



Капелько В. И.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России, Москва, Россия

Почему расслабление миокарда всегда замедляется при патологии сердца?

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, сердце, диастола, расслабление, кальциевый транспорт, титин.

Ссылка для цитирования: Капелько В.И. Почему расслабление миокарда всегда замедляется при патологии сердца? Кардиология. 2019;59(12):44–51.

Резюме

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) в большинстве случаев обусловлена снижением сократимости миокарда. Это, в частности, проявляется снижением максимальной скорости развития давления в левом желудочке. Одновременно снижается скорость снижения давления при расслаблении. Это обусловлено тем, что оба параметра зависят от концентрации Ca²+ в миоплазме. Однако при большинстве патологий сердца расслабление миокарда нарушается в большей степени, чем сокращение. В обзоре выдвинуто новое представление, согласно которому этот феномен обусловлен изменением структуры титина – саркомерного белка, соединяющего концы миозиновых нитей с концами саркомеров – линиями Z. Пружиноподобная структура молекулы титина сжимается при сокращении саркомеров и распрямляется при удалении Ca²+ из миофибрилл. Снижение ее упругости, направленное на облегчение наполнения левого желудочка, может снижать распрямляющую силу и тем самым – скорость расслабления. В обзоре приведены сведения о функции системы кальциевого транспорта и титина в норме и при ХСН, полученные на экспериментальных моделях и у пациентов.

Kapelko V. I.

National Medical Research Center for Cardiology, Moscow, Russia

WHY MYOCARDIAL RELAXATION ALWAYS SLOWS AT CARDIAC PATHOLOGY?

Keywords: chronic heart failure; heart; diastole; relaxation; calcium transport; titin.

For citation: Kapelko V. I. Why myocardial relaxation always slows at cardiac pathology? Kardiologiia. 2019;59(12):44-51.

SUMMARY

Chronic heart failure (CHF) in most cases caused by decreased myocardial contractility. This, in particular, is manifested by a decrease in the maximum rate of pressure rise in the left ventricle. At the same time, the rate of pressure fall at relaxation is also reduced. This is due to the fact that both parameters depend on the Ca²⁺ concentration in the myoplasma. However, in most heart pathologies, myocardial relaxation is impaired to a greater extent than contraction. The review put forward a new view that this phenomenon is caused by a change in the structure of titin, the sarcomer protein, that connects the ends of myosin filaments to the ends of sarcomers, the Z lines. Spring-like structure of titin molecule is compressed when sarcomers contract and straightened when Ca²⁺ is removed from myofibrils. Reducing its stiffness, aimed to facilitating left ventricular filling, can reduce the straightening force and thus – the rate of the relaxation. The review provides information on the function of calcium transport system and titin in the normal heart and in CHF, obtained on experimental models and in patients.

Information about the corresponding author: Kapelko Valery I. – MD, professor. E-mail: valk69@yandex.ru

Пижение сократительной способности миокарда лежит в основе большинства видов патологии сердца – от клапанных пороков до инфаркта миокарда (ИМ). Причины ее в каждом случае могут быть различными, но общим признаком является обязательное замедление расслабления. Это было обнаружено давно – в экспериментах при гипертрофии сердца [1] или ИМ [2], а затем у больных с гипертрофией [3], ишемической болезнью сердца (ИБС) [4], дилатационной кардиомиопатией [5, 6], митральным стенозом [6] и в дальнейшем

неоднократно подтверждено. Значение этих изменений для сократительной функции сердца рассмотрено в обзоре [7]. Неполное расслабление, особенно в его конечной фазе, совпадающей с моментом открытия атриовентрикулярных клапанов, повышает начальное диастолическое давление и ухудшает наполнение желудочка, а это, в свою очередь, влияет на систолу желудочка. Для поддержания прежнего минутного объема компенсаторно повышается давление в малом круге кровообращения.



В естественных условиях расслабление должно всегда соответствовать сокращению, так как оба процесса вызываются повышением концентрации Ca^{2+} в миоплазме, и ее изменения в равной степени активируют оба процесса. На этой основе для оценки качества процесса расслабления был предложен «индекс расслабления», рассчитываемый делением максимальной скорости снижения давления в левом желудочке (Λ Ж) на величину развиваемого давления [1]. Однако выявились ограничения. При повышении давления в Λ Ж у крыс до величин, близких к максимальным, связь между процессами ослаблялась — индекс расслабления снижался [1]. Аналогичный результат наблюдали при изучении связи на сердце собаки — линейная связь сохранялась до уровня 82% от максимального [8].

Внимательное изучение степени изменений сократимости и расслабимости миокарда позволило установить, что при патологии сердца расслабление снижается даже в большей степени, чем сокращение. Это показано при гипертрофии сердца крыс и кроликов [1], экспериментальном ИМ [2], катетеризации сердец пациентов с ИБС даже в случае сохраненной фракции изгнания [6], наконец, при действии метаболического ингибитора амитала на изолированное сердце [9]. Преимущественное замедление расслабления при нарушении окислительного фосфорилирования выглядит странным, ведь примерно 80% всей энергии, расходуемой в кардиоцикле, приходится на долю систолы.

В дальнейшем было обнаружено, что расслабление реагирует сильнее, чем сокращение, на действие катехоламинов, повышенной концентрации Ca²⁺ в перфузате, повышенной частоты сокращений [10]. Эти данные позволили сделать вывод, что процесс расслабления более чувствительный, чем процесс сокращения, к действию факторов внешней среды, и его изменения могут повлечь изменения сократимости миокарда [11]. Следовательно, при основных заболеваниях системы кровообращения замедление расслабления может служить надежным индикатором начинающегося патологического процесса.

Расслабление миокарда представляет собой сложный процесс, во время которого сокращенные миофибриллы возвращаются в исходное положение, происходит удлинение ранее укороченных саркомеров. В процессе расслабления выделяют два компонента – активное и пассивное расслабление. Активным считается процесс, проходящий с затратой энергии, а именно – поглощение ионов Са²⁺, активировавших акт сокращения в миофибриллах, в структуры саркоплазматического ретикулума (СР). Энергия расходуется на транспорт ионов против концентрационного градиента. Пассивный компонент реализуется с участием саркомерного белка титина. Далее будут рассмотрены механизмы обоих компонентов.

Активный компонент расслабления

Сократительная функция кардиомиоцитов обеспечивается фактически взаимодействием трех клеточных систем - системой ионного транспорта, сократительного аппарата и митохондриями, поставляющими энергию для этих систем. Это представление было выдвинуто давно [11] и послужило основой для плодотворного изучения их взаимодействия. Стремительный прогресс в этой области был достигнут в 70-х годах прошлого столетия благодаря трудам биохимиков (A. Katz, A. Fabiato и F. Fabiato) и физиологов (G. Langer). Было выяснено, что индуцированное возбуждением повышение уровня Са²⁺ в кардиомиоцитах и их сокращение завершаются расслаблением главным образом благодаря активности Са²⁺АТФазы SERCA2a, обеспечивающей поглощение Ca^{2+} в СР. Накопленный в ретикулуме Ca^{2+} служит активатором миофибрилл при следующем возбуждении.

Система ионного транспорта - ионные каналы сарколеммы и CP – поставляет ионы Ca²⁺ главным образом в миофибриллы, где они активируют сокращение и затем удаляются в структуры СР, в результате возникает расслабление. В связи с тем, что связывающими кальций белками являются и тропонин C, и SERCA2a, возникает вполне естественный вопрос: почему Ca^{2+} не поглощается сразу в структуры СР без связывания с тропонином С и без вызывания сокращения? Сравнение чувствительности тропонина и кальциевой АТФазы к кальцию показало, что чувствительность транспортной кальциевой АТФазы значительно выше [11], поэтому, казалось бы, она должна поглощать Ca^{2+} в первую очередь, и сокращение в принципе может не развиваться. Наиболее естественно предполагать, что количество мест связывания Са²⁺ на СР значительно меньше, чем на тропонине в миофибриллах. Поэтому, несмотря на то что тропонин С связывает Са²⁺ с меньшим сродством, он, тем не менее, при наличии большого количества кальция в миоплазме связывает больше кальция, а затем постепенно отдает, потому что сродство к кальцию у него ниже, чем у СР. Обязательная смена сокращения расслаблением является уникальным свойством сердечной мышцы.

Выход Са²⁺ из СР осуществляется при открытии воротного белка RyR2, называемого также рианодиновым рецептором из-за высокого сродства к алкалоиду рианодину. Связывание рианодина с RyR2 необратимо открывает канал выхода, и весь свободный Са²⁺ выходит в цитоплазму, что используется в экспериментах на изолированных препаратах СР. Катионы Са²⁺ удерживаются в СР благодаря наличию большого количества кислого белка кальсеквестрина. В естественных условиях выход Са²⁺ из СР осуществляется под влиянием порции Са²⁺, входящей через так называемые медленные кальциевые каналы в кардиомиоциты. Вход этой порции Са²⁺ обеспечивает фазу плато потенциала действия. Неконтролируемое



высвобождение Ca^{2+} , например под влиянием кофеина, создает основу для возникновения аритмий.

Наряду с СР Са²⁺ из миоплазмы удаляется наружу благодаря деятельности Na⁺/Ca²⁺-обменника NCX. Этот процесс не является энергозатратным и осуществляется за счет высокого концентрационного градиента Na+. Повышение концентрации Ca²⁺ в цитоплазме при нормальном градиенте для Na+ стимулирует вход 2 катионов Na⁺ в обмен на вывод Ca²⁺, а излишний Na⁺ удаляется через Na^+/K^+ -AT Φ азу сарколеммы. Система также может транспортировать эти катионы через сарколемму в обоих направлениях, например, при повышенном уровне Na⁺ в саркоплазме при ингибировании функции Na^+/K^+ -АТФазы сердечными гликозидами ионы Ca^{2+} входят извне. Расчеты показывают, что 70% всего саркоплазматического Ca²⁺ удаляется в CP, около 2% – в митохондрии и остальная часть – наружу [11]. Концентрация Ca^{2+} в цитоплазме – около 0,1 мкМ, в то время как его концентрация внутри СР близка к наружной – 2–3 мМ.

Очевидно, что система ионного транспорта не может бесконтрольно повышать уровень Са²⁺ в миоплазме, а это чревато активацией лизосом и гибелью клетки. Должно быть обеспечено надежное удаление Ca²⁺ в CP, требующее затрат АТФ. Поэтому выделение Са²⁺ в миоплазму находится под постоянным контролем митохондрий. Часть ионов Ca^{2+} попадает в митохондрии, где Ca^{2+} выступает в роли активатора некоторых ключевых ферментов цикла трикарбоновых кислот (Кребса) [12]. В результате повышение содержания Са²⁺ в миоплазме не только усиливает сокращение миофибрилл, но одновременно ускоряет синтез АТФ. Однако, если по каким-то причинам митохондрии не смогут поставлять нужное количество АТФ для сокращения-расслабления, возникает опасность нерегулируемого повышения уровня Ca²⁺ в цитоплазме, и это делает необходимым постоянный контроль со стороны митохондрий.

Тетрамер RyR2 находится также под контролем различных киназ и фосфатаз, а также кальциевых белков — кальмодулина, кальмодулиновой киназы CaMKII, фосфоламбана, кальцинейрина. Через эти белки, в частности, осуществляется активация кальциевого транспорта со стороны симпатической части вегетативной нервной системы. Все эти белки связываются с RyR2 с цитозольной стороны, а изнутри канал находится под контролем триадина и джанктина. Простое перечисление этих белков показывает, насколько сложна регуляция выхода Ca^{2+} из CP. Это вполне оправдано, потому что бесконтрольный выход Ca^{2+} чреват либо возникновением аритмий, либо гибелью клетки.

Анализ современных данных позволяет предполагать, что такой контроль осуществляется посредством выделения супероксида, обязательно образующегося

при прохождении молекул кислорода по электроннотранспортной цепи митохондрий. Митохондрии занимают пространство от одного RyR2 до другого и окружены продольными канальцами CP [13]. Расстояние между мембранами этих структур составляет всего 40-180 нм. Следовательно, диффузия Ca^{2+} и супероксида между CP и митохондриями может осуществляться постоянно.

Тиоловые группы цистеина белков СР и кальциевых каналов чувствительны к редокс-регуляторам 14. При этом супероксид, окисляя тиоловые группы, в умеренных дозах облегчает выход Ca^{2+} из CP, а в повышенных дозах оказывает противоположное действие. Количество супероксида возрастает при увеличении поглощения кислорода, сопровождающего усиление функции кардиомиоцитов. Но оно также возрастает и при нарушении этого транспорта – в условиях гипоксии. При этом возрастает активность цитоплазматического фермента ксантиноксидазы, и образуемый в повышенных количествах супероксид окисляет многие тиоловые группы в молекуле RyR2, что ограничивает выход Ca^{2+} из CP. Таким образом, в условиях окислительного стресса митохондрии ограничивают выделение Ca^{2+} из CP, чтобы снизить функцию и ограничить расход энергии.

Наряду с супероксидом другим постоянно действующим регулятором – от сокращения к сокращению – является нитроксид, образуемый внутриклеточной NO-синтазой NOS1, или эндотелиальной NO-синтазой NOS3. Оба фермента являются кальцийчувствительными, следовательно, нитроксид образуется при каждом возбуждении кардиомиоцита, причем пик его образования приходится на фазу расслабления [15]. Умеренное образование нитроксида ограничивает выход Ca²⁺ из CP посредством нитрозилирования белков канала RyR2. Тем самым предотвращается избыточная активация кардиомиоцитов при действии высокой концентрации Ca²⁺.

Таким образом, NOS3 выступает в роли ограничителя поступления внешнего Ca²⁺ в клетки, и чем больше будет вход Ca²⁺ при возбуждении, тем сильнее ограничение его последующего поступления, что позволяет поддерживать оптимальный уровень Ca^{2+} в кардиомиоцитах. Уменьшение же количества Ca²⁺, проникающего извне, неизбежно будет сопровождаться также уменьшением количества Ca²⁺, высвобождаемого из СР. Для сохранения прежнего уровня активации сократительных белков нитрозилирование RyR2, осуществляемое NOS1, позволит поддержать необходимый уровень сокращения. Применение донора нитроксида – S-нитрозоглутатиона позволило выяснить, что степень активации RyR2 - канала выхода Ca²⁺ из CP – зависит от количества тиоловых групп цистеина, подвергающихся окислению или нитрозилированию. Модификация 2 тиоловых групп уже активирует канал, 4 - сопровождается умеренной, а 11 - зна-



чительной активацией канала, в то время как увеличение степени активации еще в 2 раза приводит к необратимой активации канала [16]. Эта способность – проявление координированного действия активных форм кислорода на регуляторные процессы в клетках.

Окислительный стресс служит хорошим примером такого двойственного воздействия окисления. При низком парциальном давлении кислорода количество образуемого супероксида повышается вследствие нарушения транспорта кислорода по электронно-транспортной цепи, а также повышенной активности ксантиноксидазы. В результате кальциевые каналы окисляются в большей степени, что уменьшает выход Ca^{2+} из CP и ограничивает развитие силы. Уменьшается и вход внешнего Ca^{2+} , потому что открывается большее число $AT\Phi$ -чувствительных калиевых каналов сарколеммы, ранее закрытых в условиях достаточного количества $AT\Phi$. Это снижает возбудимость сарколеммы из-за снижения калиевого градиента, что проявляется прежде всего замедлением частоты сокращений.

В последние годы благодаря совершенствованию экспериментальной техники удалось установить, что выход небольшого количества Ca²⁺ из CP происходит постоянно. Использование флуоресцентного индикатора в покоящихся, нестимулируемых изолированных кардиомиоцитах позволило наблюдать «вспышки» (sparks), обусловленные спонтанным выходом малых порций Са²⁺ из СР. Они возникают в разных частях кардиомиоцитов, не вызывая общего возбуждения, но усиливаются при растяжении, причем только в растягиваемых участках саркомеров. Выяснилось, что их частота не меняется ни при блокаде Ca^{2+} -каналов, ни Na^{+}/Ca^{2+} -обменника [17]. Однако этот феномен полностью исчезает при блокаде NOX2 - встроенного в мембрану фермента, образующего супероксид с трансформацией NADH в NAD+. Таким образом, этот сарколеммный фермент наряду с митохондриями также служит постоянным регулятором выхода Ca²⁺ из CP. Скорость образования активных форм кислорода максимальна уже сразу после начала быстрого растяжения, причем есть соответствие между степенью растяжения и величиной или скоростью образования супероксида. Авторы полагают, что образование супероксида в кардиомиоцитах в ответ на растяжение постоянный и обязательный компонент физиологической реакции, позволяющей синхронизировать выброс Ca²⁺ из CP в соответствии со степенью растяжения саркомеров. Однако в патологических условиях избыточное образование супероксида может запускать аритмогенные Ca²⁺-волны.

Таким образом, начальное диастолическое давление – это продукт как полноты извлечения Ca^{2+} из миофибрилл, так и давления в легочных венах – чем выше давление

в них, тем раньше откроются клапаны, и тем выше будет начальное диастолическое давление в ЛЖ.

Пассивный компонент расслабления

Вначале предполагали, что растяжение сокращенных саркомеров происходит исключительно пассивно - за счет наполнения желудочка в начале диастолы, растягивающего внеклеточный матрикс миокарда и его саркомеры. Однако эксперименты на изолированных кардиомиоцитах опровергли эту версию - сокращающиеся кардиомиоциты, не имевшие связей друг с другом, исправно растягивались до прежней длины. Следовательно, в самих саркомерах существует механизм, возвращающий миозиновые нити к исходному положению, которое они занимали перед началом сокращения. Выяснилось, что эту функцию выполняет пружиноподобный белок титин (ранее – коннектин) – гигантский белок, имеющий массу более 3 МДа, самый крупный белок у млекопитающих. Он является неотъемлемой частью каждого саркомера и поэтому присутствует во всех поперечнополосатых мышцах. Титин обнаружен не только в кардиомиоцитах, но также в сосудах и других гладкомышечных органах, характеризующихся растяжимостью. Титин в основном состоит из последовательно связанных иммуноглобулина и фибронектина III типа доменов [18].

Этот белок кодируется единственным геном *TTN*. В результате альтернативного сплайсинга образуются различные изоформы титина. Для скелетных мышц характерно наличие упругой N2A-изоформы, в то время как в сердечных миоцитах экспрессируются две другие изоформы: N2B и N2BA. Их наличие обусловлено необходимостью различного растяжения саркомеров, чего не происходит в скелетной мышце, находящейся постоянно при оптимальной длине саркомеров. Изоформа N2BA является более длинной и более растяжимой. Увеличение ее содержания необходимо для увеличения растяжимости миокарда.

Соотношение N2BA/N2B варьирует в сердце взрослых млекопитающих, оно возрастает в следующем порядке: кролик < овца < человек = свинья < кошка < корова [19]. В сердцах мелких животных, в частности крысы, оно составляет примерно 20/80% [20]. В процессе онтогенеза происходит постепенное изменение их соотношения – доля более упругой формы N2B уменьшается, а доля более растяжимой формы N2BA возрастает. Это обусловлено необходимостью увеличения камер сердца и минутного объема.

В саркомере титин связан с миозином в области А-диска, свободно проходя при этом через І-диск и закрепляясь своим N-концом в Z-линии. Таким образом, он «заякоривает» миозиновые нити в центре саркомера, способствуя поддержанию высокоупорядоченной сар-



комерной структуры. При развитии сокращения миозиновые нити, образуя связи с актиновыми, смещаются к линии Z, сжимая пружину титина, а при устранении Ca^{2+} из миофибрилл пружина титина распрямляется, возвращая концы миозиновых нитей в прежнее положение.

Прямые доказательства участия титина в расслаблении были получены в опытах на изолированных кардиомиоцитах. Обработка скинированных волокон сердца крысы раствором трипсина уменьшила восстанавливающую силу во время расслабления [21]. При этом исследование с помощью гель-электрофореза показало почти отсутствие титина при сохранении других саркомерных белков. В опытах на изолированных кардиомиоцитах с разным соотношением N2BA и N2B использовали метод быстрой смены активирующего сокращения раствора на расслабляющий раствор [22]. Восстанавливающая длину сила прямо коррелировала с повышенным содержанием упругой изоформы титина N2B. Можно предполагать, что распрямляющее титин действие начинается уже в начале расслабления, когда пружина титина максимально сдавлена и начинает распрямляться.

Поскольку титин связан не только с миозином, но еще с двумя десятками белков, изменения его упругости влияют на состояние белков цитоскелета, участвуют в формировании гипертрофического стимула и могут рассматриваться как молекулярный сенсор напряжения [20].

Однако помимо трансляционного пути существует физиологический тип регуляции состояния титина. Он осуществляется путем фосфорилирования отдельных частей его молекулы, что изменяет свойства титина. Фосфорилирование титина происходит при активации протеинкиназ А [23] или G [24], а также агонистов В-адренорецепторов, оксида азота и натрийуретических пептидов [23]. Фосфорилирование титина в основном происходит в упругой изоформе N2B, при этом ее упругость снижается, а упругость N2BA повышается [25]. Фосфорилирование титина протеинкиназой G увеличивает податливость миокарда, а именно эта протеинкиназа активируется под влиянием цГМФ, образуемого гуанилатциклазой под влиянием нитроксида. Таким образом, повышенное образование нитроксида при увеличенном наполнении сердца способствует растяжению титина и всего саркомера. Общим следствием является увеличение растяжимости миокарда.

Дефосфорилирование титина осуществляется протеинфосфатазами. Серинтреониновая фосфатаза 5 (PP5) дефосфорилирует изоформу N2B в миокарде. Обычно PP5 аутоингибирована, но активируется под влиянием некоторых факторов, например, шаперона Hsp90 [26]. Этим объясняется, почему под влиянием окисления (0,1 мМ $\rm H_2O_2$) в молекуле титина образуются дисульфидные связи, в результате упругость молекулы возрастает, в то время как глутатионилирование молекулы снижает ее. Кроме того, дефосфорилирование титина может возникать вследствие недостаточной активности NO-синтазы. В результате дефосфорилирования титина растет диастолическое давление и затрудняется наполнение сердца. В то же время повышенное диастолическое давление способствует увеличению связей между актиновыми и миозиновыми волокнами при растяжении миокарда [18, 19].

Все эти данные позволили сделать вывод, что упругость титина — главный регулятор сократительной активности поперечнополосатых мышц [18, 19, 27]. Изложенные данные показывают, что этот компонент расслабления миокарда нельзя считать исключительно пассивным, поскольку фосфорилирование титина требует участия ферментов, использующих энергию АТФ.

Кальциевый транспорт и структура титина при хронической сердечной недостаточности (XCH)

Основу ХСН составляет сниженная сократимость миокарда. Причины ее многообразны: ими могут быть ишемия миокарда, окислительный стресс, дефектный синтез сократительных белков, неполное извлечение Ca^{2+} из миофибрилл, изменение внеклеточного матрикса (фиброз). Но, по-видимому, основной причиной служит изменение кальциевого транспорта в кардиомиоцитах.

Миокард или кардиомиоциты из сердец характеризуются сниженной силой сокращения и меньшей амплитудой кальциевого сигнала [28]. Установлена сниженная экспрессия SERCA2a, причем в большей степени, чем экспрессия фосфоламбана [29], следовательно, функция этой кальциевой АТФазы оказывается еще дополнительно сниженной. Эти изменения, несомненно, отражаются на скорости расслабления. Вместе с тем существуют данные о компенсаторном увеличении у пациентов с постинфарктным кардиосклерозом экспрессии и активности СаМКІІ [30]. Эта протеинкиназа фосфорилирует фосфоламбан и тем самым снимает его ингибирование с SERCA2a. Однако CaMKII также фосфорилирует и канал выхода Ca²⁺ из CP, способствуя его неконтролируемому выходу [31]. В условиях ослабления возврата Ca²⁺ в CP возрастает нагрузка на основную структуру удаления Ca²⁺ из клеток – натрий-кальциевый обменник. При ХСН у пациентов экспрессия этого обменника повышена [32], что вполне понятно в условиях ослабления основного пути удаления Са²⁺ из миоплазмы.

Экспрессия RyR2, по-видимому, не изменена в сердцах больных с XCH [33], но выход Ca²⁺ из CP также может быть нарушен при XCH; он может быть спонтанным и неконтролируемым [34] из-за возросшей активности протеинкиназы A [35], фосфорилирующей канал RyR2. Причиной этого, видимо, является хроническая гиперак-



тивность β -адренергической стимуляции, используемой системой кровообращения для восстановления нарушенной сократимости миокарда. В большинстве моделей XCH не обнаружено изменений экспрессии медленных кальциевых каналов [36].

Есть мнение, что основу ХСН составляет диастолическая дисфункция, возникающая из-за нарушения расслабления и наполнения ЛЖ [37]. Ее признаками служат удлинение кальциевого сигнала в кардиомиоцитах и в конечном итоге – повышение диастолического уровня Са²⁺ в кардиомиоцитах. Эти признаки обнаружены в кардиомиоцитах, выделенных из сердец пациентов с конечной стадией ХСН [38]. Они указывают на дефектность функции кальциевого насоса – кальциевой АТФазы СР– SERCA2а. Действительно, снижение скорости поглощения Са²⁺ было обнаружено на моделях ХСН, вызванных гипертрофией [39] или ишемией миокарда [40].

Анализ приведенных данных показывает, что основные изменения происходят в энергозависимых системах, требующих либо расхода АТФ, либо фосфорилирования. Это кальциевая АТФаза CP–SERCA2a, сниженное фосфорилирование фосфоламбана. В то же время системы, не требующие расхода энергии, – медленные кальциевые каналы, каналы выхода Ca^{2+} из CP–RyR2, кальсеквестрин, удерживающий Ca^{2+} в CP, не подвергаются существенным изменениям. Таким образом, основные нарушения кальциевого транспорта происходят в энергозависимых звеньях, что позволяет предполагать первичность нарушений системы энергообразования в кардиомиоцитах как основы последующего развития диастолической и систолической дисфункции.

Кальциевый транспорт, как рассмотрено ранее, в высокой степени зависит от энергоснабжения, и митохондрии служат ключевым звеном этого процесса. Неудивительно, что при нарушении окислительного фосфорилирования в митохондриях, возникающего при гипоксии или ишемии миокарда, структура кальциевых пиков резко изменяется – они становятся удлиненными, не всегда согласованными с ритмом возбуждений; повышается и диастолический уровень кальциевых сигналов [41].

Прямые факты нарушения системы энергообеспечения обнаружены как на экспериментальных моделях ХСН, так и в клинике. При систолической дисфункции, вызванной применением доксорубицина у крыс, со снижением фракции выброса на 22% содержание АТФ и адениннуклеотидов оставалось нормальным, но соотношение фосфокреатин/АТФ – одно из важнейших показателей состояния энергетического обмена, было существенно снижено [42]. При наличии нормального уровня креатина это означает, что снижена функция изофермента креатинфосфокиназы митохондрий, переносящей фосфорную связь с АТФ на креатин. Следовательно, происходит

недостаточное снабжение клеточных структур, использующих энергию $AT\Phi$.

Аналогичные изменения обнаружены у пациентов. В эксперименте и в клинических исследованиях показано нарушение образования АТФ в митохондриях – снижение активности комплексов дыхательной цепи и ферментов цикла трикарбоновых кислот, уменьшение экспрессии целого ряда митохондриальных белков, что ограничивает образование АТФ, функцию креатинкиназных систем в митохондриях и цитозоле и в целом работу сердца при нагрузках [43]. Выявлены связи между клеточными показателями биоэнергетики (содержание макроэргических фосфатов, отношение фосфокреатин/АТФ в сердце) и классами ХСН по NYHA или индексами систолической и диастолической функции. Считается, что отношение фосфокреатин/АТФ может быть предиктором смерти от сердечно-сосудистых заболеваний [44].

Анализ известных данных об изменении соотношения N2BA/N2B при различных видах кардиомиопатии показывает широкую вариабельность при разных моделях патологии. Повышенное отношение N2BA/N2B характерно для дилатационной или ишемической кардиомиопатии со снижением фракции выброса [45], пониженное – для концентрической кардиомиопатии или артериальной гипертонии [46]. Сходные изменения наблюдали при XCH с нормальной фракцией выброса [47].

В общем увеличение изоформы N2BA характерно для ситуаций, связанных с увеличением диастолического объема, а снижение – для ситуаций, связанных с необходимостью преодоления повышенного сопротивления. Это соотношение может изменяться противоположным образом в динамике XCH, как показано в экспериментах с постоянной электростимуляцией сердца собак с высокой частотой. Через 2 нед оно повышается [48], способствуя улучшению наполнения ЛЖ, но снижается через 4 нед [49], что благоприятствует развитию силы.

Способность протеинкиназы А повышать фосфорилирование титина могла бы сочетаться со снижением диастолической упругости миокарда, но она, напротив, была повышена [50]. Фосфорилирование титина, несомненно, является компенсаторной реакцией сердца при снижении его сократимости. Повышенная диастолическая упругость ЛЖ ранее рассматривалась как негативный фактор [49], однако противоположное изменение – сниженная диастолическая упругость – во многих работах сочеталось со сниженной мобилизацией сократимости при растяжении миокарда [18, 19].

Заключение

Приведенный материал свидетельствует о тесной связи расслабления и наполнения левого желудочка. Оба процесса закономерно изменяются при наруше-



нии сокращения; возникающие при этом изменения носят компенсаторный характер, имеющий целью поддержать нужный организму сердечный выброс. Изменения кальциевого транспорта направлены на ограничение входа $\mathrm{Ca^{2+}}$ в кардиомиоциты и активации миофибрилл. Кажущаяся парадоксальность такой компенсаторной реакции объясняется накладыванием митохондриями ограничений на выход $\mathrm{Ca^{2+}}$ из саркоплазматического ретикулума и его поглощения обратно, а также повышением кальциевой чувствительности миофибрилл. В результате неизбежно возникает замедление расслабления.

Однако замедление расслабления при хронической сердечной недостаточности обусловлено не только ограничением кальциевого транспорта, но также изменением изоформ титина. Повышенная экспрессия растяжимой изоформы N2BA, облегчающая процесс наполнения желудочка в диастоле, сочетается со сниженной экспрес-

сией упругой изоформы N2B, участвующей в процессе расслабления.

Соотношение изоформ N2BA и N2B при разных видах патологии весьма вариабельно и может изменяться в процессе развития хронической сердечной недостаточности. Однако в целом можно полагать, что относительное преобладание растяжимой изоформы N2BA характерно для ситуаций, связанных с необходимостью увеличения диастолического объема, а снижение – для ситуаций, связанных с необходимостью преодолевать повышенное сопротивление выбросу. Такая ситуация позволяет предполагать, что степень замедления расслабления в последнем случае может быть меньше.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-015-00271.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Meerson FZ, Kapelko VI. The significance of the interrelationship between the intensity of the contractile state and the velocity of relaxation in adapting cardiac muscle to function at high work loads. Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 1975;7(11):793–806. DOI: 10.1016/0022-2828(75)90131-5
- Watanabe T, Shintani F, Fu LT, Kato K. Maximal rate of the left ventricular pressure fall (peak negative dP/dt) in early stage of myocardial ischemia following experimental coronary occlusion. Japanese Heart Journal. 1975;16(5):583–91. DOI: 10.1536/ihj.16.583
- Grossman W, McLaurin LP, Rolett EL. Alterations in left ventricular relaxation and diastolic compliance in congestive cardiomyopathy. Cardiovascular Research. 1979;13(9):514–22. DOI: 10.1093/cyr/13.9.514
- Grossman W. Cardiac hypertrophy: useful adaptation or pathologic process? The American Journal of Medicine. 1980;69(4):576–84. DOI: 10.1016/0002-9343(80)90471-4
- Katayama K, Kumada T, Fujii T, Moritani K, Miura T, Toma Y et al. Clinical characteristics of left ventricular pressure decline during isovolumic relaxation in normal and diseased hearts. American Heart Journal. 1984;107(2):332–8. DOI: 10.1016/0002-8703(84)90383-1
- 6. Hirota Y. A clinical study of left ventricular relaxation. Circulation. 1980;62(4):756–63. DOI: 10.1161/01.cir.62.4.756
- 7. Kapel'ko V.I. Effect of hypoxia and ischemia on myocardial ion transport and contractile function. Bulletin of Medical Sciences of the USSR RCRC. 1981;4(1):103–10. [Rusian: Капелько В.И. Влияние гипоксии и ишемии на ионный транспорт и сократительную функцию сердечной мышцы. Бюллетень Всесоюзного Кардиологического Научного Центра АМН СССР. 1981;4(1):103–10. PMID: 7020718]
- 8. Gilbert JC, Glantz SA. Determinants of left ventricular filling and of the diastolic pressure-volume relation. Circulation Research. 1989;64(5):827–52. DOI: 10.1161/01.res.64.5.827
- Kapel'ko VI, Gorina MS, Novikova NA. Comparative evaluation of contraction and relaxation of isolated heart muscle with decreased calcium concentration in the perfusate, acidosis, and metabolic blockade. Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 1982;14(Suppl 3):21–7. DOI: 10.1016/0022-2828(82)90125-0
- Kapel'ko V.I., Gorina M.S. Calcium control of myocardial contraction and relaxation. Collected papers. M.: Science, 1987. P.79-112. In: Control of myocardial contractile function and metaborate.

- olim-M.: Science;1987. [Russian: Капелько В.И., Горина М.С. Кальциевая регуляция сокращения и расслабления миокарда. В книге: Регуляция сократительной функции и метаболизма миокарда. Сборник статей. М.:»Наука», 1987. С.79-112]
- 11. Kapel'ko V.I. Role of the relaxation process in contractile function disturbance in various heart pathologies. Bulletin of Medical Sciences of the USSR RCRC. 1982;5(1):99–107. [Russian: Капелько В.И. Роль процесса расслабления в нарушении сократительной функции при различной патологии сердца. Бюллетень Всероссийского Кардиологического Научного Центра АМН СССР. 1982;5(1):99–107. PMID: 7046765]
- 12. Gunter TE, Yule DI, Gunter KK, Eliseev RA, Salter JD. Calcium and mitochondria. FEBS letters. 2004;567(1):96–102. DOI: 10.1016/j. febslet.2004.03.071
- 13. Duchen MR. Mitochondria and calcium: from cell signalling to cell death. The Journal of Physiology. 2000;529(1):57–68. DOI: 10.1111/j.1469-7793.2000.00057.x
- Gyorke S, Terentyev D. Modulation of ryanodine receptor by luminal calcium and accessory proteins in health and cardiac disease. Cardiovascular Research. 2007;77(2):245–55. DOI: 10.1093/cvr/cvm038
- Pinsky DJ, Patton S, Mesaros S, Brovkovych V, Kubaszewski E, Grunfeld S et al. Mechanical Transduction of Nitric Oxide Synthesis in the Beating Heart. Circulation Research. 1997;81(3):372–9. DOI: 10.1161/01.RES.81.3.372
- 16. Yan Y, Liu J, Wei C, Li K, Xie W, Wang Y et al. Bidirectional regulation of Ca2+ sparks by mitochondria-derived reactive oxygen species in cardiac myocytes. Cardiovascular Research. 2008;77(2):432–41. DOI: 10.1093/cvr/cvm047
- 17. Prosser BL, Khairallah RJ, Ziman AP, Ward CW, Lederer WJ. X-ROS signaling in the heart and skeletal muscle: Stretch-dependent local ROS regulates [Ca2+]i. Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 2013;58:172–81. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2012.11.011
- Fukuda N, Wu Y, Nair P, Granzier HL. Phosphorylation of Titin Modulates Passive Stiffness of Cardiac Muscle in a Titin Isoform-dependent Manner. The Journal of General Physiology. 2005;125(3):257-71. DOI: 10.1085/jgp.200409177
- Cazorla O, Freiburg A, Helmes M, Centner T, McNabb M, Wu Y et al. Differential Expression of Cardiac Titin Isoforms and Modulation of Cellular Stiffness. Circulation Research. 2000;86(1):59–67. DOI: 10.1161/01.RES.86.1.59



- Guo W, Sun M. RBM20, a potential target for treatment of cardiomyopathy via titin isoform switching. Biophysical Reviews. 2018;10(1):15–25. DOI: 10.1007/s12551-017-0267-5
- Helmes M, Trombitás K, Granzier H. Titin develops restoring force in rat cardiac myocytes. Circulation Research. 1996;79(3):619–26. DOI: 10.1161/01.res.79.3.619
- Preetha N, Yiming W, Helmes M, Norio F, Siegfried L, Granzier H. Restoring force development by titin/connectin and assessment of Ig domain unfolding. Journal of Muscle Research and Cell Motility. 2006;26(6–8):307–17. DOI: 10.1007/s10974-005-9037-2
- Linke W. Sense and stretchability: The role of titin and titin-associated proteins in myocardial stress-sensing and mechanical dysfunction. Cardiovascular Research. 2008;77(4):637–48. DOI: 10.1016/j.cardiores.2007.03.029
- Krüger M, Linke WA. Titin-based mechanical signalling in normal and failing myocardium. Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 2009;46(4):490–8. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2009.01.004
- Hamdani N, Herwig M, Linke WA. Tampering with springs: phosphorylation of titin affecting the mechanical function of cardiomyocytes. Biophysical Reviews. 2017;9(3):225–37. DOI: 10.1007/s12551-017-0263-9
- 26. Krysiak J, Unger A, Beckendorf L, Hamdani N, von Frieling-Salewsky M, Redfield MM et al. Protein phosphatase 5 regulates titin phosphorylation and function at a sarcomere-associated mechanosensor complex in cardiomyocytes. Nature Communications. 2018;9(1):262. DOI: 10.1038/s41467-017-02483-3
- Linke WA. Titin Gene and Protein Functions in Passive and Active Muscle. Annual Review of Physiology. 2018;80(1):389–411. DOI: 10.1146/annurev-physiol-021317-121234
- 28. Houser SR, Margulies KB. Is Depressed Myocyte Contractility Centrally Involved in Heart Failure? Circulation Research. 2003;92(4):350–8. DOI: 10.1161/01.RES.0000060027.40275.A6
- Meyer M, Schillinger W, Pieske B, Holubarsch C, Heilmann C, Posival H et al. Alterations of Sarcoplasmic Reticulum Proteins in Failing Human Dilated Cardiomyopathy. Circulation. 1995;92(4):778–84. DOI: 10.1161/01.CIR.92.4.778
- 30. Hoch B, Meyer R, Hetzer R, Krause E-G, Karczewski P. Identification and Expression of δ-Isoforms of the Multifunctional Ca²⁺/ Calmodulin-Dependent Protein Kinase in Failing and Nonfailing Human Myocardium. Circulation Research. 1999;84(6):713–21. DOI: 10.1161/01.RES.84.6.713
- 31. Wehrens XH, Lehnart SE, Reiken SR, Deng SX, Vest JA, Cervantes D et al. Protection from Cardiac Arrhythmia Through Ryanodine Receptor-Stabilizing Protein Calstabin2. Science. 2004;304(5668):292–6. DOI: 10.1126/science.1094301
- 32. Studer R, Reinecke H, Bilger J, Eschenhagen T, Böhm M, Hasenfuss G et al. Gene expression of the cardiac Na(+)-Ca²⁺ exchanger in end-stage human heart failure. Circulation Research. 1994;75(3):443–53. DOI: 10.1161/01.RES.75.3.443
- Beuve CS, Allen PD, Dambrin G, Rannou F, Marty I, Trouvé P et al. Cardiac Calcium Release Channel (Ryanodine Receptor) in Control and Cardiomyopathic Human Hearts: mRNA and Protein Contents are Differentially Regulated. Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 1997;29(4):1237–46. DOI: 10.1006/imcc.1996.0360
- Shannon TR, Lew WYW. Diastolic Release of Calcium From the Sarcoplasmic Reticulum: a potential target for treating triggered arrhythmias and heart failure. Journal of the American College of Cardiology. 2009;53(21):2006–8. DOI: 10.1016/j.jacc.2009.02.032
- 35. Hain J, Onoue H, Mayrleitner M, Fleischer S, Schindler H. Phosphorylation Modulates the Function of the Calcium Release Channel of Sarcoplasmic Reticulum from Cardiac Muscle. Journal of Biological Chemistry. 1995;270(5):2074–81. DOI: 10.1074/jbc.270.5.2074
- Mukherjee R, Spinale FG. L-type Calcium Channel Abundance and Function with Cardiac Hypertrophy and Failure: A Review. Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 1998;30(10):1899– 916. DOI: 10.1006/jmcc.1998.0755

- 37. Kho C, Lee A, Hajjar RJ. Altered sarcoplasmic reticulum calcium cycling—targets for heart failure therapy. Nature Reviews Cardiology. 2012;9(12):717–33. DOI: 10.1038/nrcardio.2012.145
- 38. Epstein FH, Morgan JP. Abnormal Intracellular Modulation of Calcium as a Major Cause of Cardiac Contractile Dysfunction. New England Journal of Medicine. 1991;325(9):625–32. DOI: 10.1056/NEJM199108293250906
- 39. Kiss E, Ball NA, Kranias EG, Walsh RA. Differential Changes in Cardiac Phospholamban and Sarcoplasmic Reticular Ca²⁺-ATPase Protein Levels: Effects on Ca²⁺ Transport and Mechanics in Compensated Pressure-Overload Hypertrophy and Congestive Heart Failure. Circulation Research. 1995;77(4):759–64. DOI: 10.1161/01.RES.77.4.759
- 40. Zarain-Herzberg A, Afzal N, Elimban V, Elimban NS. Decreased expression of cardiac sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-pump ATPase in congestive heart failure due to myocardial infarction. -Boston, MA: Springer US; 1996. P.285-290. DOI: 10.1007/978-1-4613-1289-5_35. In: Biochemical Regulation of Myocardium Vetter R, Krause E-G, editors -Boston, MA: Springer US;1996.
- 41. Kapel'ko V. I., Lakomkin VL, Abramov AA, Lukoshkova EV, Undrovinas NA, Khapchaev AY et al. Protective Effects of Dinitrosyl Iron Complexes under Oxidative Stress in the Heart. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2017;2017:1–10. DOI: 10.1155/2017/9456163
- 42. Studneva I.M., Lakomkin V.L., Prosvirnin A.V., Abramov A.A., Veselova O.M., Pisarenko O.I. et al. Energy state of myocardium in systolic dysfunction. Kardiologicheskii vestnik. 2018;13(3):31–4. [Russian: Студнева И.М., Лакомкин В.Л., Просвирнин А.В., Абрамов А.А., Веселова О.М., Писаренко О.И. и др. Энергетический статус миокарда при систолической дисфункции. Кардиологический вестник. 2018;13(3):31–4]. DOI: 10.17116/Cardiobulletin20181303131
- Ventura-Clapier R, Garnier A, Veksler V. Energy metabolism in heart failure: Energy metabolism in heart failure. The Journal of Physiology. 2004;555(1):1–13. DOI: 10.1113/jphysiol.2003.055095
- 44. Lygate CA, Neubauer S. Metabolic Flux as a Predictor of Heart Failure Prognosis. Circulation Research. 2014;114(8):1228–30. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.114.303551
- 45. Makarenko I, Opitz CA, Leake MC, Neagoe C, Kulke M, Gwathmey JK et al. Passive Stiffness Changes Caused by Upregulation of Compliant Titin Isoforms in Human Dilated Cardiomyopathy Hearts. Circulation Research. 2004;95(7):708–16. DOI: 10.1161/01.RES.0000143901.37063.2f
- 46. Hamdani N, Franssen C, Lourenço A, Falcão-Pires I, Fontoura D, Leite S et al. Myocardial Titin Hypophosphorylation Importantly Contributes to Heart Failure With Preserved Ejection Fraction in a Rat Metabolic Risk Model. Circulation: Heart Failure. 2013;6(6):1239–49. DOI: 10.1161/CIRCHEART FAILURE.113.000539
- 47. Borbély A, Papp Z, Edes I, Paulus WJ. Molecular determinants of heart failure with normal left ventricular ejection fraction. Pharmacological reports: PR. 2009;61(1):139–45. PMID: 19307702
- Bell SP, Nyland L, Tischler MD, McNabb M, Granzier H, LeWinter MM. Alterations in the Determinants of Diastolic Suction During Pacing Tachycardia. Circulation Research. 2000;87(3):235– 40. DOI: 10.1161/01.RES.87.3.235
- 49. Wu Y, Bell SP, Trombitas K, Witt CC, Labeit S, LeWinter MM et al. Changes in Titin Isoform Expression in Pacing-Induced Cardiac Failure Give Rise to Increased Passive Muscle Stiffness. Circulation. 2002;106(11):1384–9. DOI: 10.1161/01. CIR.0000029804.61510.02
- Hudson B, Hidalgo C, Saripalli C, Granzier H. Hyperphosphorylation of Mouse Cardiac Titin Contributes to Transverse Aortic Constriction-Induced Diastolic Dysfunction. Circulation Research. 2011;109(8):858–66. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.111.246819

Поступила 20.07.19 (Received 20.07.19)