данных с помощью критерия знаков (для пяти-процентного уровня значимости) показал, что только в двух случаях из 42 введение члена взаимодействия было значимым.

Таким образом, применение аппарата множественной регрессии показывает, что растяжение значимо не влияет на переходной процесс в хронометрической системе. Хронометрическая и гетерометрическая системы действуют как два независимых контура с общим выходом.

Динамическая характеристика хронометрической системы является рядом, где каждый последующий член определенным образом коррелирован с предыдущим. Такие ряды анализировались с помощью случайных функций. Сущность этого метода является выявление влияния каждого предыдущего члена на последующий.

Так как в исследуемом процессе нет периодических составляющих, полученная автокорреляционная функция аппроксимировалась зависимостью вида:

$$K = Ae^{-at}, \quad (5)$$

где  $a$  - логарифмический коэффициент затухания. Чем больше  $a$ , тем быстрее затухает связь между сечениями процесса. Если увеличение степени растяжения при постоянной частоте раздражения приводит к изменению декремента затухания, то это означает, что растяжение, кроме своего непосредственного влияния на силу сокращения, влияет еще и на проявление потенцирующего действия частоты сердцебиений. Если же растяжение не изменяет показатель  $a$ , то можно считать, что оба регулятора работают независимо друг от друга.

Значения  $a$  для различных периодов стимуляции и степеней растяжения представлены в таблице 3.

Для каждой совокупности переходных процессов при фиксированных значениях периода стимуляции вычислялся логарифмический декремент затухания. Затем аналогичная процедура повторялась при других степенях растяжения. Как видно из таблицы 3,  $a$  статистически значимо не зависит от степени растяжения.

Итак, применение методов множественной регрессии и тео-

при случайных функциях показывает, что хроноинотропная и гетерометрическая системы регуляции сократимости миокарда являются двумя независимыми контурами управления деятельностью миокарда. Это следует ожидать, если аппараты, через которые реализуется влияние ритма и растяжения на сократимость клетки, пространственно разделены. Вывод о том, что растяжение не влияет на электромеханическое сопряжение, согласуется с отсутствием значимых изменений в ПД при различных степенях растяжения. Таким образом, гетерометрический механизм работает отдельно и независимо от "контролирующих систем" в смысле Эбашии (Ebashi, Endo, Ohtsuki - 1969). Полученный в данной работе вывод не является очевидным. Действительно, динамика содержания ионов в околоклеточном пространстве и в некоторых отсеках клетки могла бы быть определенным образом связана с геометрией клетки и геометрическими соотношениями клетка - околоклеточная среда. Изменение геометрических соотношений и большая сократительная активность при увеличении степени растяжения, вероятно, должны, помимо всего прочего, способствовать лучшему обмену ионов. С другой стороны, следовые процессы также связаны с динамикой входа, накопления и вывода ионов из клетки.

Роль ионов кальция в хроноинотропной и гетерометрической системах регуляции сократимости миокарда.

Большинство работ свидетельствуют о центральной роли ионов кальция в регуляции сократимости миокарда. В этом плане представляло интерес выяснение влияния ионов кальция на хроноинотропную и гетерометрическую системы.

Типичным начальным эффектом увеличения внеклеточной концентрации кальция является увеличение силы сокращения и максимальной скорости укорочения, уменьшение латентного периода активации, некоторое замедление конечной части расслабления, что особенно выражено при высоких концентрациях кальция. Указанные сдвиги легко объяснимы. Увеличение электрохимического градиента кальция должно привести к повышенному входу его из внеклеточной жидкости и увеличению запасов кальция в элементах саркоплазматического ретикулума, из которых происходит его высвобождение при деполяризации мембраны. С другой стороны,

Таблица 3  
Сводная таблица значений

| Серия:<br>опыт. | Период стимуляции в сек. |     |        |     |        |     |        |     |        |     |        |     |
|-----------------|--------------------------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|
|                 | P=0,3г                   |     | P=0,4г |     | P=0,5г |     | P=0,6г |     | P=0,7г |     | P=0,8г |     |
|                 | IO                       | 2   | IO     | 2   | IO     | 2   | IO     | 2   | IO     | 2   | IO     | 2   |
| 1               | 5±                       | 64± | 6±     | 65± | 8±     | 65± | 3±     | 61± | 4±     | 67± | 5±     | 68± |
|                 | 0,6                      | 6   | 0,3    | 6   | 0,6    | 10  | 0,7    | 6   | 0,5    | 8   | 0,9    | 8   |
| 2               | 3±                       | 60± | 2±     | 61± | 4±     | 66± | 5±     | 63± | 3±     | 63± | -      | -   |
|                 | 0,2                      | 8   | 0,1    | 6   | 0,2    | 9   | 0,2    | 10  | 0,3    | 10  | -      | -   |
| 3               | 7±                       | 73± | -      | -   | 6±     | 69± | 4±     | 62± | 6±     | 69± | 4±     | 75± |
|                 | 0,4                      | 10  | -      | -   | 0,1    | 10  | 0,4    | 9   | 0,7    | 9   | 0,6    | 10  |
| 4               | 6±                       | 82± | -      | -   | -      | -   | 5±     | 72± | 7±     | 72± | 6±     | -   |
|                 | 0,7                      | 10  | -      | -   | -      | -   | 0,3    | 10  | 0,8    | 9   | 0,3    | -   |
| 5               | 4±                       | 68± | 2±     | 69± | 3±     | 63± | 6±     | 63± | 5±     | 71± | 4±     | 64± |
|                 | 0,1                      | 8   | 0,2    | 8   | 0,2    | 9   | 0,4    | 10  | 0,5    | 7   | 0,1    | 8   |
| 23              | 8±                       | 64± | 5±     | 60± | 4±     | 61± | 6±     | 62± | 4±     | 63± | 2±     | 61± |
|                 | 0,5                      | 7   | 0,4    | 7   | 0,5    | 8   | 0,5    | 8   | 0,3    | 7   | 0,3    | 10  |

выталкивание кальция из клетки в данных условиях, вероятно, затруднено. Изучение зависимости "сила изометрического сокращения - концентрация кальция" показало, что она не подчиняется уравнению Михаэлиса - Ментен - при больших концентрациях кальция (больше 10 мМ) сила сокращения падает. Такое поведение можно объяснить тем, что имеется, по крайней мере, две цепи, зависящих от кальция, конечные эффекты которых оказывают противоположное действие на выход системы, генерирующей силу. Можно думать, что по мере увеличения концентрации кальция возрастет его поступление в клетку и, следовательно, увеличится количество внутриклеточного кальция. С другой стороны, согласно гипотезе Brady (1964), увеличение внутриклеточного кальция должно привести к укорочению длительности ПД через увеличение калиевой проницаемости. При последовательном увеличении концентрации кальция в наружном растворе сила сокращений возрастает в меньшей степени, а надежда сократимости начинается значительно раньше. Следовательно, добавление кальция на фоне инактивации сократимости приводит к еще большей инактивации кальциевого входа или к уменьшению его высвобождения из внутриклеточных

мест связывания. Опыты с безкальциевым раствором позволили установить наличие нескольких фаз оттока кальция с  $t_{1/2} = 2,5 \pm 0,5$  мин. и с  $t_{1/2} > 10$  мин. Вероятно, это свидетельствует о наличии нескольких внутриклеточных фракций кальция, что согласуется с данными (Charman, Niedergerke - 1970).

Для исследования хроноинotropии было использовано два подхода: метод парных стимулов и длительная ритмическая стимуляция после предварительной паузы. Метод парных стимулов применен для оценки событий вслед за одиночным сокращением, т. е. "элементарного" следового процесса, который имеет место после одной волны сокращения (возбуждения). После длительной паузы (2 - 3 минуты) наносилась пара стимулов. При изменении интервала между ними прослеживалось поведение второго (тестируемого) сокращения. Второй подход позволил изучить переходные процессы хроноинotropии (лестница Бюидича) при разных частотах стимуляции, а также статическую характеристику - зависимость установившейся на данной частоте стимуляции силы сокращений от периода стимуляции. Пауза между сериями импульсов составляла от 2 до 5 минут в зависимости от внеклеточной концентрации кальция. Частота стимуляции: 0,1; 0,125; 0,2; 0,25; 0,33; 0,5; 0,7 имп/сек. Каждая серия повторялась несколько раз. Зависимость амплитуды от номера сокращения описывалась автокорреляционной функцией.

Изучение хроноинotropии в гиперкальциевых средах позволило установить, что в данных условиях следовой процесс, который проявляет себя в увеличении последующих сокращений, выражен тем слабее, чем выше концентрация кальция. Так, для раствора с нормальной концентрацией кальция (1,08 мМ) максимум облегчения приходится на период 1,8 - 2,2 секунды, для  $Ca_0 = 4$  мМ на 0,9 - 1,1 сек, для  $Ca_0 = 8$  мМ на 0,6 сек. Характерно, что в растворах с высокой концентрацией кальция пропускная способность препарата резко увеличивается. В нормальном растворе препарат способен воспроизвести частоты не более 1 имп/сек, в растворе с  $Ca_0 = 8$  мМ возбуждение возникает и при частоте следования импульсов 1,4 - 1,5 имп/сек. Эта способность препарата пропускать высокие частоты может быть обусловлена уменьшением рефрактерного периода, длительность которого, в свою очередь, связана с уменьшением длительности по-

тенциалов действия (ПД). Характерным эффектом гиперкальциевых растворов было сглаживание переходных процессов (лестницы Бюдиша). Переходной процесс быстрее достигал своего установившегося значения. Второй особенностью гиперкальциевых растворов является то, что переходные процессы имеют вторичное падение сократимости, которое следует сразу же за небольшим приростом сокращений. Вторичное падение амплитуды тем больше, чем выше частота стимуляции и концентрация наружного кальция. Объяснение этих фактов можно провести, исходя из гипотезы (Р.С. Орлов, В.Я. Изаков, В.М. Шевелев - 1971), согласно которой потенциация сокращений в ритмическом ряду связана с накоплением ионов натрия в прислое у внутренней поверхности мембраны. Действительно, рядом работ показано наличие кальций-натриевой конкуренции (Niedergerke - 1956, Gage, Quastel - 1966), которая локализуется в медленном кальций-натриевом канале. Следовательно, в гиперкальциевых растворах поступление ионов натрия уменьшено, что проявляется в уменьшении положительного инотропного эффекта активации. Кроме того, в гиперкальциевых растворах имеет место укорочение длительности ПД (Е.Ф. Четверикова - 1972), о чем косвенно свидетельствуют и наши данные об увеличении пропускной способности (укорочение рефрактерного периода) препарата и уменьшении времени достижения максимума изометрического сокращения в растворах с повышенной концентрацией ионов кальция. В свою очередь, укорочение ПД должно вести к уменьшению заброса ионов натрия и уменьшению положительного инотропного эффекта активации. Это согласуется с тем фактом, что чем большая длительность ПД, тем, при прочих равных условиях, больше зона последствий возбуждения (В.Я. Изаков - 1968). Нужно принять во внимание и то, что накопление в клетке ионов может замедлить скорость работы калий-натриевой-АТФ-азы, что, вероятно, проявляется в изменении параметров переходных процессов. Одновременно с изменением амплитуды сокращений в гиперкальциевом растворе изменяется и длительность сокращения. Общая длительность сокращения при увеличении  $Ca_0$  меняется мало, но этому сопутствует уменьшение времени достижения максимума сокращения и некоторое замедление процесса расслабления. Уменьшение времени до пика сокращения (ВДМ) хорошо согласуется с укорочением дли-

тельности ПД в гиперкальциевых растворах. Если сравнить ВДМ в последовательном ряду сокращения при ритмической стимуляции после предварительной паузы, то обнаруживается, что в гиперкальциевых растворах ВДМ последовательно уменьшается. Можно думать, что увеличенное поступление кальция в клетку приводит к сужению ПД и ограничению дальнейшего поступления кальция в клетку, действуя как механизм с обратной связью для поддержания кальциевого гомеостаза клетки.

Опыты с влиянием длительности пауз на переходной процесс позволили установить, что динамические характеристики хронотропии не зависят от длительности остановки сердца. Кроме того, при описании наблюдаемых сдвигов необходимо учитывать наличие двух процессов: оттока "следа" от предшествующего возбуждения и дополнительного оттока активатора из некоторых участков внутри клетки. Создается впечатление, что постоянное ритмическое возбуждение является необходимым условием поддержания внутриклеточного ионного гомеостаза. В гиперкальциевых растворах отток кальция и натрия из клетки происходит значительно медленнее (меньше влияние пауз), что "требует" уменьшения частоты сердцебиений.

#### Действие растяжения при разных концентрациях кальция в растворе.

Эксперименты данной серии были поставлены в связи с тем, что до сих пор не вполне ясен механизм действия растяжения на уровне клетки. Здесь возможны два объяснения. Во-первых, можно думать, что растяжение влияет на пассивные свойства мышцы (параллельный и последовательный эластические элементы в рамках 3-х компонентной модели Хилла) и изменяет взаимоотношение между нитями актина и миозина, тем самым изменяя число доступных для кальция участков реагирования. Во-вторых, трудно отрицать, что растяжение не влияет на участки связывания кальция в клетке. Чтобы выяснить некоторые из этих аспектов, были поставлены опыты, где влияние растяжения проверялось на фоне повышенной и пониженной концентрации ионов кальция. Попутно выяснялись эффекты, возникающие в данных условиях при вариации частоты раздражения.



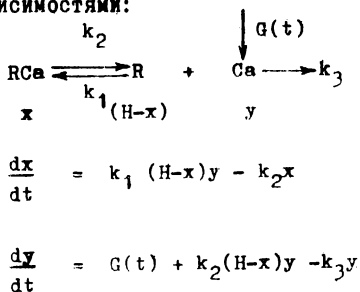
Эксперимент проводился по следующей схеме. В нормальном растворе снималась зависимость напряжения, развиваемого миокардом при изменении степени изометрии (опыты проводились в небольшом диапазоне растяжений для того, чтобы избежать гистерезисных явлений). Затем концентрация кальция изменялась и указанная последовательность действий повторялась.

При повышении концентрации ионов кальция кривые сила сокращения - растяжение смещаются вверх с увеличением крутизны этой зависимости. Другими словами, при увеличении концентрации кальция растяжение становится как бы более эффективным.

Так же, как и в нормальном растворе, в гиперкальциевом и гипокальциевом растяжение не влияет на параметры переходного процесса, возникающего после предварительной паузы.

При изучении действия растяжения в "безкальциевом" растворе было получено: увеличение степени растяжения приводит к резкому возрастанию силы сокращений. Амплитуда сокращений хотя и много меньше, чем в нормальном растворе, но растяжение на 100 - 200 мг увеличивает силу сокращений иногда в 5 - 10 раз.

Сделать выбор между двумя априорными возможностями реализации действия растяжения из приведенных данных довольно трудно, не имея "качественной модели" явления. Поэтому была предложена и смоделирована на аналоговой машине МН-10м следующая модель. Предположим, что реакция, описывающая взаимодействие кальция и тропонинового комплекса, описывается простейшими зависимостями:



Предположим также, что сила сокращения пропорциональна числу комплексов  $Ca_x$ . В данном уравнении  $k_1$  - константа образования комплекса  $RCa$ ,  $k_2$  - константа распада комплекса  $Ca_x$ ,  $y$  - свободная концентрация кальция,  $k_3$  - константа

вывода кальция из поля реакции,  $N$  - максимальное число мест, которые генерируют силу и связываются с кальцием,  $G(t)$  - входная функция, описывающая поступление кальция в поле реакции (топографические источники кальция не конкретизируются). В данной модели растяжение равнозначно  $N$ . Действие повышенной и пониженной концентрации ионов кальция имитируется  $G(t)$ . Вопрос ставится следующим образом: можно ли в рамках данной модели объяснить эффекты, наблюдаемые при одновременном изменении концентрации кальция и растяжения. Если нет, то можно думать, что растяжение изменяет некоторые константы, например  $G(t)$ , или обладает иным (вне рамок данной модели) действием.

Анализ данной модели показал, что по мере увеличения поступления кальция связь сила сокращения - амплитуда заброса смещается, причем увеличивается и крутизна нарастания. Из приведенных данных следует, что растяжение, вероятно, не влияет на высвобождение (поступление) кальция в клетку. Приведенная модель адекватно описывает наблюдаемые явления.

#### Действие температуры на сократимость миокарда

Наиболее выраженным эффектом температуры (понижения) является увеличение силы сокращения, а также значительное увеличение его длительности. Постоянные температуры (температурный интервал, в котором изучаемый параметр изменяется в  $e$  раз) для амплитуды сокращения  $II^0 \pm I^0$  и для длительности  $IO,5^0 \pm I^0$ . Замедление временного хода сокращения при понижении температуры в принципе соответствует температурной зависимости, вытекающей из уравнения Аррениуса - понижение температуры приводит к экспоненциальному падению скорости реакции. То же справедливо и для длительности ПД. Сложнее обстоит дело с температурной зависимостью амплитуды изометрических сокращений, ибо последняя находится во внешнем противоречии с законом Аррениуса в предположении, что некоторая химическая реакция или их совокупность прямо контролирует силу сокращения. Энергия активации для реакций, контролирующих сокращение, имеет следующие значения:  $E = 15,0 \pm 1$  ккал/моль - энергия активации реакции, контролирующей длительность ПД;  $E_{\text{общ}} = 18 \pm 4$  ккал/моль - для силы сокращения;  $E_I = 33,5 \pm 5$

ккал/моль – энергия активации, отражающая влияние длительности ПД на силу сокращения. Наличие таких больших энергий активации, как правило, свидетельствует о существенном вкладе энтропийного фактора, о структурных, а также о конформационных перестройках в системе.

С понижением температуры наблюдается сдвиг хроноинотропной потенциации в направлении уменьшения быстродействия, но это ведет к тому, что предистория деятельности миокарда при низкой температуре сказывается на текущей активности в значительно большей степени, чем при высоких температурах. В целом, при низких температурах хроноинотропия в большей степени увеличивает силу сокращения, чем при высоких. Важно подчеркнуть, что при низких температурах, когда наблюдается урежение ритма, максимум хроноинотропной характеристики сдвигается именно в низкочастотную область. Если при температуре  $20^{\circ}$  максимальная частотная потенциация наблюдается при  $T = 1,8 - 2$  сек, то при  $10^{\circ}$  это значение составляет  $4 - 4,5$  сек, при  $5^{\circ}$  соответственно  $7,8 - 8,2$  сек. Указанный характер зависимостей справедлив для всех исследованных препаратов; различия касались только значений амплитуд и небольших вариаций области экстремума. Таким образом, при понижении температуры, в противовес урежению ритма, имеется термоинотропное и хроноинотропное усиление сократимости. Все это может способствовать увеличению (или сохранению на том же уровне) минутного выброса. Данная гомеостатическая система (В.Я.Изаков, С.М.Руткевич, О.А.Игальский, В.С.Круглов – 1973) "работает" так, как если бы пыталась противодействовать закону Аррениуса, который предсказывает понижение уровня функционирования "элементарной" биохимической системы при низких температурах. Во всем исследованном температурном диапазоне растяжение не влияет на параметры переходного процесса при изменении частоты сердцебиения. При понижении температуры крутизна термоинотропной характеристики резко возрастает, что означает более эффективное действие растяжения в низкотемпературной области.

Исследование сократимости миокарда как многофакторного процесса методом активного планирования эксперимента

Изучение сократимости сердечной мышцы позволило выявить

влияние таких факторов, как частоты сердцебиений, степени растяжения, температуры, а также ионов кальция. При этом существо эксперимента состояло в том, что все факторы фиксировались на определенном уровне и при вариации какого-то одного проверялось его влияние на силу сокращения. Это традиционный способ исследования, применяемый для изучения физико-химических механизмов явлений, в том числе для изучения механизмов, управляющих сократимостью миокарда. Однако такой подход не может решить всех проблем, стоящих перед исследователями. Во-первых, в стороне остаются задачи на оптимальность, а во-вторых, - выявление эффектов, которые возникают при одновременном варьировании многих факторов. Поэтому, помимо классического подхода, который совершенно необходим для познания "физики" процесса, требуется применение статистических методов - методов активного планирования эксперимента. Достоинством данного подхода является оптимальное исследование всей "области состояний" и возможность получения полиномиальной модели процесса с выявлением эффектов взаимодействия факторов.

В настоящей работе решаются следующие задачи с применением методов активного планирования эксперимента:

1. оценка степени влияния управляющих факторов на силу сокращения и оценка эффектов взаимодействия факторов;
2. поиск математической модели сокращений сердечной мышцы.

Теоретические соображения и предварительные эксперименты позволили отобрать для исследования следующие факторы: частоту сердцебиений, степень растяжения, температуру. Частота сердцебиений "сверху" ограничена пропускной способностью препарата, снизу - разумным пределом, т.е. той частотой, при которой предшествующая активность мало влияет на последующую. Растяжение снизу ограничено 100 мг, сверху - возникающими нелинейностями. Диапазон температур от 15 до 25°C.

Опыты проведены на 5 препаратах без повторностей, т.е. каждому варианту соответствует одно значение силы сокращения. Для определения достоверности коэффициентов уравнения предварительно ставилась серия опытов в 10 повторностях (одни из

вариантов матрицы факторного эксперимента повторялся 10 раз).

Результаты расчетов приведены в таблице 4. Обращает на себя внимание, что понижение температуры ( $x_1$ ), увеличение частоты стимуляции ( $x_2$ ) и степени растяжения ( $x_3$ ) приводят к увеличению максимальной силы сокращения. Аналогичные результаты вытекают из опытов с раздельным влиянием этих факторов. В дополнение можно утверждать, что увеличение температуры на  $1^{\circ}$  равносильно в выбранном температурном диапазоне увеличению частоты на 0,02 – 0,03 имп/сек. Сопоставление коэффициента, оценивающего влияние растяжения, с другими коэффициентами не имеет пока большого смысла, ибо неизвестен модуль перехода к величинам, действующим в целом сердце. Приведенные данные свидетельствуют о существовании в системе регуляции сократимости миокарда членов взаимодействия. Это означает, что влияние температуры зависит от уровня, на котором находятся частота и растяжение. Аналогичный вывод справедлив и для растяжения (его действие определяется текущими значениями температуры и частоты), и для частоты. Стационарные характеристики хронотропии зависят от действующей температуры и растяжения. То, что имеется взаимодействие между частотой и растяжением, не противоречит ранее сделанному выводу о том, что растяжение не влияет на динамические характеристики хронотропии, ибо коэффициент при  $x_2x_3$  свидетельствует об эффекте растяжения на статическую характеристику хронотропного регулятора. Следует также обратить внимание на то, что коэффициенты при  $x_1x_2$  и  $x_1x_3$  таковы, что взаимодействия стремятся увеличить сократимость миокарда именно при низких температурах.

Биологическая значимость эффектов взаимодействия становится ясной, если принять идею о существовании температурного гомеостаза у холоднокровных, направленного на увеличение сократимости миокарда при низких температурах, что как бы компенсирует влияние температуры, т.е. при низких температурах гетерометрический и хронотропный регуляторы сократимости становятся более эффективными. Вклад взаимодействия температуры – растяжения в сократимость при низких температурах должен особенно возрасти в связи с тем, что при низких температурах заполнение желудочков кровью резко увеличивается вследствие удлинения диастолического интервала. С дру-

Таблица 4

Матрица планирования ПФЭ типа  $2^3$  результаты и данные регрессионного анализа в опыте по изучению совместного влияния температуры, частоты сердечбиений и растяжения на сократимость миокарда.

| № опыта | Независимые переменные |       |       | Сократимость миокарда в мг |           |               | Статистические показатели |
|---------|------------------------|-------|-------|----------------------------|-----------|---------------|---------------------------|
|         | $x_1$                  | $x_2$ | $x_3$ | $y$                        | $\hat{y}$ | $v$           |                           |
| 1       | -                      | -     | -     | 146                        | 141,4     | $v_0=287$     | $S^2(x_1)=52,73$          |
| 2       | +                      | -     | -     | 75,5                       | 82,4      | $v_1=85,4$    | $S^2(y)=6,59$             |
| 3       | -                      | +     | -     | 291,5                      | 296,2     | $v_2=73,5$    | $S^2(x_1)=0,82$           |
| 4       | +                      | +     | -     | 96,0                       | 88,8      | $v_3=134,8$   | $S(x_1)=0,90$             |
| 5       | -                      | -     | +     | 375,0                      | 382,2     | $v_{12}=37,1$ | $t(x_1)=2,12$             |
| 6       | +                      | -     | +     | 252,6                      | 248,0     | $v_{23}=33,2$ | $t(x_1)=3,15$             |
| 7       | -                      | +     | +     | 676,9                      | 669,8     | $v_{13}=18,8$ | $S_{ад} < RS^2(y)$        |
| 8       | +                      | +     | +     | 382,5                      | 387,2     | -             | $298,1 < 430,3$           |

$$y = 287 - 85,4x_1 + 73,5x_2 + 134,8x_3 - 37,1x_1x_2 + 33,2x_1x_3 - 18,8x_1x_3$$

гой стороны, повышение чувствительности к частоте при низких температурах имеет "смысл" в связи с малыми вариациями частоты сердцебиений при низких температурах.

## ВЫВОДЫ

1. Растяжение эффективно только во время возбуждения и не обладает последствием.

2. Зависимость силы одиночных сокращений от (нагрузки) растяжения имеет S-образный вид.

3. Растяжение препарата, задаваемое в различные фазы кардиоцикла при различных частотах сердцебиений, не влияет на параметры потенциалов действия.

4. Растяжение не влияет на параметры переходного процесса, связанного с изменением частоты сердцебиений.

5. Увеличение внеклеточной концентрации  $Ca$  приводит к увеличению силы сокращения, максимальной скорости укорочения, уменьшению латентного периода активации и некоторому замедлению конечной части расслабления.

6. Зависимость амплитуды одиночного сокращения от внеклеточной концентрации кальция имеет экстремальный характер.

7. Временной эффект действия ионов кальция двухфазен. Сначала наблюдается рост силы сокращения в ответ на увеличение концентрации, а затем сила сокращений падает.

8. Максимум кривой облегчения в гиперкальциевых растворах смещен в сторону малых периодов стимуляции.

9. При увеличении длительности остановки сердца сократимость падает. В гиперкальциевых растворах падение сократимости при увеличении длительности остановки значительно медленнее.

10. При повышении концентрации кальция кривые сила сокращения - растяжение смещаются по оси силы с изменением крутизны характеристики.

11. В гиперкальциевых и гипокальциевых растворах растяжение не влияет на параметры переходного процесса, возникающего после смены частоты стимуляции.

12. В безкальциевом растворе увеличение степени растяжения приводит к резкому возрастанию силы сокращения.

13. Понижение температуры увеличивает силу (с постоянной температуры  $11 \pm 1^{\circ}$ ) и длительность (с постоянной  $10,5 \pm 1^{\circ}$ ) сокращений.

14. Понижение температуры приводит к сдвигу хроноинотропной потенциации, который способствует усилению сократимости на низких частотах сердцебиений.

15. Во всем исследованном температурном диапазоне растяжение не влияет на переходные характеристики хроноинотропии.

16. Понижение температуры приводит к увеличению крутизны характеристики сила сокращения - растяжение.

17. Влияние температуры зависит от уровня, на котором находятся частота и растяжение. Аналогичный вывод справедлив и для растяжения (его действие определяется текущими значениями температуры и частоты), и для частоты сердцебиений.

#### РАБОТЫ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ, ОПУБЛИКОВАННЫЕ В ПЕЧАТИ:

1. Влияние некоторых двухвалентных катионов (кальция и никеля) на ритмическую активность миокарда желудочка лягушки. (Совместно с Д.П.Ведерниковым, Д.Заблоккайте, В.Я.Изаковым, Э.Нарушевичус, Р.С.Орловым). "Ритм сердца в норме и патологии", Сб. матер. симпозиума, Паланга, 1970, 315 - 318.

2. Особенности механической активности миокарда при низких температурах. (Совместно с В.Я.Изаковым). "Теоретические проблемы действия низких температур на организм", Матер. всесоюз. конференции, Владимир, 1972, 82 - 88.

3. О взаимоотношении гомеометрической и гетерометрической систем регуляции сократимости миокарда. (Совместно с В.Я.Изаковым), IX Междунар. Биофизический конгресс, Тезисы реферативных докладов, Москва, 1972, 164 - 165.

4. О возможности квазигомеостаза сердечной деятельности холоднокровных при изменениях температуры окружающей среды. (Совместно с В.Я.Изаковым, В.С.Кругловым, С.М.Руткевичем), Экология, 1973, № 1, 23 - 31.



ПОДПИСАНО К ПЕЧАТИ 1/Х-73 г.

ОБЪЕМ 1,5 ПЕЧ.Л.

ФОРМАТ 60x84 1/16

ТИРАЖ 200

ЗАКАЗ 1780

ЦЕХ № 4 ОБЪЕДИНЕНИЯ "ПОЛИГРАФИСТ",

СВЕРДЛОВСК, УНИВЕРСИТЕТСКАЯ ПЛ., 9