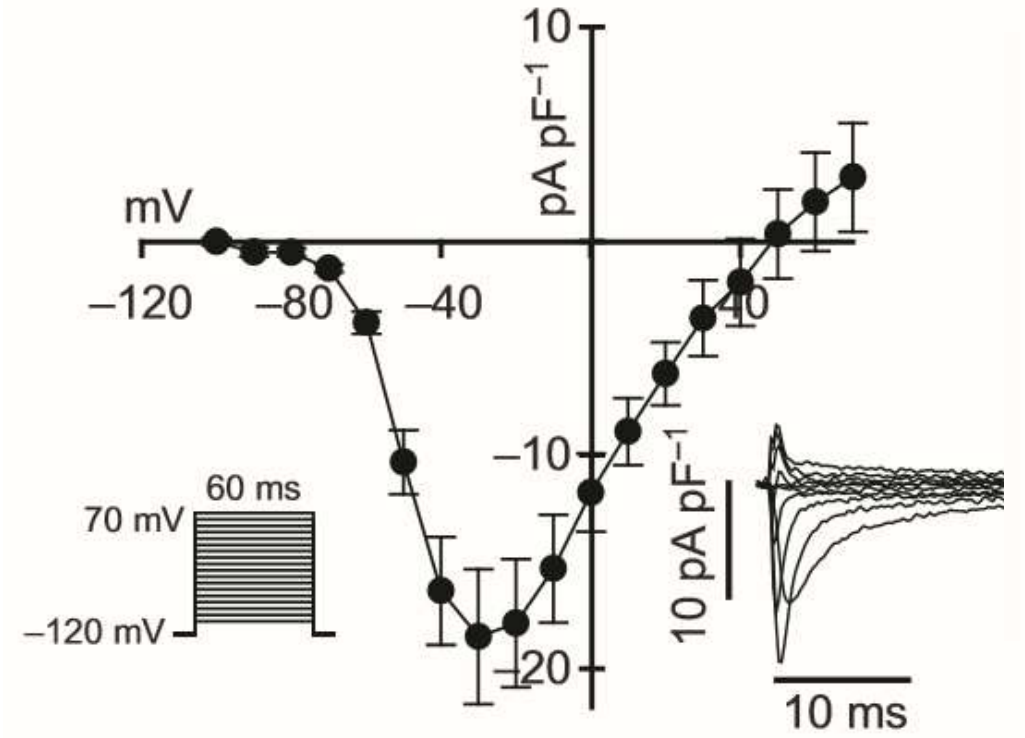
Температурная зависимость ионных токов в кардиомиоцитах керчака

Выполнили:
Водорезова К.Г.
Колотова Д.Е.
Руководитель:
Абрамочкин Д.В.

Беломорская биологическая станция имени Н.А.Перцова, 2016

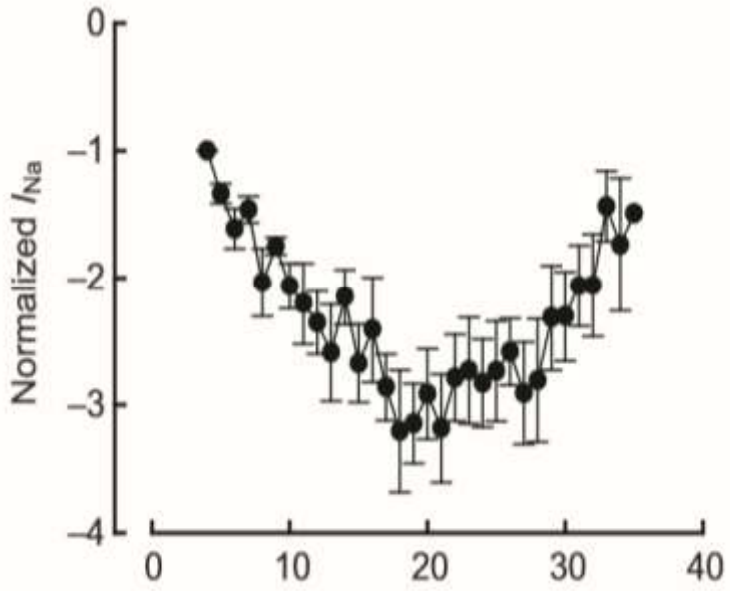
Как стало ясно из предыдущего доклада, вопрос о механизмах нарушений электрической активности в миокарде рыб умеренных и северных широт при повышении температуры окружающей среды является весьма актуальным для современной экологической физиологии рыб.

Быстрый натриевый ток, отвечающий за деполяризацию и проведение возбуждения, снижается при нагревании свыше 20 градусов



Вольт-амперная характеристика натриевого тока

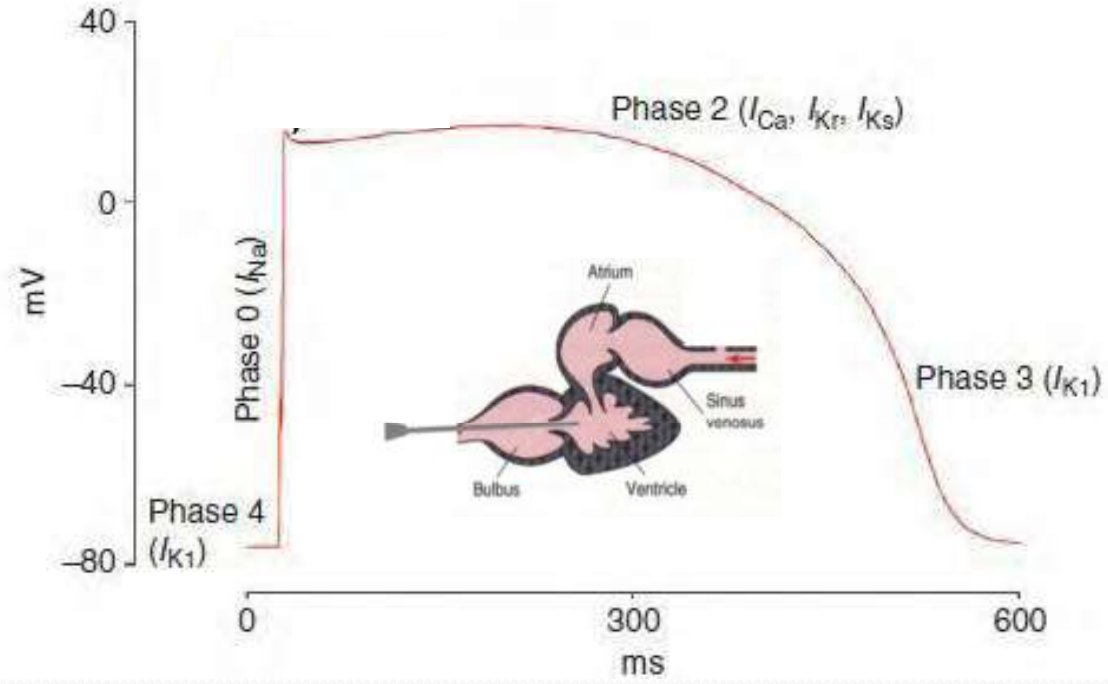
(Vornanen et al., 2014)



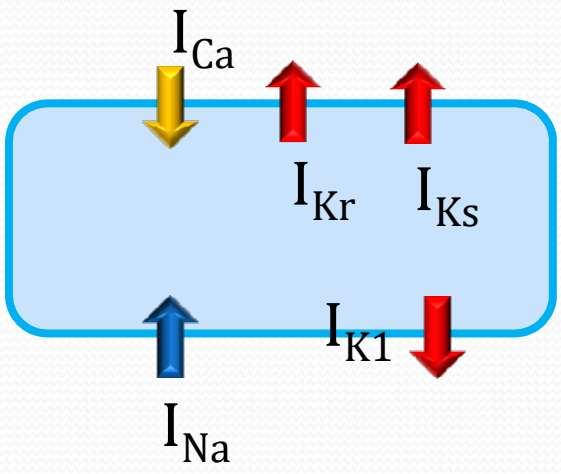
Температура (Цельсия)

Зависимость максимального натриевого тока от температуры

Токи, формирующие ПД в кардиомиоцитах рыб



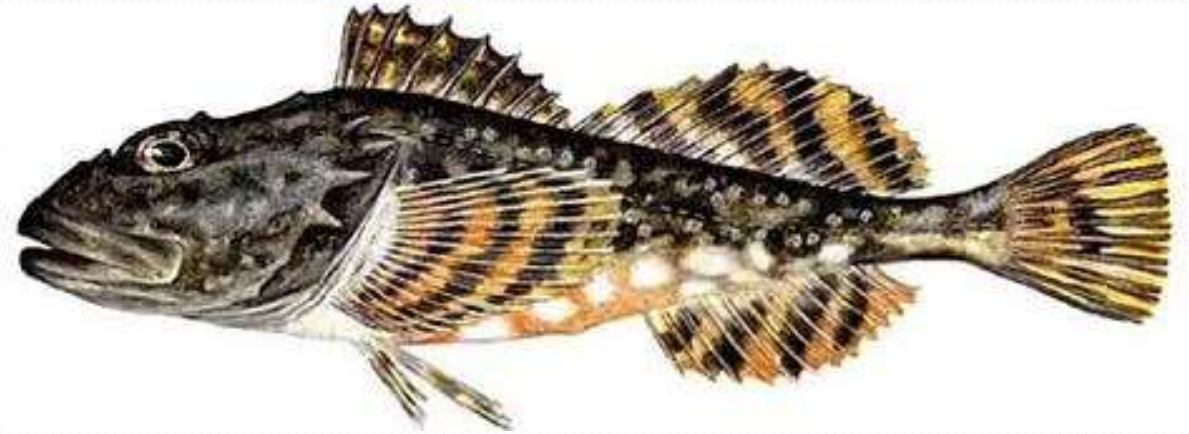
Длительность ПД регулируется калиевыми токами выпрямления I_{Kr} и I_{K1}



- I_{Kr}– калиевый ток задержанного выпрямления; основной ток, определяющий длительность ПД в кардиомиоцитах рыб (активируется в ранний период фазы плато)

- I_{K1} - калиевый ток аномального (входящего) выпрямления; определяет окончательную скорость реполяризации и поддерживает потенциал покоя (активируется на заключительной стадии реполяризации)

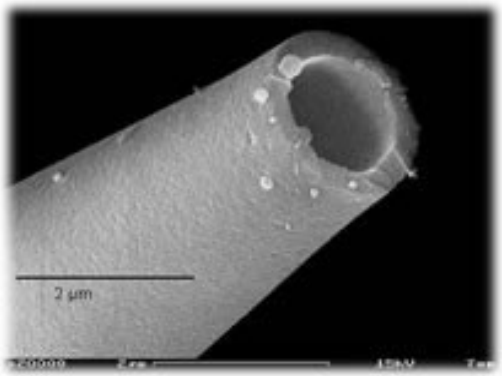
Цель работы: исследовать температурную зависимость калиевых токов предсердных и желудочковых кардиомиоцитов европейского керчака (*Myoxocephalus scorpius)*

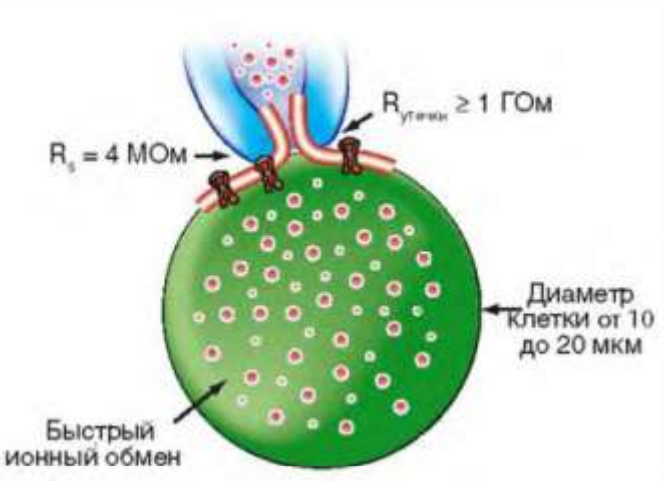


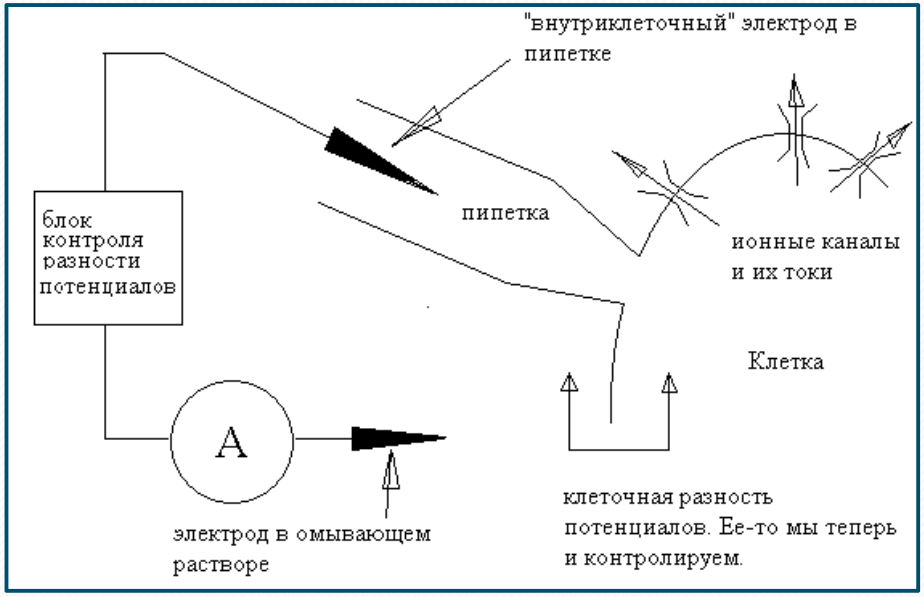
Задачи:

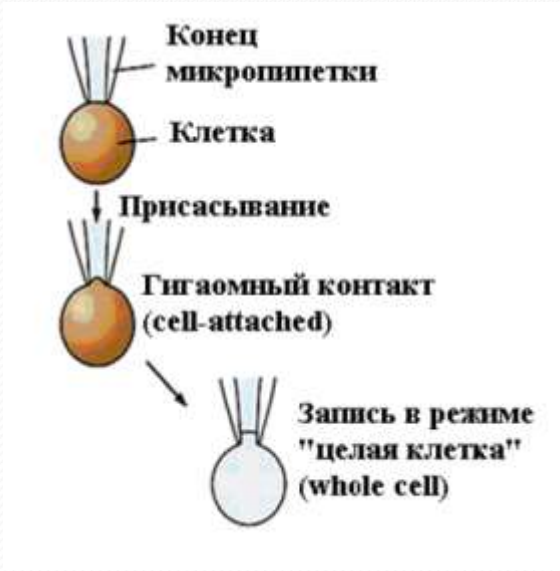
1. Сравнить величины входящей компоненты, а также выходящей компоненты фонового калиевого тока аномального выпрямления I_{K1} в желудочковых миоцитах керчака при температурах 12, 18, 24 и 30°C.
2. Сравнить величины выходящего быстрого калиевого тока задержанного выпрямления I_{Kr} (по максимуму хвостового тока) в желудочковых и предсердных миоцитах керчака при температурах 12, 18, 24 и 30°C.

Метод patch-clamp в конфигурации whole-cell









Установка

Ход работы

-Обездвиживали рыбу, перерезая спинной мозг

-Извлекали сердце, перфузировали бескальциевым раствором для выделения с добавлением коллагеназы 1А и трипсина и получали кардиомиоциты предсердия и желудочка

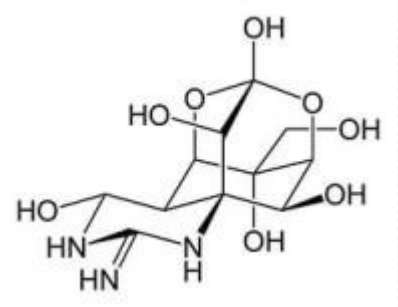
- Инкубировали клетки в течение часа при +2°С

- Регистрировали ионные токи I_{K1} и I_{kr} кардиомиоцитов при температурах 12, 18, 24 и 30°С в программе WinWCP V4.8.6

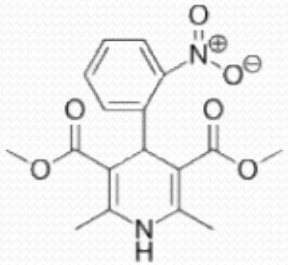
-Обработку полученных данных проводили в программах Clampfit 10.4 и Excel

Методика

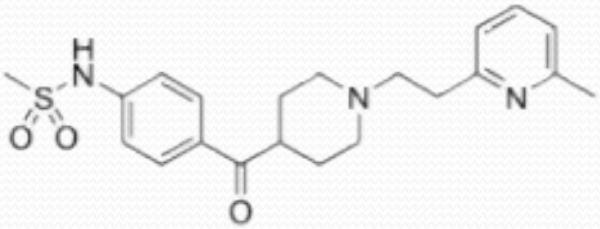
•Для блокады натриевых каналов применяли тетродотоксин в концентрации 10^{-7} М



•Для подавления кальциевого тока L-типа использовали селективный блокатор нифедипин в концентрации 10^{-5} М



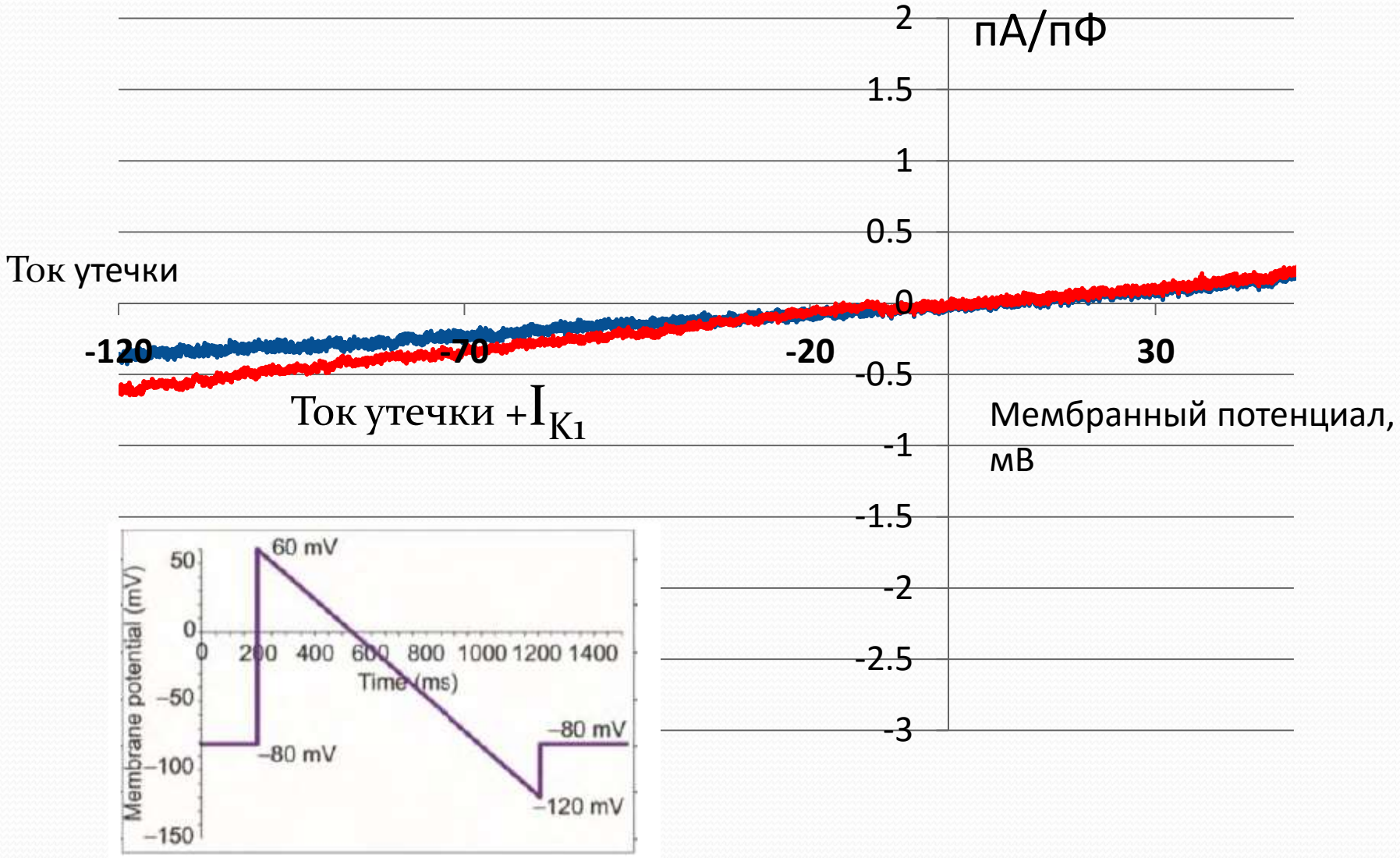
•Для блокады I_{Kr} при регистрации I_{K1} использовали E4031 в концентрации 10^{-5} М



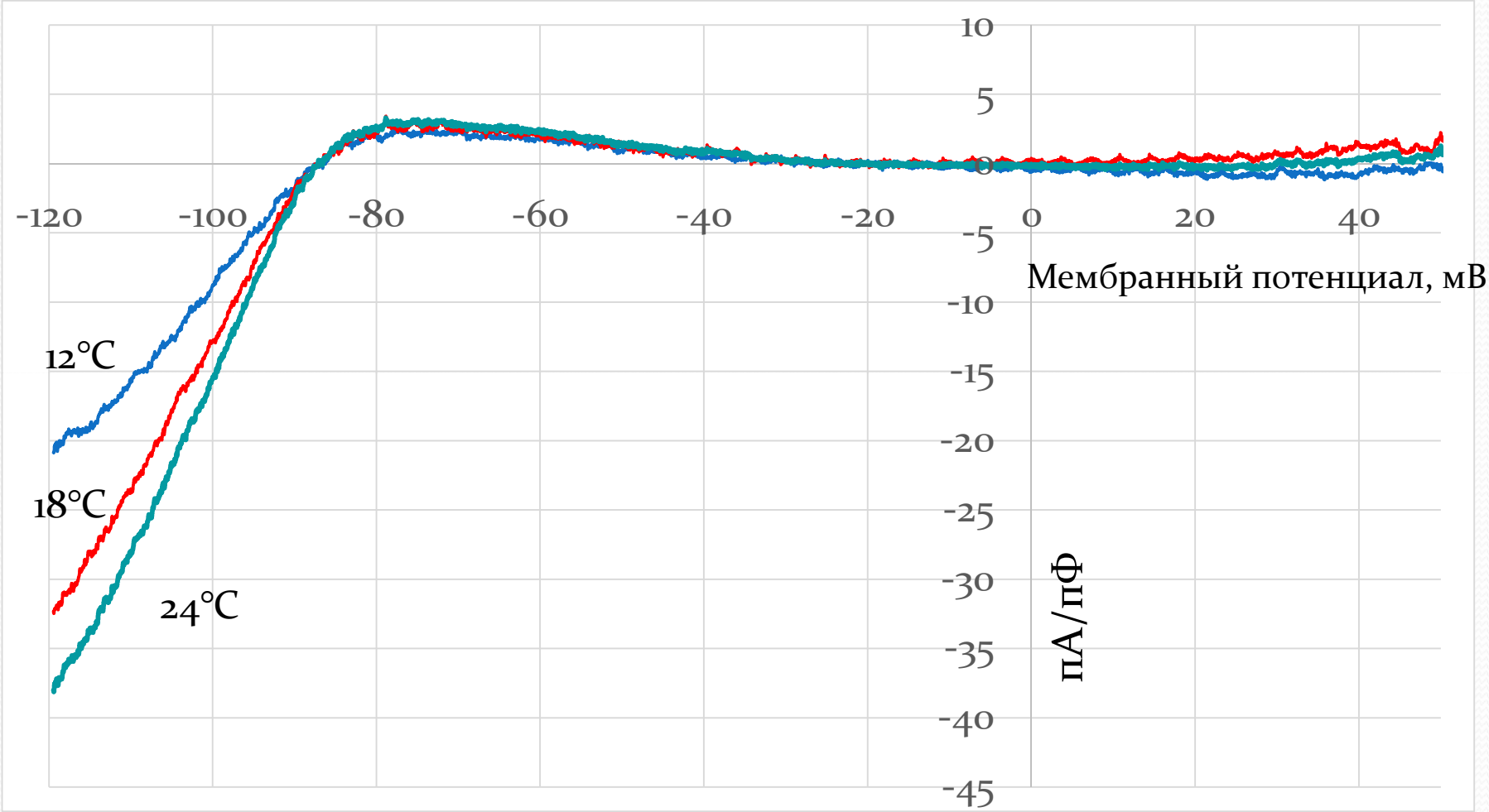
•Ток аномального выпрямления блокировали хлоридом бария

Результаты

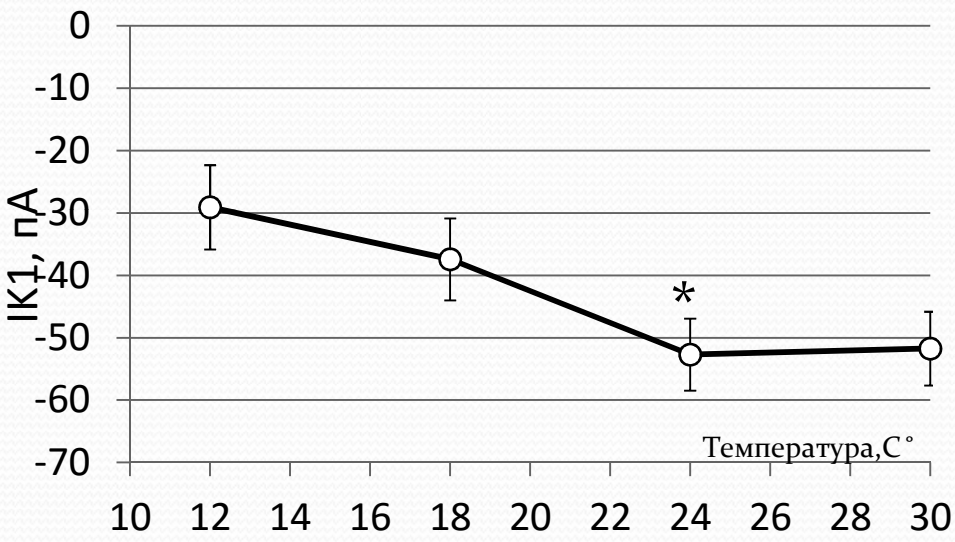
Кривая, построенная по оригинальной записи тока аномального выпрямления I_{K1} в предсердных кардиомиоцитах керчака

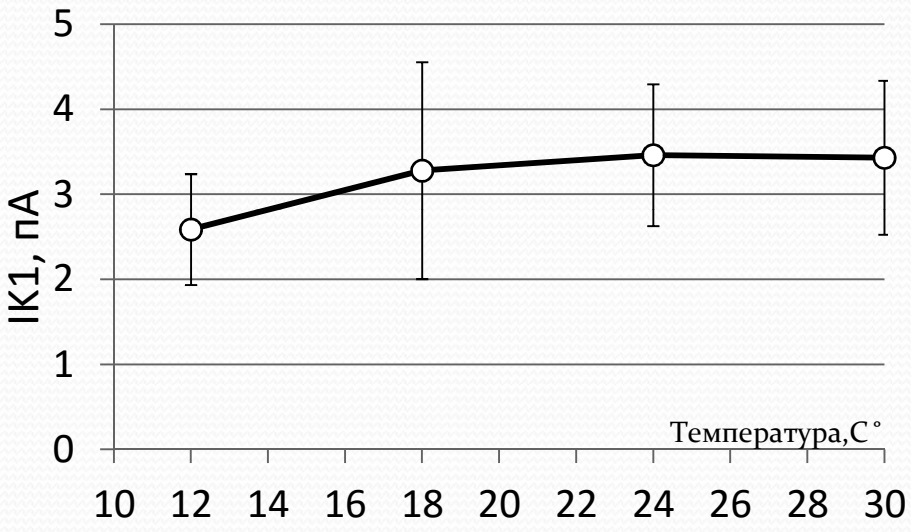


Вольт-амперная кривая тока аномального выпрямления I_{K1} в желудочковых кардиомиоцитах керчака при разных температурах



Температурная зависимость входящей и выходящей компонент тока аномального выпрямления I_{K1} в желудочковых кардиомиоцитах

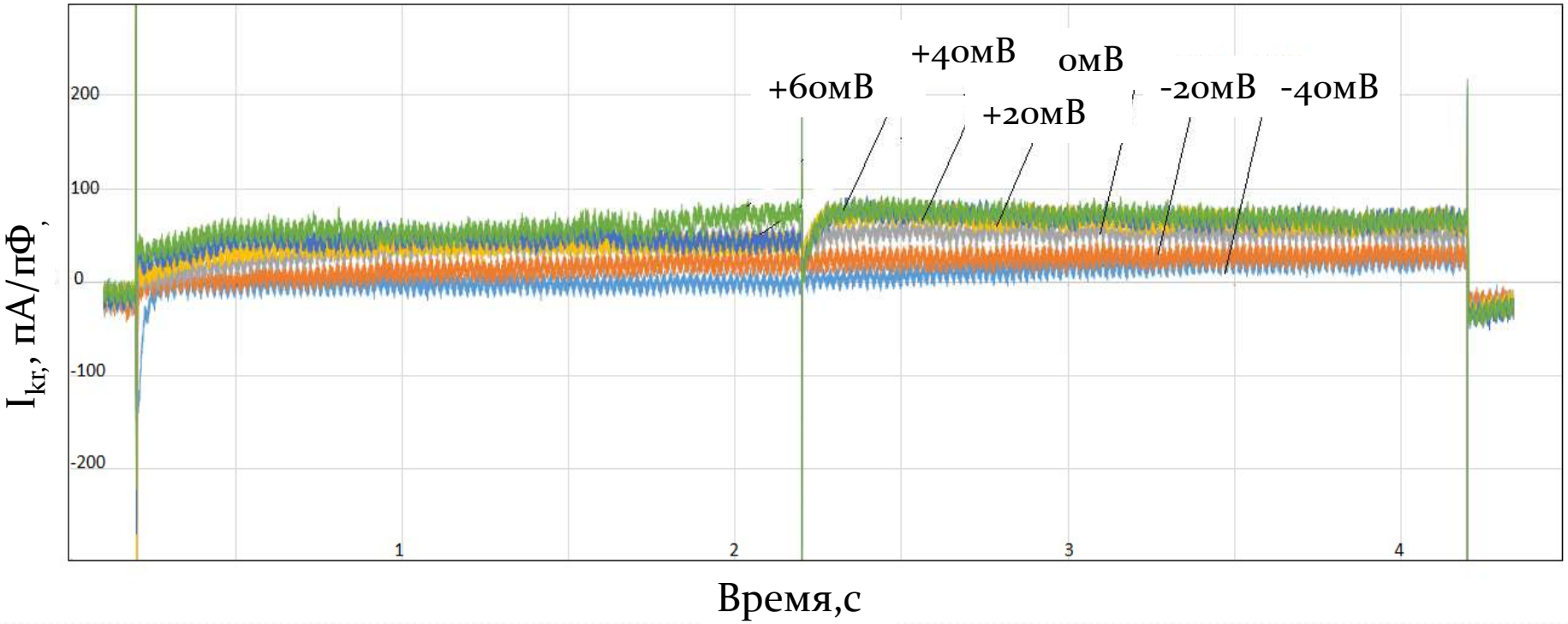


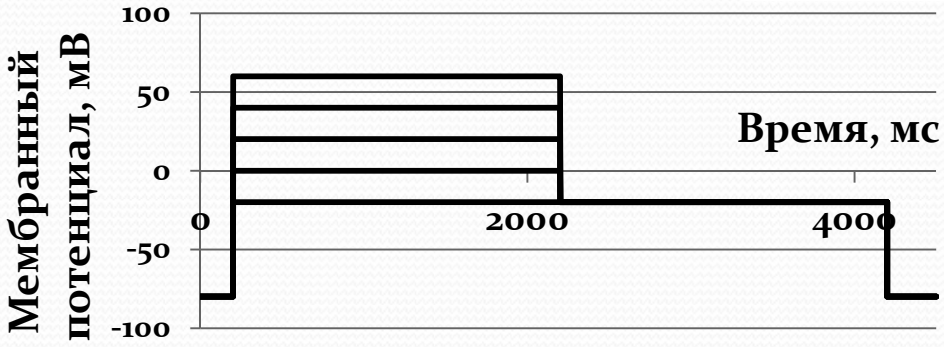


Входящая компонента тока (при значении мембранного потенциала -120 мВ)
n=5, * - отличие от 12°С, p<0,05

Выходящая компонента тока (при значении мембранного потенциала -50 мВ)
n=5

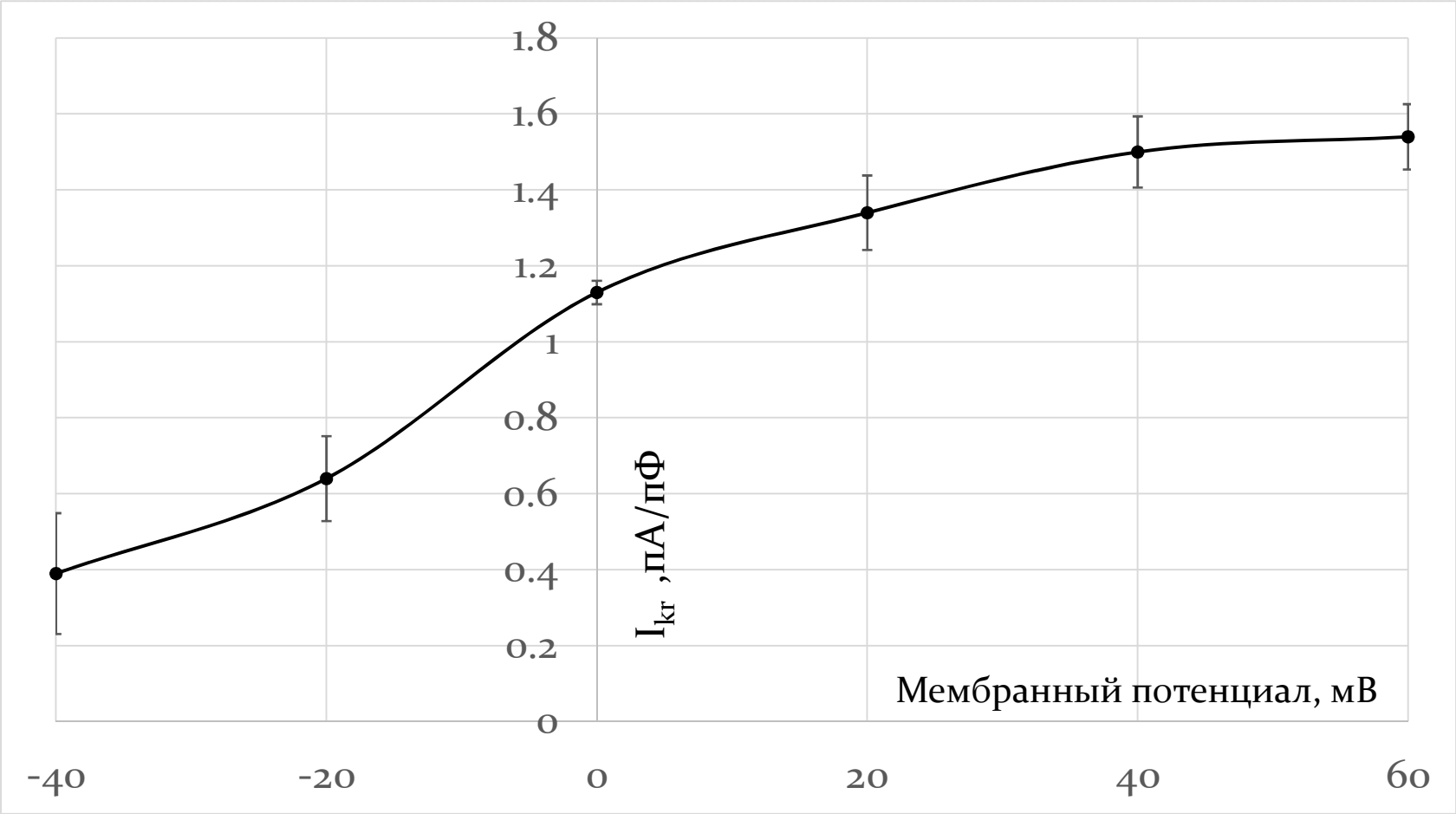
Оригинальная запись тока задержанного выпрямления I_{Kr} в предсердных кардиомиоцитах керчака



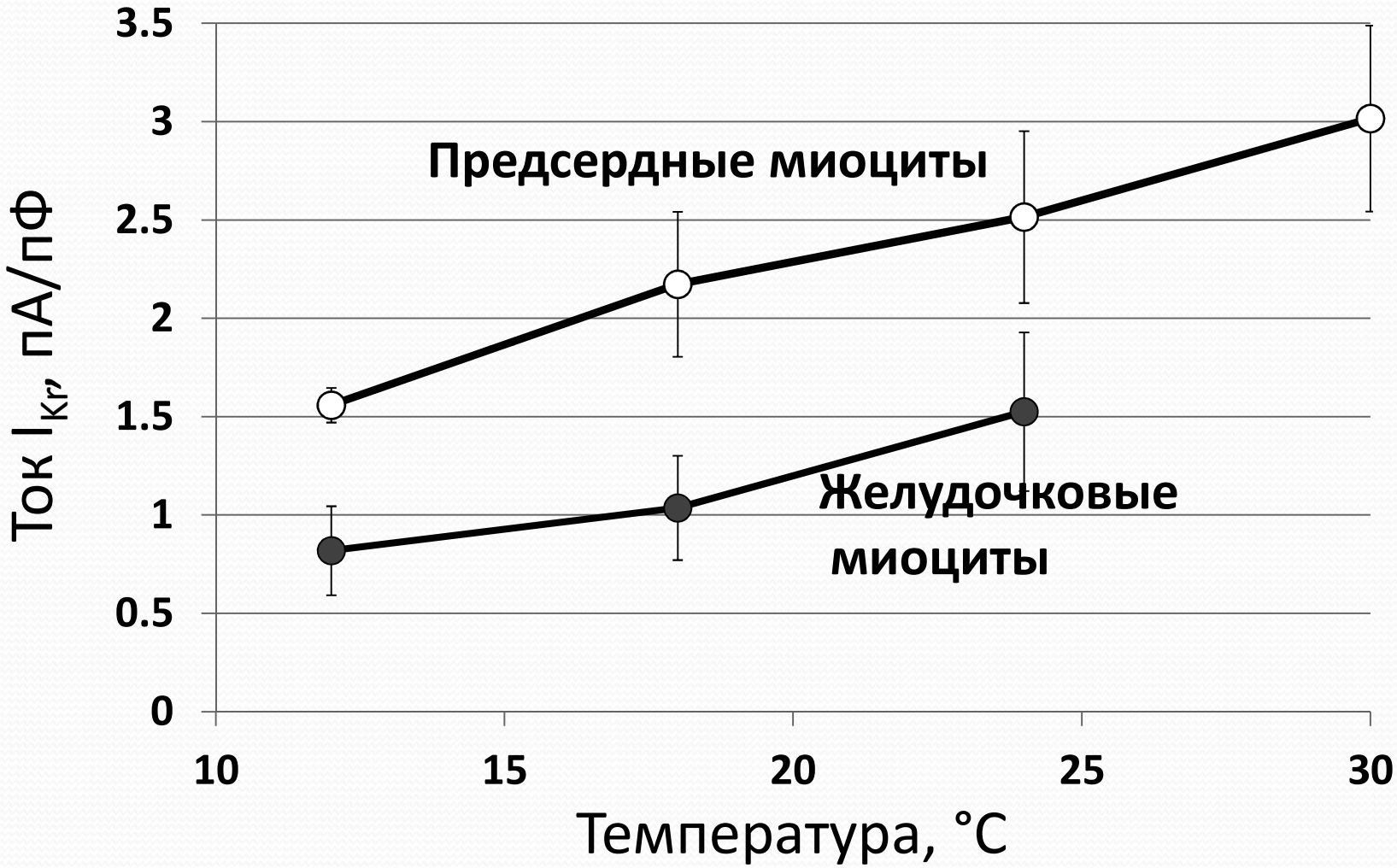


Протокол для регистрации I_{Kr}

Вольт-амперная кривая тока задержанного выпрямления I_{Kr} в предсердных кардиомиоцитах керчака



Температурная зависимость калиевого тока задержанного выпрямления I_{Kr} в желудочковых и предсердных миоцитах



Выводы

•Ток I_{Kr} линейно возрастает с увеличением температуры

• Выходящий ток I_{K1} уменьшается при повышении температуры до 24 С, при дальнейшем повышении температуры ток не изменяется

•Входящий ток I_{K1} увеличивается при повышении температуры до 24 С, при дальнейшем повышении температуры ток не изменяется