

А. Н. КУДРИН, Ж. К. АСЛАНЯНЦ

ЗАВИСИМОСТЬ АРИТМОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ХЛОРИДА КАЛЬЦИЯ ОТ ЕГО ДОЗЫ У БЕЛЫХ МЫШЕЙ И КРОЛИКОВ

Модель хлорид кальциевой аритмии широко используется для поиска и отбора антиаритмических препаратов, а также для объяснения фибрилляторного действия хлорида кальция на миокард [2, 3, 4, 9, 11, 14—26].

Мы поставили целью изучить нарушения деятельности сердца в зависимости от различных доз хлорида кальция у белых мышей и кроликов, а также выявить количественные взаимоотношения между кальцием и миоэпином при фибрилляции желудочков сердца.

Методика. Опыты проведены на белых мышках-самцах весом 18—24 г., наркотизированных внутривенным введением уретана (1,5 г/кг), а также на 15 кроликах породы «шиншилла».

Раствор хлорида кальция готовили в концентрации 2% из ампульного 10% раствора $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, содержащего 1% чистого безводного хлорида кальция (CaCl_2). Хлорид кальция вводили мышам в дозах логарифмической шкалы: 20, 30, 40, 50, 63, 80, 100, 125, 158, 200, 250 мг/кг. Каждую расчетную дозу хлорида кальция вводили только одному животному со скоростью 3 сек. независимо от вводимого объема раствора. Интервал между логарифмами доз составлял 0,1 мг. Хлорид кальция вводили под контролем ЭКГ. На каждую дозу в этой серии опытов было испытано по 8 мышей.

Кроликам хлорид кальция вводили в краевую вену уха с той же скоростью введения, что и мышам, в дозах 25, 50 и 75 мг/кг.

Для определения общего кальция кролика забивали в период фибрилляции сердца, быстро вскрывали грудную клетку, выделяли сердце и немедленно погружали в лед. В контроле кролики забивались сразу же после введения им в краевую вену уха физиологического раствора в объеме 1,5 мл/кг, соответствующем введению 75 мг/кг CaCl_2 . Физиологический раствор вводили с той же скоростью, что и CaCl_2 . Содержание общего кальция в верхушке сердца исследовали методом пламенной фотометрии. Все данные в этой серии опытов обработаны статистически, за достоверные принимались результаты при $P < 0,05$.

Результаты. Хлорид кальция в дозах 20 и 30 мг/кг у белых мышей при внутривенном введении вызывает брадикардию, а иногда атриовентрикулярную блокаду. У кроликов внутривенное введение 25 мг/кг хлорида кальция вызывает брадикардию. Эти дозы мы назвали пороговыми, или «малыми» дозами.

Хлорид кальция в дозах 40, 50, 63, 75 и 80 мг/кг у белых мышей и в дозе 50 мг/кг у кроликов вызывает брадикардию, атриовентрикулярную блокаду, экстрасистолию, а в единичных случаях—фибрилляцию желудочков. Аритмия под влиянием этих «средних» доз длится от нескольких секунд до 3 мин., в редких случаях до 7 мин.

Хлорид кальция в «больших» дозах—100, 125, 158 и 200 мг/кг у белых мышей и 75 мг/кг у кроликов, вызывает гибель абсолютного большинства животных либо при явлениях фибрилляции желудочков, либо при явлениях асистолии, возникающей сразу же после введения всей дозы.

Внутривенное введение всех доз хлорида кальция у белых мышей и кроликов сопровождается тремя фазами в развитии электрокардиографических изменений.

Первая фаза—замедление частоты сокращений сердца, характеризуется брадикардией и нарушением атриовентрикулярной проводимости. Эта фаза наблюдается в течение первых секунд после введения всех указанных доз.

Вторая фаза—учащение сокращений, связана с повышением автоматизма и проявляется одиночными экстрасистолами или «залпом» экстрасистол при воздействии средних, а иногда и больших доз хлорида кальция.

Третья фаза—фибрилляция или асистолия, может наступить сразу же после введения как больших, так и средних доз.

Определение общего кальция в миокарде с помощью пламенного фотометра (проведено на кафедре патофизиологии I ММИ им. И. М. Сеченова с Н. К. Хитровым и А. И. Свистухиным) показало, что содержание общего кальция в миокарде в норме на 1 г сухой ткани составило $0,68 \text{ мг/г} \pm 0,1$, а при фибрилляции $1,07 \text{ мг/г} \pm 0,07$. Содержание влаги в ткани сердца составило 72—77%, т. е. $\approx 80\%$.

Обсуждение результатов. Общеизвестно, что хлорид кальция вызывает аритмию посредством прямого действия на сердце. Однако относительно механизма развития кальциевой аритмии высказываются различные суждения [15, 17, 23, 24 и др.].

При любых механизмах возникновения хлорид кальциевой аритмии представляется интересным установить соотношения между количеством введенных молекул Са и миозином сердца. Для этого мы применили два метода подсчета: теоретический—по результатам исследований на белых мышках и экспериментальный—по данным пламенной фотометрии, полученным на кроликах.

Теоретический расчет. У белых мышей фибрилляция желудочков в ряде опытов возникала при введении им 100 мг/кг CaCl_2 . При этом мы принимали во внимание, что ионы легко проходят через капиллярную стенку [13], и допускали, что введенный CaCl_2 распределится равномерно в организме. При расчете учитывали, что вес сердца мыши составляет 0,1 г. Введенный CaCl_2 в дозе 0,1 мг/кг в пересчете на молекулы кальция составит:

40,08 мол, вес Са ————— 6,023·10²³ число Авогадро,

а в 0,1 г Са ————— Х молекул Са.

Отсюда $X = 0,015 \cdot 10^{23}$ молекул Са или, округленно, $1,5 \cdot 10^{21}$ молекул Са на 1 кг веса, а на миокард мыши количество введенного Са составит в молекулах:

$1,5 \cdot 10^{21}$ — на 1000 г веса тела

X — 0,1 г веса сердца.

Отсюда $X = 1,5 \cdot 10^{17}$ молекул Са приходится на миокард мышцы.

Для определения количества молекул кальция на основной сократительный белок миокарда — миозин необходимо подсчитать, какое количество миозина находится в миокарде. Поскольку в среднем 14% от веса миокарда составляют белки [8], то в сердце мышцы весом 0,1 г будет содержаться $1,4 \cdot 10^{-2}$ г белков. Миозин в белках составляет 55%, т. е. $0,7 \cdot 10^{-2}$ г.

На миозин миокарда приходится Са:

$1,5 \cdot 10^{17}$ молекул Са — на 0,1 г веса сердца

X — на $0,7 \cdot 10^{-2}$ г миозина,

следовательно, $X = 1,05 \cdot 10^{16}$ молекул Са.

Чтобы вычислить, сколько молекул кальция во время фибрилляции будет приходится на молекулу миозина, надо подсчитать, сколько молекул миозина содержится в $0,7 \cdot 10^{-2}$ г миозина.

Известно, что молекулярный вес миозина равен $5 \cdot 10^5$ [7, 10, 12], отсюда:

$5 \cdot 10^5$ мол. вес. миозина — 6,023 $\cdot 10^{23}$ число Авогадро

$0,7 \cdot 10^{-2}$ г. миозина — X молекул миозина.

$X = 0,84 \cdot 10^{16}$ молекул миозина содержится в $0,7 \cdot 10^{-2}$ г. миозина.

Теперь можно рассчитать, какое количество молекул кальция приходится на одну молекулу миозина в момент фибрилляции:

$\frac{1,05 \cdot 10^{16} \text{ молекул Са}}{0,84 \cdot 10^{16} \text{ молекул миозина}} = 1,2$ молекулы кальция на одну молекулу

миозина, или на 100 молекул миозина 120 молекул Са. Если учесть, что влаги в миокарде содержится около 80%, то на 100 молекул миозина сухого миокарда мышцы приходится 24 молекулы Са.

Представляет также интерес подсчет количества молекул Са, входящих на единицу поверхности миокарда в момент фибрилляции*.

Поскольку на весь миокард введено $1,5 \cdot 10^{17}$ молекул Са, а вес миокарда мышцы составляют 0,1 г, 1 г миокарда лягушки занимают поверхность, равную 6000 см² [1], следовательно, 0,1 г миокарда мышцы займет поверхность, равную 600 см² и на 1 см² будет приходится $0,25 \cdot 10^{15}$ молекул Са:

$\frac{1,5 \cdot 10^{17} \text{ молекул Са на весь миокард}}{6 \cdot 10^2 \text{ см}^2} = 0,25 \cdot 10^{15} \text{ молекул Са, а на } 1 \text{ Å}^2$:

$\frac{0,25 \cdot 10^{15} \text{ молекул Са}}{1 \cdot 10^{16}} = 0,025 \text{ молекул Са, а на } 100 \text{ Å}^2 \text{ будет}$
приходиться 2,5 молекулы Са.

После приближенного расчета количества молекул Са на миозин и на единицу поверхности миокарда у белых мышей, мы произвели спе-

* Поскольку данные о поверхности миокарда мышей и кроликов отсутствуют, мы вывели эти величины, учитывая поверхность миокарда лягушки—6000 см² [1].

циальное исследование на кроликах с определением содержания общего Са в миокарде в норме и в момент фибрилляции. Оказалось, что в норме в миокарде у кроликов на 1 г сухой сердечной ткани приходится 0,68 мг Са, вес сухого сердца кролика составляет около 1,6 г, так как содержание влаги в сердце кролика весом 8 г около 80% (собственные данные). Исходя из этого, во всем сердце (сухом) содержалось общего Са 1,088 мг:

$$0,68 \text{ мг Са} \text{-----} 1 \text{ г.}$$

$$X \text{ мг Са} \text{-----} 1,6 \text{ г.}$$

X = 1,088 мг, переведем это значение в молекулы:

$$40,08 \text{ г мол. вес. Са} \text{-----} 6,023 \cdot 10^{23} \text{ число Авогадро}$$

$$1,088 \cdot 10^{-6} \text{ г. Са} \text{-----} X \text{ молекул Са}$$

X = $0,16 \cdot 10^{17}$ молекул Са содержится во всем сухом миокарде в норме.

После фибрилляции содержание общего Са на 1 г сухой ткани сердца составило 1,07 мг, а в молекулах:

$$40,08 \text{ г. мол. вес. Са} \text{-----} 6,023 \cdot 10^{23} \text{ число Авогадро,}$$

$$1,7 \cdot 10^{-6} \text{ г. Са} \text{-----} X \text{ молекул Са}$$

X = $0,25 \cdot 10^{17}$ молекул Са содержалось в миокарде в момент фибрилляции.

Чтобы рассчитать, сколько молекул Са приходится на 1 молекулу миозина в граммах в сердце у кролика, мы сначала подсчитали, сколько миозина в граммах в сердце у кролика, учитывая, что вес сердца кролика составляет 8 г и что 7% его веса приходится на миозин. В сердце кролика оказалось миозина 0,56 г., а в молекулах:

$$0,56 \text{ г.} \text{-----} X \text{ молекул}$$

$$5 \cdot 10^5 \text{ г. мол. вес миозина} \text{-----} 6,023 \cdot 10^{23} \text{ число Авогадро,}$$

$$X = 0,674 \cdot 10^{18} \text{ молекул миозина.}$$

Теперь легко перейти к основному определению: сколько же молекул Са приходится на 1 молекулу миозина сначала в норме, а потом в момент фибрилляции.

В норме: $\frac{0,16 \cdot 10^{17} \text{ молекул Са, содержащееся в миокарде в норме}}{0,674 \cdot 10^{18} \text{ молекул миозина, содержащееся в миокарде}} = 0,23 \cdot 10^{-1}$, или 0,023 молекулы Са на 1 молекулу миозина.

В момент фибрилляции:

$\frac{0,25 \cdot 10^{17} \text{ молекул Са, содержащееся в миокарде при фибрилляции}}{0,674 \cdot 10^{18} \text{ молекул миозина, содержащееся в миокарде}} = 0,37 \cdot 10^{-1}$, или 0,037, или приблизительно 0,04 молекулы Са приходится на 1 молекулу миозина, а на 100 молекул миозина—4 молекулы Са.

Аналогичен теоретический расчет, проведенный на кроликах.

У кроликов фибрилляцию вызвало введение им 75 мг/кг, или 0,075 г/кг хлорида кальция. Переведем эту величину в молекулы:

40,08 г мол. вес Са ————— 6,023·10²³ число Авогадро

0,075 г Са ————— X молекул Са

X = 0,01·10²³ = 1·10²¹ молекул Са на 1 кг веса, а на миокард кролика количество введенного Са составит в молекулах:

1·10²¹ молекул Са ————— на 1000 г веса тела

X молекул Са ————— на 8 г веса сердца кролика,

X = 8·10¹⁸ молекул Са. Сколько же Са приходится на миозин миокарда?

8·10¹⁸ ————— на 8 г веса сердца

X молекул Са ————— на 0,56 г миозина сердца,

X = 0,56·10¹⁸ молекул Са.

Если в 0,56 г миозина содержится 0,674·10¹⁸ молекул миозина, то на одну молекулу миозина будет приходится 0,8 молекул Са, что вытекает из следующего уравнения:

$$\frac{0,56 \cdot 10^{18} \text{ молекул Са}}{0,674 \cdot 10^{18} \text{ молекул миозина}} = 0,8 \text{ молекул Са на 1 молекулу миозина, а на 100 молекул миозина будет приходится 80 молекул Са.}$$

Так как в мышце сердца содержится около 80% влаги, следовательно, на 100 молекул миозина сухого миокарда будет приходится в 5 раз меньше Са, т. е. 80 молекул: 5 = 16 молекул Са на 100 молекул миозина, а по экспериментальным данным на 100 молекул миозина приходится 4 молекулы Са. Следовательно, при переходе от теоретического расчета к реальным величинам полученные данные следует уменьшить в 4 раза.

Если применить полученный нами коэффициент поправки на кроликах к анализу теоретического расчета, полученного на белых мышах, то полученные 24 молекулы Са, приходящиеся на 100 молекул миозина сухого миокарда мыши, следует разделить на 4 и тогда получим, что в момент фибрилляции у белых мышей на 100 молекул миозина приходится 6 молекул Са.

Если теперь сравнить все результаты, полученные нами при теоретическом расчете, с данными, полученными при экспериментальных расчетах, то очевидно, что они близки друг к другу. Эти результаты позволяют нам считать, что можно прибегнуть к подобным теоретическим расчетам в экспериментах и для других веществ.

Расчет количества молекул Са, приходящихся на поверхность миокарда кролика, будет выглядеть следующим образом: если поверхность 1 г сердца лягушки занимает поверхность 6000 см², то на 1 г сердца кролика приходится:

$$\frac{0,25 \cdot 10^{17} \text{ молекул Са, приходящихся в момент фибрилляции на миокард}}{6 \cdot 10^3 \text{ см}^2}$$

= 0,04·10¹⁴ молекул Са на 1 см² приходится в момент фибрилляции, а на 1 Å²:

$$\frac{0,04 \cdot 10^{14} \text{ молекул Са}}{1 \cdot 10^{16} \text{ Å}^2} = 0,04 \cdot 10^{-2} \text{ молекулы Са, а на 100 Å}^2 \text{ будет}$$

приходиться 0,04 молекулы Са.

Проведенные подсчеты дают основание предположить, что в происхождении фибрилляции имеют значение количественные взаимоотношения между кальцием и основным сократительным белком миокарда — миозином. Возможно, что избыток Са всего лишь в 1,5 раза в миокарде и служит тем активным фактором, который и «запускает» фибрилляторные механизмы, вызывая нарушение синхронности процессов деполаризации мембраны миокарда.

Мы попытались показать взаимоотношения Са и миозина в миокарде в молекулярном выражении, так как в доступной нам литературе подобных расчетов обнаружить не удалось. Эти данные, на наш взгляд, могут представлять интерес для молекулярной фармакологии, где целесообразно выявить соотношения между количеством молекул биологического субстрата и введенного вещества.

Выводы

1. Фибрилляция желудочков сердца у кроликов возникает при увеличении содержания общего Са в миокарде в 1,5 раза по сравнению с нормой.

2. Фибрилляция желудочков сердца у кроликов происходит при содержании 4 молекул Са на 100 молекул миозина.

И ММИ им. И. М. Сеченова,
г. Москва

Поступило 18/VIII 1972 г.

Ա. Ն. ԿՈՒՐԴԻՆ, Ժ. Կ. ԱՍԼԱՆՅԱՆՑ

ԿԱԼՑԻՆԻՍԻ ՔԼՈՐԻԴԻ ԱՌԻԹՄՈԳԵՆԱՅԻՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ԿԱԽՎԱՄՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՆՐԱ ԴՈՋԱՅԻՑ ՍՊԻՏԱԿ ՄԿՆԵՐԻ ՄՈՏ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ցույց է տրվել Са մոլեկուլների այն քանակի տեսական և փաստացի հաշվարկը, որ բաժին է բնկնում միոզինի մկների և ճագարների վրա կատարվող ֆերրիլացիայի մոմենտում:

A. N. KUDRIN, J. K. ASLANIANTS

ARRHYTHMOGENIC ACTIONS OF CaCl AND ITS DEPENDENCE
ON THE DOSE IN WHITE MICE

Summary

The theoretical and factual calculation of molecules of Ca quantities on the myosin in the moment of fibrillation were shown in rabbits and in rats.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альберт Э. Избирательная токсичность, М., 1971, 1933.
2. Асланянц Ж. К. Материалы конференции молодых ученых И ММИ им. И. М. Сеченова, М., I, 1971, 112—113.
3. Асланянц Ж. К. Материалы конференции молодых ученых И ММИ им. И. М. Сеченова М., I, 1972, 80—81.
4. Асланянц Ж. К., Абиндер А. А., Кудрин А. Н. Кровообращение, 1972, V, 4, 43—44.
5. Бендолл Дж. Мышцы, молекулы и движение, М., 1970,

111. 6. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. Н. В кн.: «Лабораторные животные», Киев, 1962, 277. 7. Збарский Б. И., Иванов И. И. Мардашев С. Р. В кн. «Биологическая химия», М., 1965, 21. 8. Иванов И. И. Успехи современной биологии, 61, 1, 3, 437, 1966. 9. Львов М. В. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1972. 10. Леви А., Сикевич Ф. В кн.: «Структура и функция клетки», М., 1971, 469. 11. Мохаммед Эль Сайед Аммар. Канд. дисс. М., 1969. 12. Нейрат Г. Н., Бейли К. Белки, 2, 221—222, 1956. 13. Покалев Г. М. Казанск. мед. журнал, 1972, 2, 83—87. 14. Суравец Б. В кн.: «Проблемы моделирования в кардиологии», 1968, 176. 15. Фельд Б. Н. Кардиология, 11, 55, 1971. 16. Федоров Б. М. В кн.: «Механизмы нарушения и восстановления сердечной деятельности», М., 1968. 17. Фролов В. А., Абиндер А. А., Демуров Е. А., Крюкова И. В., Овсяников А. М., Деуреченский Е. И., Казанская Т. Н. В кн.: «Фибрилляция и дефибрилляция», М., 1966, 44. 18. Фролов В. А. В кн.: «Нарушения ритма сердца», М., 1967, 74. 19. Черноголов И. А. В кн.: «Нарушения ритма сердца», М., 1962. 20. Юрьев Э. Г., Юрьева Т. И. В кн.: «Материалы конференции молодых ученых», I MMI им. И. М. Сеченова, 1, 1971, 113—114. 21. Grumbach L., Howard J. W., Merrill V. J. Circulat. Res. 2, 452, 1954. 22. Mallnow M. R., Battle F. F., Malamud B. Arch. Inter. Pharmacodyn., 99, 3—4, 458—466, 1954. 23. Mallnow M. R., Battle F. F., Malamud B. Amer. J. Physiol., 175, 8, 1953 (c). 24. Rothberger C. J., Winterberg H. Pfling. Arch. ges. Physiol., 141, 343—377, 1911 (a). 25. Rothberger C. J., Winterberg H. Rflügers. Arch. ges. Physiol., 142, 461, 1911 (b). 26. Szekeres L., G. Y. J. Papp. Experimental cardiac arrhythmias and antiarrhythmic drugs, Budapest, 41, 1971.