

УДК 612.822.3

А.А.Зайка (6 курс, каф. ЭФ),
Е.В.Лопатина, к.б.н., с.н.с. НИИ кардиологии МЗРФ

РОЛЬ Na^+ , K^+ -АТФАЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА КАРДИОМИОЦИТОВ

В последние годы отмечен рост числа больных с сердечной недостаточностью. Повышение артериального давления и изменение сократимости миокарда у таких больных связано с гормональной регуляцией, нарушением баланса между симпатической и парасимпатической системами и системой регуляции водно-солевого обмена. Выдвигается предположение о том, что в регуляции роста клеток за счет гормонов этих систем принимает участие Na^+ , K^+ -АТФаза, а именно её изоформа, нечувствительная к уровню Na^+ . В настоящее время считается, что снижение активности Na^+ , K^+ -АТФазы является одним из наиболее общих признаков различных форм патологий, включая сердечно-сосудистые заболевания.

В ткани сердца представлены три изоформы Na^+ , K^+ -АТФазы – $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$. Нечувствительной по отношению к изменению концентрации Na^+ является $\alpha 3$ изоформа. В высоких концентрациях она обнаружена в нейронах, ЦНС, сердечной мышце. Эта изоформа экспрессируется в сердечной мышце в эмбриональном периоде онтогенеза. Возможно, $\alpha 3$ изоформа является маркером проводящей системы сердца и реэкспрессируется при перегрузке желудочков. Одной из функций Na^+ , K^+ -АТФазы является препятствие излишнему накоплению Na^+ в нервных окончаниях при частых импульсных разрядах нейронов.

Метод органотипической культуры ткани является достаточно чувствительным методом при исследовании влияния различных биологически активных веществ. В опытах с применением этого метода были получены результаты, позволяющие оценить роль Na^+ , K^+ -АТФазы в регуляции роста кардиомиоцитов в эмбриональный период развития.

В качестве экспериментальных животных использовали 10-12-дневные куриные эмбрионы. Культивирование осуществляли в течение трех дней в чашках Петри на коллагеновой подложке. Коллаген получали из сухожилий хвостов крыс по методу Бернштейна. Перед использованием поверхность чашек несколько раз промывали раствором Хенкса. Рост кардиомиоцитов в культуре ткани исследовали прижизненно с помощью светового микроскопа, а также на препаратах, окрашенных метиленовым синим. Для количественной оценки влияния тестируемых веществ и воздействий на рост кардиомиоцитов применяли морфометрический метод. Интенсивность роста эксплантатов оценивали по величине индекса площади (ИП), который рассчитывали как отношение площади всего эксплантата, включая периферическую зону роста, к исходной площади, т.е. площади центральной зоны. За условную единицу площади принимали квадрат окуляр-сетки микроскопа. Для тестирования влияния селективного ингибитора Na^+ , K^+ -АТФазы оуабаина на рост кардиомиоцитов в органотипической культуре ткани куриных эмбрионов исследуемое вещество добавляли в культуральную среду в различных концентрациях.

Оуабаин (ОУА) исследовали в диапазоне концентраций от 10^{-8} М до 10^{-13} М. ОУА в концентрации 10^{-8} М полностью блокирует рост кардиомиоцитов. Нами обнаружено, что в концентрации 10^{-9} М ОУА, добавляемый в питательную среду, стимулирует рост кардиомиоцитов на 9%. В концентрации 10^{-10} М ОУА достоверно стимулирует рост клеток сердечной ткани на 46%. При исследовании ОУА в концентрации 10^{-12} М наблюдали угнетение роста клеток, то есть индекс площади снижался до 85% по отношению к

контролю. При использовании оубаина в концентрации 10^{-13} М данные почти не отличались от контрольных, ИП составил 94%.

Нами был протестирован гормон симпатической нервной системы норадреналин (НА). Мы исследовали диапазон концентраций от 10^{-9} М до 10^{-15} М. В концентрации 10^{-9} М НА угнетал рост кардиомиоцитов, ИП снижался до 70% по отношению к контролю. Введение НА в концентрациях 10^{-13} М и 10^{-15} М приводило к снижению роста клеток. Стимуляция роста клеток сердечной ткани наблюдалась при добавлении в питательную среду НА в концентрации 10^{-12} М происходила стимуляция роста клеток сердечной ткани.

Для того чтобы выяснить, не связано ли трофическое действие НА с активностью Na^+, K^+ -АТФазы, ОУА (10^{-10} М) и НА (10^{-12} М) совместно вводили в питательную среду. При этом наблюдали частичное устранение ингибирующего эффекта ОУА (10^{-8} М).

Из полученных результатов можно сделать вывод, что действие ОУА более сильно выражено по отношению к клеточному росту, чем у НА. Впервые обнаружена концентрация блокатора Na^+, K^+ -АТФазы, которая достоверно стимулирует рост клеток сердечной мышцы. На фоне ОУА в концентрации 10^{-10} М индекс площади увеличился на 33-46 % по отношению к контролю. Полученные результаты позволяют также предположить, что трофическое действие НА (10^{-12} М) связано с регуляцией активности Na^+, K^+ -АТФазы.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Sweadner K.J. Na^+, K^+ -ATPase and its isoforms // *Neuroglia*, 1995, pp. 259-272.
2. Xie Z. Ouabain interaction with cardiac Na^+/K^+ -ATPase reveals that the enzyme can act as a pump and as a signal transducer // *Cell Mol. Biol.*, 2001, v. 47, pp. 383-390.
3. Xie Z., Askari A. Na^+/K^+ -ATPase as signal transducer // *Eur. J. Biochem.*, 2002, v. 269, N 10, pp. 2434-2439.