

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЧАСТОТЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ КАЛЬЦИЕВЫХ СПАРКОВ В МИОКАРДЕ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Борисова В.А.¹, Мячина Т.А.^{1,2}, Бутова К.А.^{1,2}, Хохлова А.Д.^{1,2}

¹) Уральский федеральный университет имени первого Президента России
Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, Россия

²) Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии
наук, г. Екатеринбург, Россия
E-mail: valerya.hibino@yandex.ru

COMPARATIVE EVALUATION OF THE MYOCARDIUM CALCIUM SPARK FREQUENCY IN NORM AND PATHOLOGY

Borisova V.A.¹, Myachina T.A.^{1,2}, Butova X.A.^{1,2}, Khokhlova A.D.^{1,2}

¹) Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

²) Institute of Immunology and Physiology, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg,
Russia

Diastolic Ca²⁺ sparks (short-term increase in intracellular Ca²⁺ concentration) can lead to proarrhythmic activity. We suggested a new method to estimate Ca²⁺ sparks frequency in single cardiac cells from the atria and ventricles in norm and diabetes mellitus.

С развитием конфокальной микроскопии стало возможным детальное исследование кинетики ионов Ca²⁺ в миокарде как основного звена механо-электрического сопряжения и механо-электрических обратных связей в кардиомиоцитах – клетках, составляющих функциональную структуру сердечной ткани. Нарушение внутриклеточной регуляции ионов Ca²⁺ при патологических условиях зачастую проявляется в виде увеличения числа спарков – кратковременного повышения внутриклеточной концентрации Ca²⁺ в диастолу. В свою очередь, увеличение числа Ca²⁺ спарков может приводить к нарушению электрической функции сердца в виде аритмической активности [1].

Цель данной работы заключалась в оценке частоты возникновения Ca²⁺ спарков в одиночных кардиомиоцитах предсердий и желудочков в норме и при сердечной недостаточности, вызванной сахарным диабетом 1 и 2 типа.

Эксперименты проводились на взрослых крысах линии Wistar в соответствии с Директивой 2010/63/EU. Для развития диабета 1 и 2 типа применялись аллоксановая и стептозотоциновая модели, соответственно. Возникновение вызванной сахарным диабетом сердечной недостаточности подтверждалось измерением электрических и гемодинамических параметров работы сердца, а также изменением биохимических показателей крови. Одиночные клетки сердца были получены при помощи аппарата Лангендорфа, осуществляющего перфузию по ретроградному типу раствором, содержащим коллагенлитические ферменты, разрушающие межклеточный матрикс [2]. Далее сердце разделялось на отдельные камеры,

каждая из которых подвергалась бережной механической дезагрегации для получения суспензии клеток.

Для регистрации динамических изменений внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в суспензию кардиомиоцитов добавлялся Ca^{2+} -чувствительный буфер Fluo-8AM (возбуждение – 488 нм, эмиссия – 484-561 нм). Инкубация клеток с 2.5 мкМ Fluo-8AM осуществлялась при комнатной температуре и отсутствии освещения в течение 20 минут, после чего надосадочная жидкость заменялась на раствор Тирода с целью удаления излишек красителя, чтобы снизить светимость фона.

Для записи сигнала флуоресценции использовался лазерный сканирующий конфокальный микроскоп LSM-710 (Carl Zeiss). Предварительно производилась оценка жизнеспособности клетки по её сократительной активности в условиях внешней электрической стимуляции. Далее на поверхности миоцита выбирался узкий продольный регион, после чего сразу после отключения стимуляции осуществлялось сканирование в линейном режиме в течение 90 с. Полученные изображения анализировались в программе ImageJ с помощью макроса Sparkmaster [3].

Было выявлено, что у крыс с сердечной недостаточностью число спарков на кардиомиоцит было выше, чем у здоровых животных, что может быть связано с дисфункцией специализированных рианодиновых каналов. Также наблюдалась тенденция увеличения числа спонтанных «утечек» Ca^{2+} в клетках предсердий по сравнению с желудочковыми миоцитами в условиях сахарного диабета.

Работа поддержана РФФ № 18-74-10059.

1. Eisner D. A., Caldwell J. L., Kistamás K., Trafford A. W. Circulation research, 121(2), 181-195 (2017).
2. Myachina T. A., Butova X. A., Khohlova A. D. AIP Conference Proceedings, 2174, 020140 (2019).
3. Picht E., Zima A. V., Blatter L. A., Bers, D. M. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 293(3), C1073-C1081 (2007).