

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-144

**АКТИВНОСТЬ ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ
ЧЕЛОВЕЧЕСКИХ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ БЕТА-АДРЕНОСТИМУЛЯЦИИ****THE ACTIVITY OF VOLTAGE-GATED ION CHANNELS OF HUMAN CARDIOMYOCYTES
UNDER BETA-ADRENERGIC STIMULATION**

С. Г. Коваленко, Ш. Р. Фролова

*Московский физико-технический институт, Долгопрудный
Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского*

S. G. Kovalenko, S. R. Frolova

*Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny
Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute*

✉ sandaara.romanova@phystech.edu

Аннотация

Исследовано влияние изопреналина на потенциал-зависимые ионные каналы человеческих желудочковых кардиомиоцитов, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток от здорового донора. В результате методом пэтч-кламп получены количественные характеристики модуляции токов I_{Na} , I_{Ca} , I_L и I_{Ks} человеческих кардиомиоцитов при бета-адреностимуляции.

Abstract

The effect of isoprenaline on voltage-dependent ion channels of human ventricular cardiomyocytes differentiated from induced pluripotent stem cells from a healthy donor was studied. As a result, quantitative characteristics of the modulation of currents I_{Na} , I_{Ca} , I_L and I_{Ks} of human cardiomyocytes during beta-adrenergic stimulation were obtained using the patch-clamp method.

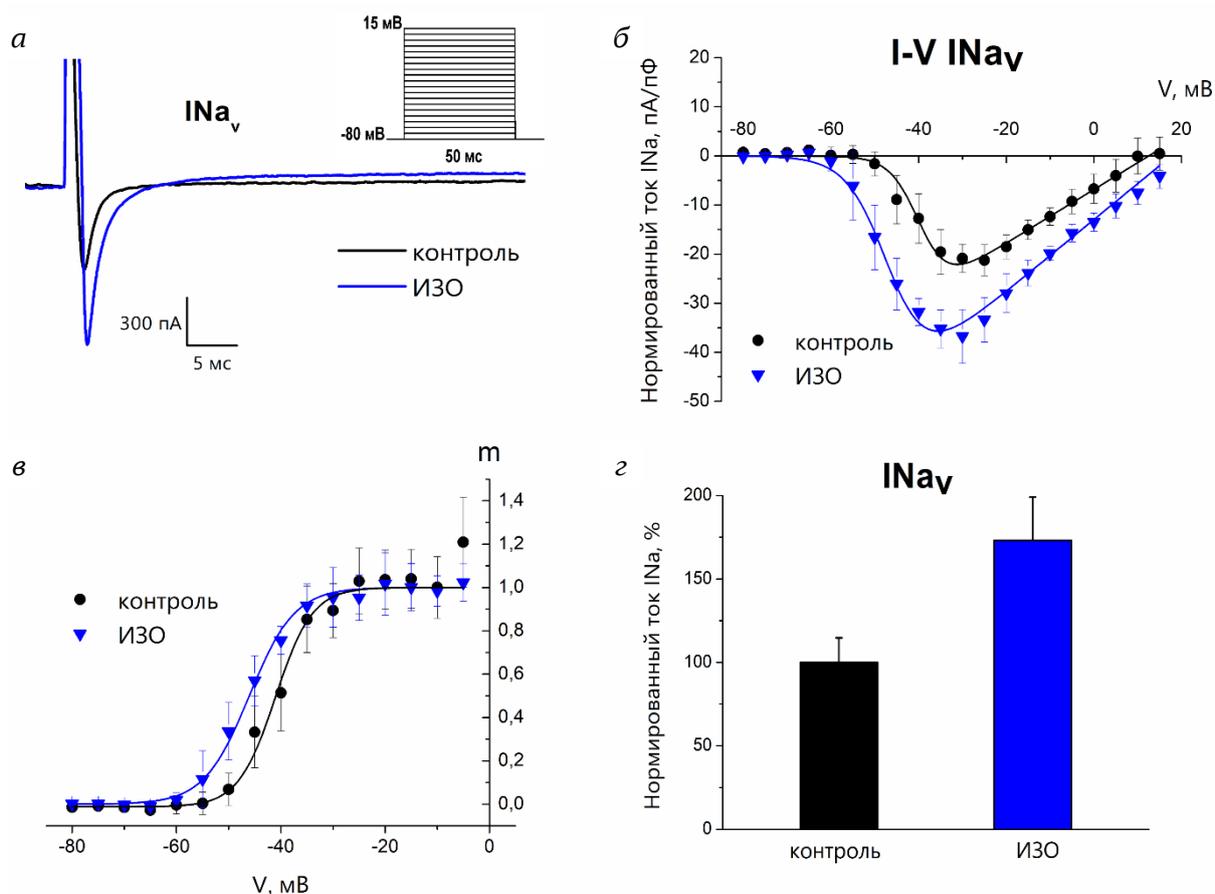
Стимуляция адренорецепторов (АР) приводит к увеличению частоты сокращений сердца, скорости проведения возбуждения и изменению силы мышечных сокращений, т. е. является компенсаторным механизмом, который временно поддерживает сердечный выброс. Тем не менее в случае патологий, таких, например, как сердечная недостаточность, адреностимуляция желудочков может привести к возникновению аритмий. Потенциально аритмогенными являются внутриклеточные механизмы при воздействии адреналином на ткань сердца. Несмотря на значительный прогресс, достигнутый в понимании роли передачи сигналов бета-адреностимуляции при заболеваниях сердца и аритмиях, количественное и функциональное понимание роли вегетативной стимуляции в нормальной электрофизиологии сердца и опасных для жизни аритмиях все еще не полно [1].

Изопреналин (изопротеренол) является чистым неселективным агонистом бета-адренорецепторов. Существует пробел в количественном понимании влияния бета-адреностимуляции на функцию ионных каналов сердца человека: симпатический эффект исследован главным образом на клеточных моделях животных, зачастую при комнатной температуре.

В данной работе в качестве человеческих кардиомиоцитов выбраны клетки, полученные путем дифференцировки из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) линии здорового человека m34sk3. Цель работы — исследовать модуляцию потенциал-зависимых ионных каналов (I_{Na} , I_{Ca} , I_L и I_{Ks}) человеческих кардиомиоцитов в условиях бета-адреностимуляции.

Регистрировали быстрый натриевый ток с помощью протокола стимуляции от -80 до $+15$ мВ с шагом в 5 мВ и длительностью 50 мс. Пример токов в контроле и после действия изопреналина (ИЗО) представлен на рисунке ниже (взяты записи максимумов тока с каждой записи в одной клетке). Амплитуда тока I_{Na} после добавления ИЗО увеличилась на 73 ± 25 % по сравнению с контролем (см. рисунок, в). Далее были построены активационные кривые m для контроля и вещества (см. рисунок, з). $V_{1/2}$ для контроля составляла $-41,0 \pm 1,2$ мВ, после добавления ИЗО $-46,1 \pm 1,3$ мВ. Под действием ИЗО наблюдается смещение активационной кривой m влево, смещение полувысоты составляет ~ 5 мВ.

Амплитуда тока I_{Ca} , I_L после действия ИЗО увеличилась на 120 % по сравнению с контролем ($p \leq 0,004$). Сами нормированные усредненные амплитуды составляли: в контроле $-18,8 \pm 4,3$ пА/пФ, после ИЗО $-41,5 \pm 3,4$ пА/пФ.



Пример токов в контроле и после действия изопреналина: *a* — токи быстрого натриевого канала I_{Na} человеческих кардиомиоцитов, дифференцированных из ИПСК в контроле (черная кривая) и после действия 1 μ М ИЗО (синяя кривая); *б* — вольтамперные кривые $I-V$ для I_{Na} в контроле (черная кривая, $n = 12$), после добавления ИЗО (синяя кривая, $n = 9$); *в* — кривая активации m для быстрых натриевых каналов кардиомиоцитов человека, дифференцированных из ИПСК (черная кривая, $n = 12$), после ИЗО (синяя кривая, $n = 9$); *г* — гистограмма изменения амплитуды кардиомиоцитов в процентах в контроле (черная колонка, $n = 12$) и после ИЗО (синяя колонка, $n = 9$, $p \leq 0,009$)

Также после добавления ИЗО наблюдается смещение вольтамперной кривой влево на ~ 6 мВ. Амплитуда тока I_{Na} была нормирована на емкость клетки, и при +60 мВ в протоколе максимум плотности тока I_{Na} составил в контроле $3,5 \pm 0,5$ пА/пФ, в присутствии ИЗО $6,9 \pm 0,4$ пА/пФ. Амплитуда тока I_{Na} увеличилась на $\sim 98\%$ после введения ИЗО.

В результате установлено, что уже при концентрации изопреналина 1 μ М происходит значительное увеличение потенциал-зависимых ионных токов I_{Na} , I_{Ca} , I_L и I_{Ks} человеческих кардиомиоцитов, полученных дифференцированием ИПСК человека. Показано, что разница в кинетике между более быстрой активацией I_{Ca} , I_L и более медленным увеличением I_{Ks} при активации бета-адренорецепторов временно нарушает баланс входящих и выходящих токов и это может пролонгировать ПД и благоприятствовать ранней постдеполяризации, что является фактором развития аритмий.

Литература

1. Grandi E. and Ripplinger C.M. Antiarrhythmic mechanisms of beta blocker therapy // Pharmacological Research. 2019. Vol. 146. P. 104274.