ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКОЕ СОПРЯЖЕНИЕ КЛЕТОК СЕРДЦА

Мячина Т.А.^{1,2}, Бутова К.А.^{1,2}, Клинова С.В.³, 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
- ³⁾ Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья
рабочих промпредприятий, г. Екатеринбург, Россия
E-mail: myachina.93@mail.ru

THE USE OF FLUORESCENT DYES TO STUDY THE EFFECTS OF PATHOLOGICAL CONDITIONS ON THE ELECTROMECHANICAL COUPLING IN CARDIOMYOCYTES

Myachina T.A.^{1,2}, Butova X.A.^{1,2}, Klinova S. V. ³, Khokhlova A.D.^{1,2}

- ¹⁾ Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia
- ²⁾ Institute of Immunology and Physiology, Russian Academy of Sciences,
Yekaterinburg, Russia
- ³⁾ Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Indus-
trial Workers, Yekaterinburg, Russia

The data on the integrated effects of pathological conditions on the electromechanical function of atria and ventricles is limited. In this study we used fluorescent dyes to study the effects of hypoestrogenism on the structure and function of single rat atrial and ventricular cardiomyocytes.

Изучение процессов, лежащих в основе структурно-функционального ремоделирования миокарда, а также механизмов его адаптации к патологическим условиям представляет как фундаментальный, так и прикладной интерес. Однако мало известно о комплексном влиянии патологических условий, в частности, вызванных метаболическими нарушениями вследствие гормонального дисбаланса, на функцию миокарда всех камер сердца на клеточном уровне его организации.

Целью данной работы являлось применение флуоресцентных красителей для исследование влияния гипоестрогении на структуру и электрофизиологическую и сократительную функцию одиночных кардиомиоцитов предсердий и желудочков сердца крысы.

Эксперименты проводились на взрослых крысах линии Wistar в соответствии с положениями, изложенными в Директиве 2010/63/EU. Для моделирования гипоестрогении (снижения выработки эстрогенов) у самок крыс в возрасте 12-13 недель проводилась билатеральная овариоэктомия (удаление яичников). Для оценки состояния сердечно-сосудистой системы при гипоестрогении у экспериментальных животных определялись параметры ЭКГ и артериального давления.

Через 6 недель после овариоэктомии одиночные кардиомиоциты были получены методом ретроградной перфузии изолированного сердца крысы по Лангендорфу с авторскими модификациями [1, 2].

Для оптической регистрации мембранного потенциала к суспензии кардиомиоцитов добавлялся потенциал-чувствительный краситель di-8-ANEPPS (возбуждение – 488 нм, эмиссия – 564-700 нм) в концентрации 20 мкМ. Данный краситель который также использовался для визуализации плотности распределения Т-тубул – впячиваний клеточной мембраны.

Для оценки динамики ионов Ca^{2+} в цитозоле клетки в ходе сократительного цикла и кальциевых спарков (локальное повышение концентрации Ca^{2+} в разных участках миоплазмы) кардиомиоциты окрашивались Ca^{2+} -чувствительным флуорофором fluo-8-AM (возбуждение – 488 нм, эмиссия – 484-561 нм) в концентрации 2.5 мкМ.

Регистрация свечения флуорофоров di-8-ANEPPS и Fluo 8-AM выполнялась при помощи системы лазерной конфокальной микроскопии (LSM-710, Carl Zeiss, Германия) и программного обеспечения Zen2009 (Carl Zeiss, Германия).

Одновременно с записью мембранного потенциала и динамикой ионов кальция в узком продольном регионе на поверхности клеток осуществлялась регистрация сокращений кардиомиоцитов при использовании отдельного канала регистрации видимого изображения.

Было показано, что применение Ca^{2+} - и потенциал-чувствительных флуоресцентных красителей позволяет выявить изменения в структуре и функции миокарда возникшие в ходе развития гипоестрогении.

Работа поддержана РФФИ № 20-315-70006.

1. Ackers-Johnson M., Li P., Holmes A., O'Brien S.-M., Pavlovic D., Foo R. Circulation research, 119, 909-920 (2016).

2. Myachina T. A., Butova X. A., Khohlova A. D. AIP Conference Proceedings, 2174, 020140 (2019).