

ВЛИЯНИЕ NADP⁺ НА ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КАРДИОМИОЦИТОВ МЫШЕЙ C57BL/6 и mdx

© В. М. Михайлов,¹ Г. И. Мамаева²

¹ Институт цитологии РАН и ² Городская больница № 31, Санкт-Петербург;
электронный адрес: vmikhailov@mail.cytspb.rssi.ru

Изучено влияние NADP⁺ на электрофизиологическое состояние мембран клеток сердца мышей, главным образом кардиомиоцитов (КМЦ), при помощи метода электрокардиографии. Предварительные опыты на 2—3-месячных мышах обоего пола не обнаружили различий между параметрами электрокардиограмм (ЭКГ), записанных на скорости 50 мм/с, мутантных мышей mdx и их дикого аналога мышей C57BL/6. У мышей обеих линий и обоего пола наблюдали синусовый ритм сердечных сокращений. Аритмий не обнаружено. По сравнению с мышами C57BL/6 у мышей mdx отмечена тенденция к росту комплекса QRS. Частота сердечных сокращений (ЧСС) за 1 мин колебалась от 722 ± 22 до 681 ± 23. Был сделан вывод о том, что возможности количественного анализа параметров ЭКГ, записанных на скорости 50 мм/с, ограничены. Действие NADP⁺ изучали на мышах-самцах C57BL/6 и mdx 6-месячного возраста. Перед записью ЭКГ животных наркотизировали диэтиловым эфиром. ЭКГ записывали 3 раза: 1) перед внутривенной инъекцией NADP⁺ в дозе 13 или 80 мг на 1 кг массы животных, 2) через 10 мин после инъекции NADP⁺ и 3) через 1 ч после введения NADP⁺. ЭКГ записывали при скорости 100 мм/с в стандартных отведениях I, II и III и в однополярных отведениях AvR, AvL и AvF. На стандартном отведении II измеряли величины стандартных характеристик ЭКГ: зубца P, интервалов PQ, QT, RR и комплекса QRS в мс. У мышей C57BL/6 и mdx через 10 мин после внутримышечного введения NADP⁺ в дозе 80 мг/кг величина интервала RR возрастала по сравнению с исходной (при $P < 0.01$). При этом ЧСС уменьшалась у мышей C57BL/6 от 697 ± 21 до 461 ± 23, а у мышей mdx — от 722 ± 28 до 454 ± 31. Основной вклад в увеличение интервала RR вносил рост интервала QT. Через 1 ч после инъекции NADP⁺ интервал QT уменьшался. У мышей mdx этот процесс протекал быстрее, чем у мышей C57BL/6, и через 1 ч QT был меньше, чем через 10 мин после введения NADP⁺ ($P < 0.05$). NADP⁺ в дозе 13 мг/кг изменял параметры ЭКГ мышей mdx незначительно. ЭКГ мышей mdx также характеризуется отрицательной реполяризацией зубца T в 38 ± 9 % случаев у мышей 2—3-месячного возраста и в 44 ± 7 % случаев у мышей 6-месячного возраста во всех отведениях ЭКГ, кроме AvR. Через 1 ч после введения NADP⁺ доля отведений с отрицательной реполяризацией зубца T уменьшалась до 3 %. У мышей обеих линий NADP⁺ вызывает увеличение интервала RR и соответственно уменьшение частоты сердечных сокращений на 36—38 %. Основной вклад в увеличение RR вносит рост интервала QT на фоне незначительных изменений величин зубца P, интервала PQ и комплекса QRS, что позволяет предполагать, что мишенью действия НАДФ⁺ в первую очередь являются мембраны КМЦ желудочков.

Ключевые слова: мыши C57BL/6 и mdx, NADP⁺, ЭКГ, интервал QT, реполяризация зубца T.

Интерес к изучению сердца и кардиомиоцитов (КМЦ) мышей mdx обусловлен несколькими причинами. Мыши mdx являются экспериментальной моделью неизлечимой болезни Дюшенна человека. При этой болезни в сократительных тканях из-за нарушения синтеза полноразмерного белка дистрофина развивается окислительный стресс (ОС), вызывающий гибель мышечных волокон (Bornman et al., 1998; Tidball, Wehling-Henricks, 2007; Tsutsui et al., 2011). В сердце потеря КМЦ приводит к дилатационной кардиомиопатии и гибели пациентов в раннем и подростковом возрасте (Chun et al., 2012; Sanbe, 2013). В отличие от человека у мышей mdx дилатационная кардиомиопатия развивается во взрослом состоянии (Quinlan et al., 2004).

По нашим данным, одним из проявлений ОС в сердце у мышей mdx является постоянный распад ДНК клеток миокарда желудочков в виде образования фрагментов размером 65 т. п. н., не обнаруживаемых в ДНК конт-

рольных мышей C57BL/6 (Михайлов и др., 1998). В миокарде мышей mdx также описана эндонуклеазная активность по отношению к ДНК-активности и нарушена структура митохондрий (Михайлов и др., 2003; Chun et al., 2012). При помощи антител к гистону γ -H2AX было показано, что при нормальной жизни 5—10 % ядер КМЦ мышей mdx содержат двухнитевые разрывы (ДР) ДНК (Михайлов, Веженкова, 2007). Усиление ОС после термодинамического стресса (5-минутного плавления при 12 °С) вызывает в миокарде мышей mdx низкомолекулярный распад ДНК и гибель КМЦ (Казаков, Михайлов, 2001; Михайлов и др., 2001; Веженкова, Михайлов, 2008). Поиск сигналов и веществ, регулирующих выживание КМЦ мышей mdx в условиях постоянного повреждения ДНК является актуальной задачей.

В настоящее время сформировалось представление о том, что одним из основных регуляторов выживания кле-

ток после стресса является система пиридинового NAD⁺/NADH⁺ и NADP⁺/NADPH⁺ (Jing, 2008; Xia et al., 2009; Agleda et al., 2010; Oka et al., 2012). Исторически первой описанной функцией NAD⁺ и его восстановленного производного NADH⁺ в клетках является их участие как кофакторов в окислительно-восстановительных реакциях. Как субстрат NAD⁺ участвует в функционировании деацетилазы семейства генов Sir2, АДФ-рибозилировании белков и в образовании циклической АДФ-рибозы, участвующей в регуляции сигналов Ca²⁺ (Pollak et al., 2007a; Пестов, Шапаронов, 2009; Xia et al., 2009). Синтез поли-АДФ-рибозы из NAD⁺ происходит при участии семейства полимераз поли-АДФ-рибозилирования, в первую очередь изоэнзима PARP1 (D'Amours et al., 1999; Xia et al., 2009). Повреждение ДНК активирует поли-АДФ-рибозилирование белков хроматина при участии PARP и синтез поли-АДФ-рибозы. Падение пула NAD⁺ нарушает синтез АТФ, функционирование клеточных мембран и другие зависимые от NAD⁺ процессы, что в конечном счете вызывает гибель клеток (Berger, 1985; Xia et al., 2009).

Важнейшим регулятором окислительно-восстановительного баланса клеток является энергезависимая оксидаза NADPH⁺ (Gamaley, Klyubin, 1999). Пул NADPH⁺ в клетке поддерживается NAD-киназой через образование NADP⁺. NADP⁺ также имеет сигнальную функцию, выступая как регулятор K⁺/Na⁺- и Ca²⁺-каналов (Berger et al., 2004; Pollak et al., 2007a, 2007b; Agleda et al., 2010).

Исходя из постоянного образования в КМЦ мышей mdx двухнитевых разрывов ДНК можно допустить, что в КМЦ мышей mdx при обычном содержании животных в клетках имеется недостаточность NAD⁺ и его производных. Поэтому представляет интерес возможность использования экзогенного NAD⁺ и его метаболитов для восполнения потери NAD⁺ у мышей mdx. По данным Никифорова и соавторов (Nikiforov et al., 2011), в среде культивирования клеток экзогенный NAD⁺ распадается в межклеточном пространстве на нуклеозиды, которые проникают в цитоплазму и вторично формируют цитоплазматический и митохондриальный пулы NAD⁺. По нашим данным, NADP⁺, инъекцированный мышам C57BL/6 сразу после рентгеновского облучения, усиливает экспрессию γ -H2AX уже через 20 мин, что указывает как на усиление репарации ДР ДНК, так и на высокую скорость проникновения NADP⁺ в цитоплазму КМЦ (Фирсанов и др., 2011; Firsanov et al., 2012). Необходимо понимать, влияет ли экзогенный NADP⁺ на функционирование цитоплазматических мембран КМЦ мышей mdx.

В настоящем сообщении представлены данные о влиянии экзогенного NADP⁺ на электрофизиологическое состояние цитоплазматических мембран КМЦ мышей C57BL/6 и mdx с целью определения места приложения действия NADP⁺ на клетки сократительной системы сердца. Для решения задачи использовали метод электрокардиографии, позволяющий системно оценивать электрофизиологическое состояние плазматических мембран различных типов сократительных клеток сердца. Выбор метода для оценки влияния NADP⁺ на цитоплазматические мембраны КМЦ обусловлен тем, что, несмотря на сложность хода кривой электрокардиограммы (ЭКГ), изменения отдельных ее частей (зубцов Р и Т, интервалов PQ, QT, RR и комплекса QRS) позволяют количественно оценить изменения электрических параметров мембран клеток, которые отражают изменения потенциала действия клеток проводящей системы и КМЦ. Считается, что ЭКГ регистрирует усредненную электрическую актив-

ность мембран клеток проводящей системы и КМЦ и отражает изменения электрических потенциалов наружных мембран сократительных клеток сердца, но не сокращение миокарда (Смирнов, 2001; Антони, 2007).

Материал и методика

Эксперименты выполнены на мышах C57BL/6 (из питомника «Рапполово» РАН, Ленинградская обл.) и мышах mdx, содержащихся в виварии Института цитологии РАН (дар проф. В. С. Баранова, Научно-исследовательского института акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН, Санкт-Петербург). ЭКГ записывали под наркотическим действием диэтилового эфира. Животных наркотизировали при помощи маски. Для регистрации ЭКГ использовали аппарат ЭКГ-05-АСК (ЗАО «АСК», Санкт-Петербург). В предварительной серии экспериментов изучали ЭКГ, записанные на скорости 50 мм/с, у мышей C57BL/6 (14 животных) и mdx (15 животных) 2—3-месячного возраста обоего пола со средней массой 22.5 ± 1.0 г. По результатам исследования был сделан вывод о том, что возможности анализа ЭКГ, записанных на скорости 50 мм/с, ограничены. Для изучения влияния NADP⁺ на параметры ЭКГ использовали мышей-самцов 6-месячного возраста массой 31.3 ± 3 г. ЭКГ записывали до и после введения NADP⁺ (Гедеон Рихтер, Венгрия) в дозах 13 и 80 мг на 1 кг массы животного на скорости 100 мм/с минимум 3 раза. ЭКГ № 1 снимали через 3 мин после исчезновения у наркотизированной мыши глазных и болевых рефлексов. Затем наркотизированным мышам внутрибрюшинно вводили NADP⁺ в соответствующей дозе в физиологическом растворе. Через 10 мин после инъекции записывали ЭКГ № 2 и животных выводили из наркоза. Повторный наркоз давали через 45—50 мин и записывали ЭКГ № 3 через 60 мин после введения NADP⁺. В ряде случаев ЭКГ записывали через 5 мин после введения вещества.

ЭКГ записывали в стандартных отведениях I, II и III и в однополярных отведениях AvR, AvL и AvF. На записи отведения II определяли величину интервалов PQ, RR, комплекса QRS и зубца Р в мс. Значение интервала QT измеряли как расстояние от Q до окончания зубца Т, которое регистрировали как место контакта кривой QT с основанием зубца Р. По данным Митчелл и соавторов (Mitchell et al., 1998), трансгенные мыши характеризуются отрицательным зубцом Т, что позволяет по форме кривой легко определять место контакта кривой QT с основанием зубца Р. У мутантных мышей mdx отрицательная реполяризации зубца Т также позволяет регистрировать контакт кривой QT с основанием зубца Р (рис. 1, б). Частоту сердечных сокращений (ЧСС) считали в течение 1 мин. Реполяризацию зубца Т оценивали по степени отклонения кривой от изолинии ЭКГ во всех отведениях без учета AvR и выражали в % от общего количества записей отведений ЭКГ. Средние величины отдельных параметров ЭКГ оценивали при помощи критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Известно, что на показатели ЭКГ мышей значительное влияние оказывают линейная принадлежность животных, аппаратура, наркотические вещества, циркадные ритмы и т. д. У мышей линии C57BL/6 ЧСС варьирует в зависимости от использованного наркотизирующего ве-

Таблица 1

Значения параметров ЭКГ мышей C57BL/6 и mdx 6-месячного возраста после инъекции NADP⁺ в дозе 80 мг/кг

Параметры ЭКГ	Значения параметров ЭКГ, мс		
	до инъекции	после инъекции через	
		10 мин	60 мин
Мыши C57BL/6			
P	11 ± 2	12 ± 1	12 ± 1
PQ	38 ± 2	42 ± 2	46 ± 4
QT	48 ± 4	94 ± 9	78 ± 7
QRS	14 ± 2	17 ± 2	18 ± 3
RR	86 ± 3	136 ± 9	126 ± 7
ЧСС за 1 мин	697 ± 21	441 ± 23	476 ± 28
Мыши mdx			
P	11 ± 1	14 ± 3	14 ± 2
PQ	37 ± 2	40 ± 3	41 ± 3
QT	43 ± 6	95 ± 5 ^a	70 ± 6 ^a
QRS	17 ± 2	19 ± 3	20 ± 2
RR	83 ± 3	136 ± 6	114 ± 7
ЧСС за 1 мин	722 ± 28	441 ± 31 ^a	526 ± 29 ^a

^a Достоверность различий между значениями интервалов QT и ЧСС у мышей mdx через 10 и 60 мин после введения НАДФ(+) при $P < 0.05$.

щества (Mitchell et al., 1998; Wehrens et al., 2000). У мышей C57BL/6 и у родственных мутантных мышей mdx ЧСС и параметры других элементов ЭКГ, зарегистрированные в наших экспериментах под эфирным наркозом, совпадают с данными, полученными в экспериментах как на бодрствующих, так и на наркотизированных животных (Xing et al., 2009; Kaese, Verheule, 2012).

В предварительных экспериментах на 2–3-месячных мышях C57BL/6 и mdx (29 животных) обоюга пола установили, что количественный анализ параметров ЭКГ при скорости записи 50 мм/с затруднен. У молодых мышей обеих линий наблюдался синусовый ритм сердечных сокращений. Нарушений ритма сердечных сокращений

не было. ЧСС колебалась в диапазоне от 681 ± 21 до 722 ± 22 и имела тенденцию быть выше у самок mdx, чем у самцов mdx и мышей C57BL/6. У 38 % мышей mdx обоюга пола зарегистрировали отрицательную реполяризацию зубца Т.

Влияние НАДФ⁺ на ЭКГ изучено на 6-месячных мышях-самцах. У мышей-самцов C57BL/6 (6 животных) NADP⁺ уже через 10 мин после внутрибрюшинного введения в дозе 80 мг/кг увеличивал интервал RR (табл. 1). При этом ЧСС уменьшалась от 697 ± 21 до 441 ± 23 и 491 ± 28 по данным ЭКГ, записанным через 10 мин и через 1 ч после введения NADP⁺ соответственно. Величина интервала PQ, отражающего электрическую проводи-

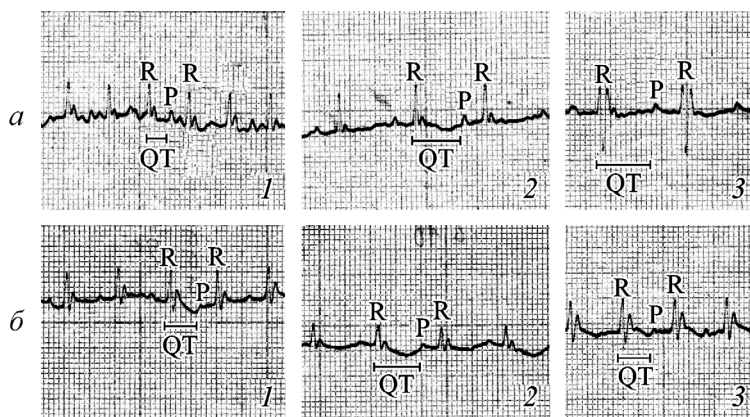


Рис. 1. ЭКГ мышей C57BL/6 (а) и mdx (б) до введения NADP⁺ (1), через 10 (2) и 60 (3) мин после введения NADP⁺ в дозе 80 мг/кг. Здесь и на других рисунках указаны зубец R как часть комплекса QRS, зубец P и интервал QT. У мышей mdx через 10 и 60 мин после введения NADP⁺ сохраняется отрицательная реполяризация зубца Т, ограничивая окончание интервала QT перед основанием зубца P (б, 2 и 3). Скорость записи ЭКГ 100 мм/с.

Таблица 2

Исправление реполяризации зубца Т отведений ЭКГ мышей mdx после введения НАДФ в дозе 80 мг/кг

Реполяризация зубца Т	Доля отведений ЭКГ, %		
	до введения (n = 50)	60 мин после введения в дозе	
		13 мг/кг (n = 20)	80 мг/кг (n = 30)
Отрицательная	44.0 ± 7.0	30.0 ± 10.0	3.3 ± 3.3
Нарушенная	52.4 ± 7.1	50.0 ± 11.0	63.3 ± 8.9
Положительная	4.0 ± 2.8	20.0 ± 9.0	33.3 ± 8.7

Примечание. В скобках указано общее количество отведений ЭКГ без AvR.

мость атриовентрикулярного узла и волокон Пуркинье, возрастала незначительно. Величина зубца Р, отражающего возбуждение и реполяризацию предсердий, не изменялась. В увеличение интервала RR основную долю вносил рост интервала QT, отражающего возбуждение (сокращение), т. е. систолу и реполяризацию желудочков. Интервал QT возрастал от 48 ± 4 до 94 ± 9 и 78 ± 7 мс через 10 и 60 мин после введения NADP⁺ соответственно. Комплекс QRS как часть интервала QT, отражающего распространение возбуждения желудочков, увеличивался незначительно (табл. 1; рис. 1).

У мышей mdx (8 животных) введение NADP⁺ в дозе 80 мг/кг также не нарушало синусового ритма сердечных сокращений и не вызывало аритмий (табл. 2). После инъекции NADP⁺ интервал RR увеличивался, а ЧСС уменьшалась от 722 ± 28 до 441 ± 31 и 526 ± 29 через 10 мин и 60 мин соответственно. Интервал PQ возрастал незначительно, величина зубца Р не изменялась, величина комплекса QRS увеличивалась незначительно. При этом рост величины комплекса QRS мышей mdx был более выражен, чем у мышей C57BL/6, и введение NADP⁺ не изменяло этой тенденции. Эта особенность ЭКГ мышей mdx по сравнению с ЭКГ мышей C57BL/6 описана ранее (Koenig et al., 2011). Через 10 мин после введения NADP⁺ интервал QT увеличивался от 43 ± 6 до 95 ± 5 мс. Через 60 мин величина QT уменьшалась. Уменьшение интервала QT было более выражено у мышей mdx, чем у мышей C57BL/6, так что через 60 мин уменьшение величины QT до 70 ± 6 мс становилось статистически значимым

($P < 0.05$; табл. 1; рис. 2). Быстрое уменьшение QT в случае мышей mdx можно объяснить более интенсивным потреблением NADP⁺ в мутантном организме при ОС по сравнению с организмом дикого типа.

До введения NADP⁺ у $44.7 \pm 7\%$ всех отведений ЭКГ мышей mdx 6-месячного возраста (кроме отведения AvR) отмечена отрицательная реполяризация зубца Т. Через 1 ч после введения NADP⁺ (80 мг/кг) увеличивалась доля отведений с положительной реполяризацией от 4 до 33% у мышей mdx (табл. 2). При этом доля отведений с невыраженными признаками реполяризации составляла $52 \pm 7\%$. NADP⁺ в дозе 13 мг/кг не влиял на уровни нарушения реполяризации зубца Т (табл. 2). Обращает на себя внимание факт, что увеличение интервала QT через 10 мин после введения NADP⁺ происходило на фоне отрицательной реполяризации зубца Т (рис. 1). Через 1 ч после введения NADP⁺ положительная реполяризация зубца Т обнаруживается на фоне уменьшения интервала QT, что предполагает действия NADP⁺ на интервал QT и на реполяризацию зубца Т (рис. 2).

NADP⁺ в дозе 13 мг/кг не изменял параметров ЭКГ мышей mdx. Таким образом, у мышей C57BL/6 и mdx NADP⁺ в дозе 80 мг/кг увеличивал интервал QT через 10 мин после введения. Эффект зависел от дозы. Как известно, интервал QT называют электрической систолой, так как по времени интервал QT почти совпадает с механической систолой желудочков и включает в себя комплекс QRS, отражающий распространение возбуждения желудочков, а также сегмент ST, отражающий систо-

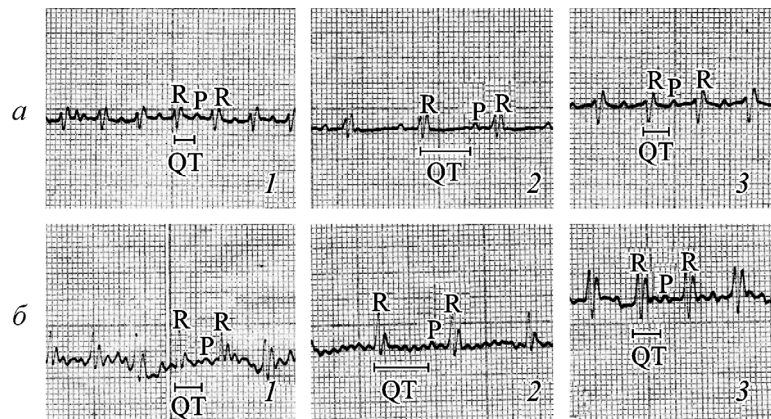


Рис. 2. Сравнение отведений I (а) и II (б) ЭКГ мышей mdx до введения (1), через 10 (2) и 60 (3) мин после введения NADP⁺ в дозе 80 мг/мл.

Переход отрицательной реполяризации зубца Т в положительную реполяризацию (б, 2, 3). Скорость записи ЭКГ 100 мм/с.

лу желудочков, образуя плато потенциала действия желудочков и зубец Т. Зубец Т отражает реполяризацию желудочков (Смирнов, 2001; Антони, 2007; Kaese, Verheule, 2012). Если у мышей обеих линий из величин интервала QT через 10 мин после введения $NADP^+$ вычсть размер комплекса QRS, то доля сегмента ST и зубца Т интервала QT у мышей C57BL/6 возрастает от 72 до 82 %, а у мышей mdx — от 60 до 80 %. Через 1 ч доля сегмента ST и зубца Т у мышей C57BL/6 уменьшается от 82 до 77 %, а у мышей mdx — от 80 до 71 % без изменения абсолютной величины комплекса QRS. При этом величины зубца Р и интервала PQ (электрическая диастола желудочков) также не изменяются. Этот результат говорит о том, что наружные мембраны КМЦ желудочков являются основным местом приложения действия $NADP^+$. Имеющиеся данные не дают возможности определить отдельный вклад сегмента ST и зубца Т в рост интервала QT. Трудность оценки изменений интервала ST и зубца Т у мышей происходит из-за постепенности появления и исчезновения кривой реполяризации по сравнению с четкой кривой реполяризации зубца Т в ЭКГ человека (Kaese, Verheule, 2012).

При отдельных замерах ЭКГ отмечается увеличение интервала QT уже через 5 мин после внутрибрюшинного введения $NADP^+$, что поддерживает предположение о прямом влиянии $NADP^+$ на КМЦ миокарда.

Уменьшение частоты сердечных сокращений у мышей обеих линий после инъекции $NADP^+$ напоминает действие на сердце β -адреноблокаторов. На примере дилатационной кардиомиопатии мышей, вызванной мутацией тропонина, β -адреноблокаторы (карведилол, метопролол и атенолол) уменьшали частоту ЧСС на 30—35 % (Zhan et al., 2009). В наших экспериментах $NADP^+$ уменьшал ЧСС на 36.7 % у мышей C57BL/6 и на 38.9 % у мышей mdx (табл. 1). В настоящее время β -адреноблокаторы рекомендованы для лечения кардиомиопатии при болезни Дюшенна (Fayssol et al., 2010).

Из сопоставления результатов с данными других авторов можно предполагать, что удлинение интервала QT связано с влиянием $NADP^+$ на K^+/Na^+ -каналы КМЦ. У человека описан синдром стойкого удлинения интервала QT, ассоциированный с неожиданной сердечной смертью (Yan et al., 1998). В основе синдрома стойкого удлинения QT лежат мутации генов, контролирующих K^+/Na^+ -каналы КМЦ (Wang et al., 1998). Экспериментальные данные также свидетельствуют о том, что мишенью для $NADP^+$ являются K^+/Na^+ - и Ca^{2+} -каналы мембран КМЦ. Пиримидиновые нуклеотиды модифицируют активность АТФ-зависимых K^+/Na^+ -каналов наружных мембран КМЦ, а также и внутриклеточных Ca^{2+} -каналов в экспериментах in vitro (Berger et al., 2004; Pollak et al., 2007a, 2007b; Agleda et al., 2010; Graciotti et al., 2011; Kilfoil et al., 2013). Влияние $NADP^+$ на величину интервала QT и соответственно ЧСС, возможно, осуществляется через действие производного NAD^+ — NAADP, которое является одним из регуляторов уровня Ca^{2+} в кардиомиоцитах (Macgregor et al., 2007).

Известно, что нарушение реполяризации зубца Т у человека, крайним проявлением которого является отрицательный зубец Т, происходит при гипоксии, возникающей после инфаркта миокарда, при гипертрофии миокарда, при кардиомиопатиях, атеросклерозе и других нарушениях кровоснабжения миокарда, сопровождающихся развитием ОС (Смирнов, 2001; Антони, 2007).

Представленные данные показывают, что у мышей mdx при отсутствии дистрофина в КМЦ и развитии ОС

также возникают нарушения реполяризации зубца Т. Можно допустить, что исправление реполяризации зубца Т у мышей mdx под действием $NADP^+$ объясняется уменьшением ОС, свойственного сократительным клеткам мышей mdx. Можно предполагать, что, воздействуя на K^+/Na^+ -каналы КМЦ и, возможно, кальциевые каналы цитоплазматических мембран КМЦ, $NADP^+$ удлиняет интервал QT и уменьшает ЧСС как у нормальных, так и мутантных мышей, способствуя, как и в случае β -адреноблокаторов, более полному восстановлению энергетики КМЦ после систолы сердца.

Список литературы

- Антони Г. 2007. Функции сердца. В кн.: Физиология человека. М.: Мир. 2 : 454—497.
- Веженкова И. В., Михайлов В. М. 2008. Выживание кардиомиоцитов и репарация ДНК мышей C57BL/6 и mdx после динамического стресса. Цитология. 50 (4) : 287—292.
- Казаков В. И., Михайлов В. М. 2001. Фрагментация ДНК кардиомиоцитов мышей mdx. Цитология. 43 (1) : 72—75.
- Михайлов В. М., Веженкова И. В. 2007. Двухнитевые разрывы ДНК кардиомиоцитов мышей C57BL/6 и mdx. Цитология. 49 (6) : 491—496.
- Михайлов В. М., Казаков В. И., Комаров С. А., Нилова В. К., Штейн Г. И., Баранов В. С. 1998. Апоптоз и деградация ДНК кардиомиоцитов мышей mdx и C57BL. Цитология. 40 (5) : 401—406.
- Михайлов В. М., Комаров С. А., Нилова В. К., Штейн Г. И., Баранов В. С. 2001. Ультраструктурный и морфометрический анализ стадий апоптоза кардиомиоцитов мышей mdx. Цитология. 43 (8) : 729—737.
- Пестов И. Б., Шахпаронов М. И. 2009. Влияние делеции гена H^+ транспортирующей $NAD^+/NADP^+$ -трансгидрогеназы на продолжительность жизни нематод и млекопитающих. Биоорганическая химия. 35(5) : 681—685.
- Смирнов В. М. 2001. Сердечно-сосудистая система. В кн.: Физиология человека. М.: Медицина. 271—326.
- Фирсанов Д. В., Кропотов А. В., Михайлов В. М. 2011. НАДФ увеличивает уровень фосфорилирования гистона H2AX в сердце мышей после рентгеновского облучения. Цитология. 53 (4) : 355—358.
- Agleda L., Niere M., Ziegler M. 2010. The phosphate makes a difference: cellular functions of NADP. Redox Rep. 15 : 2—10.
- Berger F., Ramirez-Hernández M. H., Ziegler M. 2004. The new life of centenarian: signalling functions of NAD(P). Trends Biochem. Sci. 29 : 111—118.
- Berger N. A. 1985. Poly(ADP-ribose) in the cellular response to DNA damage. Radiat. Res. 101 : 4—15.
- Bornman L., Rossouw H., Gericke G. S., Polla B. S. 1998. Effect of iron deprivation on the pathology and stress protein expression in murine x-linked muscular dystrophy. Biochem. Pharmacol. 56 : 751—757.
- Chun J. L., O'Brien R., Berry S. E. 2012. Cardiac dysfunction and pathology in the dystrophin and utrophin-deficient mouse during development of dilated cardiomyopathy. Neuromuscul. Disord. 22 : 368—379.
- D'Amours D., Desnoyers S., D'Silva I., Poirier G. G. 1999. Poly(ADP-ribosylation) reactions in the regulations of nuclear functions. Biochem J. 342 : 249—268.
- Danik S. B., Liu F., Zhang J., Suk J., Morley G. E., Fishman G. I., Gutstein D. E. 2004. Modulation of cardiac gap junction expression and arrhythmic susceptibility. Circ. Res. 95 : 1035—1041.
- Fayssol A., Nardi O., Orlikowski D. 2010. Cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy: pathogenesis and therapeutics. Heart Fail Rev. 15 : 103—107.
- Firсанов Д., Васильшина А., Кропотов А., Михайлов В. 2012. Dynamics of γ H2AX formation and elimination in mammalian cells after X-irradiation. Biochimie. 94 : 2416—2422.

- Gamaley I. A., Klyubin I. V. 1999. Roles of reactive oxygen species: signaling and repair of cellular function. *Inter. Rev. Cytol.* 188 : 203—255.
- Graciotti L., Becker J., Granata A. L., Procopio A. D., Tesarollo L., Fulgenzi G. 2011. Dystrophin is required for normal function of the cardio-protective K(ATP) channel in cardiomyocytes. *PLoS ONE.* 6 : e27034, doi: 10.1371/journal.pone.0027034.
- Jing W. 2008. NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences. *Antioxid. Redox Signal.* 10 : 179—206.
- Kaese S., Verheule S. 2012. Cardiac electrophysiology in mice: a matter of size. *Front. physiol.* doi: 10.3389/fphys.2012/00354.
- Kilfoil P. J., Tipparaju S. M., Barski O. A., Bhatnagar A. 2013. Regulation of ion channels by pyridine nucleotides. *Circ. Res.* 112 : 721—741.
- Koenig X., Dysek S., Kimbacher S., Mike A. K., Cervenka R., Lukacs P., Nagi K., Dang X. B., Todt H., Bittner R. E., Hilber K. 2011. Voltage-gated ion channels dysfunction precedes cardiomyopathy development in the dystrophic heart. *PLoS ONE.* 6 : e20300, doi: 10.1371/journal.pone.0020300.
- Macgregor A., Yamasaki M., Rakobic S., Sanders L., Parkesh R., Churchill G. C., Galione A., Terrar D. A. 2007. NAADP controls cross-talk between distinct Ca²⁺ stores in the heart. *J. Biol. Chem.* 282 : 15 302—15 311.
- Mitchell G. F., Jeron A., Koren G. 1998. Measurement of heart rate and Q-T interval in the conscious mouse. *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 274 : H747—H751.
- Nikiforov A., Dölle C., Niere M., Ziegler M. 2011. Pathways and subcellular compartmentation of NAD biosynthesis in human cells. From entry of extracellular precursors to mitochondrial NAD generation. *J. Biol. Chem.* 286 : 21 767—21 778.
- Oka S., Hsu C. P., Sadoshima J. 2012. Regulation of cell survival and death by pyridine nucleotides. *Circ. Res.* 111 : 611—627.
- Pollak N., Dölle C., Ziegler M. 2007a. The power to reduce: pyridine nucleotides — small molecules with a multitude functions. *Biochem J.* 402 : 205—218.
- Pollak N., Niere M., Ziegler M. 2007b. NAD kinase levels control the NADPH concentration in human cells. *J. Biol. Chem.* 282 : 33 562—33 571.
- Quinlan J. G., Hahn Y. S., Wong B. L., Lorenz J. N., Wernisch A. S., Levin L. S. 2004. Evolution of the mdx mouse cardiomyopathy: physiology and morphological findings. *Neuromuscul. Disord.* 14 : 491—496.
- Sanbe A. 2013. Dilated cardiomyopathy: a disease of the myocardium. *Biol. Pharm. Bull.* 36 : 18—22.
- Tidball J. G., Wehling-Henricks M. 2007. The role of free radicals in the pathophysiology of muscular dystrophy. *J. Appl. Physiol.* 102 : 1677—1687.
- Tsutsui H., Kinugava S., Matsushima S. 2011. Oxidative stress and heat failure. *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 301 : H181—H190.
- Wang Q., Bowles N. E., Towbin J. A. 1998. The molecular basis of long QT syndrome and prospects for therapy. *Mol. Med. Today.* 4 : 382—388.
- Wehrens X. H. T., Kirchhoff S., Doevendas P. A. 2000. Mouse electrocardiography: an interval of thirty years. *Cardiovas. Res.* 45 : 231—237.
- Xia W., Wang Z., Wang Q., Han J., Zhao L., Hong Y., Zeng L., Tang L., Ying W. 2009. Roles of NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in cell death. *Curr. Pharmacol. Design.* 15 : 12—19.
- Xing S., Tsaih S.-W., Yuan R., Svenson K. L., Jorgenson L. M., So M., Paigen B. J., Korstajic R. 2009. Genetic influence on electrocardiogram time intervals and heart rate in aging mice. *Amer. J. Heart Circ. Physiol.* 296 : H1907—H1910.
- Yan G.-X. 1998. Cellular basis for normal T wave and the electrocardiographic manifestation of the long QT syndrome. *Circulation.* 98 : 1928—1936.
- Zhan D.-Y., Morimoto S., Du C.-K., Wang Y.-Y., Lu Q.-W., Tanaka A., Ide T., Miwa Y., Tahashi-Tanaga F., Sasaguri T. 2009. Therapeutic effect of β -adrenoreceptors blockers using a mouse model of dilated cardiomyopathy with a troponin mutation. *Cardiovas. Res.* 84 : 64—71.

Поступила 1 VIII 2013

NADP⁺ INFLUENCE FOR ELECTROPHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF CARDIOMYOCYTES OF C57BL/6 AND MDX MICE

V. M. Mikhailov,¹ G. I. Mamaeva²

¹ Institute of Cytology RAS and ² City Hospital N 31, St. Petersburg; e-mail: vmikhailov@mail.cytspb.rssi.ru

We have studied the influence of NADP⁺ on routine ECG in 6 months old C57BL/6 and *mdx* mice. The animals were anesthetized by ether before ECG recording. ECG registration was made with the speed of 100 mm per sec. The first ECG recording was made before intraperitoneal NADP⁺ injection in a dose of 13 or 80 mg/kg. The second ECG recording was made in 10 min after NADP⁺ injection. Then anesthesia was cut off. The mice were occasionally anesthetized 45—60 min later and the third ECG was recorded in 1 h after injection of NADP⁺. ECG recording was made at a speed of 100 mm/s in the standard leads I, II and III and in the unipolar leads AvR, AvL and AvF. Values of standard ECG characteristics such as the P wave, intervals PQ, QT, RR, and QRS complex in milliseconds were measured in standard lead II. We did not observe any differences between ECG magnitudes of 2—3 months old C57BL/6 and *mdx* mice during trial experiments. Mice of both lines had sinus rhythm of heart rate. QRS complex in *mdx* mice had a tendency to be larger compared with that in C57BL/6 mice. Heart rates fluctuated between 722 ± 22 and 681 ± 23 beats per minute. NADP⁺ influences was studied in 6 months old mice male. The increase in the RR interval and decreased heart rate from 697 ± 2 to 461 ± 23 and 491 ± 28 beats per min for C57BL/6 mice ($P < 0.01$) and from 722 ± 28 beats per minute to 454 ± 31 beats per min for *mdx* mice were registered in 10 min after NADP⁺ injection in a dose of 80 mg/kg. The increase in the RR interval can be explained by an increase in the interval QT. A statistically significant reduction in the QT interval leading to a decrease in the RR interval was observed in *mdx* mice in 1 h after NADP⁺ injection. NADP⁺ in a dose 13 mg/kg did not change *mdx* mice ECG properties significantly. ECG of *mdx* mice were characterized by negative repolarization of T wave in 37 % between all leads. A deal of leads with the negative T wave repolarization decreased up to 3 % in 1 h after NADP⁺ injection in a dose of 80 mg/kg. The results have shown that cytomembranes of ventricular cardiac myocyte and the degree of oxidative stress are the main touches of NADP⁺ influence in the cases of C57BL/6 and *mdx* mice hearts.

Key words: C57BL/6 and *mdx* mice, cardiomyopathy, ECG, interval QT, NADP⁺, T wave repolarization.