

УДК 612.127—008.9—097.3—085.273.53

Н. В. Ильчевич, Р. И. Янций

О МЕХАНИЗМЕ АКТИВИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОСЕРДЕЧНЫХ АНТИТЕЛ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ И СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МИОКАРДИАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Для создания модели иммунных повреждений различных органов и систем широко применяются специфические антитела, содержащиеся в иммунных цитотоксических сыворотках [1]. Большой интерес в раскрытии многих интимных сторон сложного механизма взаимодействия антител с клеточной мембраной представляют исследования с применением электрофизиологических показателей, определивших появление новой области в мембранологии — мембранной иммуонейрофизиологии. Так, была установлена высокая чувствительность нервных клеток низших животных к гомо- и гетерологичным антителам [6, 7] и обнаружены их эффекты на пассивные и активные электрические характеристики, их ультраструктурные и функциональные изменения [6].

Противосердечные антитела оказывают влияние на кардио- и гемодинамику, структурные изменения коронарных сосудов, электрическую активность миокарда [11, 14, 15] приводят к сдвигам в биохимических и ферментативных процессах.

Однако физиологический механизм и морфо-функциональная природа начальных молекулярных изменений миокардиальных клеток при развитии иммунологической реакции антиген — антитело к настоящему времени недостаточно изучены. Такие исследования важны для изучения актуального вопроса кардиологии — иммунной травмы при ишемической болезни и инфаркте миокарда, а также для выяснения общего механизма действия антител.

Настоящее исследование посвящено выяснению ранее нами [14] высказанного предположения о том, что при образовании иммунного комплекса антиген — антитело на миокардиальной клетке затрагивается система медленных потенциалозависимых натрий-кальциевых каналов.

Методика исследований

Опыты проведены на изолированных спонтанно-активным правом и не обладающим автоматией левом ушках предсердий морских свинок. Электрическую активность, потенциалы действия (ПД) отводили «плавающими» стеклянными микроэлектродами с сопротивлением кончика 30—40 МОм. Длительность ПД измеряли на 30 и 70 % уровень его максимальной амплитуды [1, 2]. Сокращения регистрировали с помощью механоэлектрического преобразователя 6MX1C в условиях приближенных к изометрическим. Первую производную ПД и сокращения (соответственно dv/dt , dp/dt) регистрировали с помощью смонтированного нами дифференциатора. Стимуляцию препаратов, не обладающих автоматией, осуществляли сверхпороговыми прямоугольными импульсами тока отрицательной полярности длительностью 3—5 мс. Препараты перфузировали раствором Тироде, рН раствора после насыщения карбогеном — 7,3—7,4. Опыты проводили при 35—36 °C.

Антикардиальный гамма-глобулин (гамма-АКС) получали по способу, описанному ранее [14]. Иммунные сыворотки обладали высокой видо- и органной специфичностью и реагировали (после стандартизации титра) в реакции связывания комплемента (РСК) в разведении 1:800. В контрольных опытах использовали глобулиновую фракцию, выделенную из сыворотки крови неиммунизированных кроликов (гамма-НКС), а также предварительно истощенный (гомологичным антигеном и антигеном стафилококковой инфекции — 5-β-гемолитический стрептококк группы А) иммунный гамма-глобулин. Концентрация гамма-глобулиновой фракции в тестирующем растворе составляла 0,5—1 мг белка/мл.

Особенность постановки экспериментов состояла в том, что эффекты антител изучали на интактном препарате и в условиях блокады ионно-транспортных систем миокардиальной клетки с помощью соединения Д-600 ($1 \cdot 10^{-6}$ г/мл), хлористого марганца (2 ммоль), ТТХ ($2 \cdot 10^{-6}$ г/мл), хлористого калия (15–20 ммоль). Полученные данные обработаны статистически и оценены по критерию Стьюдента с применением 5 % уровня значимости ($p < 0,05$).

Результаты исследований

Как показали результаты предыдущих наших опытов [14–15], антикардиальные антитела, специфические к сердечной мышце морской свинки и лягушки, в концентрации 0,5–1 мг белка/мл вызывают учащение ритмической активности в 1,5–2,5 раза, сопровождающееся увеличением силы сократительных ответов и скорости их нарастания. Электрические ответы — ПД претерпевали значительные изменения, наступало удлинение плато.

Однако определение истинной длительности ПД сердечных клеток, обладающих автоматией, при развившемся максимальном цитотоксическом эффекте антител, когда отмечается резкое увеличение частоты спонтанных ПД, затруднено по той причине, что тахикардия приводит к закономерному укорочению длительности плато ПД. В связи с этим необходимо было выяснить, влияют ли специфические антитела непосредственно на продолжительность ПД в клетках сократительного миокарда или же вызываемые эффекты связаны с изменением частоты спонтанной активности? Ответ был получен в опытах, в которых длительность ПД измеряли в зависимости от величины межимпульсного интервала в широком диапазоне частот в нормальном растворе Тироде и при действии антител. Как видно из рис. 1, А, в нормальном растворе Тироде увеличение продолжительности межимпульсного интервала сопровождается плавным нарастанием длительности ПД — измеренного на двух уровнях (соответственно кривые 1, 2). В большинстве клеток

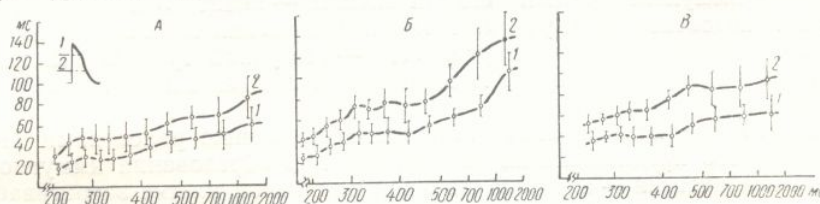


Рис. 1. Изменение длительности ПД мышечных клеток (вертикаль) ушек предсердий морской свинки, измеренного на двух уровнях (1, 2), в зависимости от продолжительности межимпульсного интервала (горизонталь).

А — в растворе Тироде нормального состава; Б — при действии антител в концентрации 0,5–1 мг белка/мл (10–15 мин регистрации); В — действие антител (0,5–1 мг белка/мл) в условиях предварительной блокады Na-Ca каналов (8–15 мин регистрации).

(71,9 % т. е. 697 из 969) величина межимпульсного интервала находилась в пределах от 300 до 500 мс. Продолжительность ПД в данном диапазоне частот соответственно составляла 27–44 мс (30 % реполяризация — уровень 1) и 45–56 мс (70 % реполяризация — уровень 2). Добавление же в раствор Тироде иммунного гамма-глобулина (0,5–1 мг/мл) сопровождалось развитием уже к 3–5 мин положительного хронотропного эффекта, что приводило к сдвигу спектра межимпульсных интервалов (рис. 1, Б) в сторону их уменьшения (до 290–180 мс). Несмотря на это, все же сохранялось расширение плато ПД, которое в тех же пределах частот соответственно составляло 49–55 и 77–85 мс ($n=618$ клеток, $p < 0,02$ или $p < 0,05$).

При увеличении межимпульсного интервала от 500 до 1500 мс на 15–20 мин действия антител, длительность ПД была максимальной (от 56 до 78 мс — уровень 1 и 80–125 мс — уровень 2), тогда как в норме эта величина была значительно ниже (44–50 мс и 55–72 мс),

($n=152$ клетки, $p < 0,01$ тивности клеток миокарда вводимых сокращений. Искался на 1–4 мВ ($n=4$).

В контрольных опытах не наблюдалось достоверной активности ($p > 0,2$). Сильный из НКС в 3 из 12 опытов, вызывал незначительное положительное хронотропное действие на механическую активность

Рис. 2. Действие антител на клетки миокарда в условиях блокады бета-адренергических рецепторов. а — электрические ответы в растворе Тироде; б — после добавления индлера ($1 \cdot 10^{-6}$ г/мл); в — 8 мин после антител (0,5 мг/мл); г — сопоставление ПД в нормальном растворе Тироде (кривая 1) при добавлении антител (кривая 2). Верхняя кривая — 1 нижняя — его производная.

($p > 0,05$). Если же гамма-глобулин антигеном и антителом, то эффект полностью отсутствует.

Следовательно, как и при автоматии в начале наблюдается четко выраженный усилением амплитуды.

Хорошо известно, что длительность плато ПД связана с ионными каналами, активация которых ответственно за увеличение мышечного сокращения при определении концентрации диффундирующих из области миофибрилл. Попадая для инициации отдельного плато ПД по медленным ионным каналам, было предположить, электрическую и механическую обусловлено усиление активацией медленных Na-фармакологическая блокада активирующее действие антител.

Однако для этого следовало бы наблюдать в опыте изменение частоты миокардиальных ответов через адренорецепторы не бета-рецепторы? Их активность увеличивается внутриклеточной концентрации кальция. Результаты опытов (рис. 2, б–г) индлером (1 мг/мл) не вызвали эффектов антител, а именно сокращений. Интересного антиаритмического действия или прекращения аритмии.

($n=152$ клетки, $p<0,01$). Наблюдаемые изменения в электрической активности клеток миокарда сопровождались увеличением амплитуды развиваемых сокращений. Потенциал покоя при действии антител уменьшался на 1—4 мВ ($n=46$, $p<0,05$).

В контрольных опытах с гамма-НКС или истощенным гамма-АКС не наблюдалось достоверных изменений электрической и механической активности ($p>0,2$). Следует отметить, что гамма-глобулин, выделенный из НКС в 3 из 12 опытов, вызывал незначительное положительное хроно- и инотропное действие на механическую активность

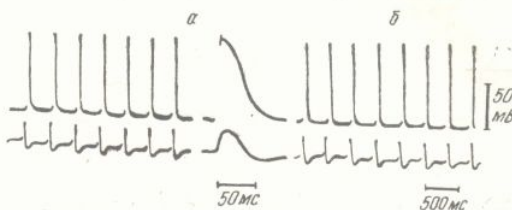
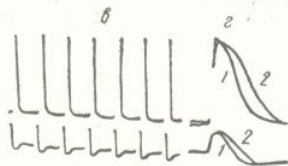


Рис. 2. Действие антител на клетки миокарда в условиях блокады бета-адренергических рецепторов.

а — электрические ответы в растворе Гирод; б — после добавления индерала ($1 \cdot 10^{-6}$ г/мл); в — 8 мин после аппликации антител (0,5 мг/мл); г — сопоставление ПД в нормальном растворе Тирод (кривая 1) при добавлении антител (кривая 2). Верхняя кривая — ПД, нижняя — его производная.



($p>0,05$). Если же гамма-НКС был предварительно истощен гомологичным антигеном и антигеном стрептококка, то вызываемые ранее эффекты полностью отсутствовали.

Следовательно, как при вызванной ритмической активности, так и при автоматии в начальный период действия (до 20—30 мин) антител наблюдается четко выраженное удлинение плато ПД, сопровождающееся усилением амплитуды сократительных ответов.

Хорошо известно, что в миокардиальных клетках фаза реполяризации плато ПД связана с функционированием медленных натрий-кальциевых каналов, активация которых ведет к удлинению плато ПД и соответственно к увеличению амплитуды развиваемых сокращений. Сила мышечного сокращения при прочих равных условиях главным образом определяется концентрацией свободных ионов кальция в миоплазме, диффундирующих из саркоплазматического ретикулума (СПР) в область миофибрилл. Пополнение запасов ионов кальция, необходимых для инициации отдельного сократительного акта, происходит во время плато ПД по медленным натрий-кальциевым каналам. Поэтому естественно было предположить, что стимулирующее действие антител на электрическую и механическую активность в начальный период их действия обусловлено усилением входящего потока ионов кальция, т. е. активацией медленных Na-Ca каналов. Если такой вывод верный, то их фармакологическая блокада должна оказать существенное влияние на активирующее действие антител.

Однако для этого следовало было выяснить, не обусловлены ли наблюдаемые в опыте изменения в электрической и сократительной активности миокардиальных волокон опосредованным действием антител через адренорецепторы, в частности, через находящиеся на мембране бета-рецепторы? Их активация, как известно [2], может приводить к увеличению внутриклеточных запасов кальция. Как показали результаты опытов (рис. 2, б—г), предварительная блокада бета-рецепторов индералом (1 мг/мл) не препятствует развитию описанных выше эффектов антител, а именно: нарастанию длительности ПД и изометрических сокращений. Интересно заметить, что действие индерала как эффективного антиаритмического средства [2] проявлялось в предупреждении или прекращении аритмий при альтерации иммунным гамма-глобулином.

Для дальнейшего анализа механизма активирующего действия антител были проделаны опыты в условиях блокады медленных Na-Са каналов миокардиальных клеток. Общие эффекты блокатора Na-Са тока Д-600 заключались в резком уменьшении частоты спонтанной активности предсердных волокон и перераспределении межимпульсных интервалов в сторону их увеличения. При этом в 61,4 % клеток (261 из 425) межимпульсный интервал находился в пределах от 450 до 2000 мс,

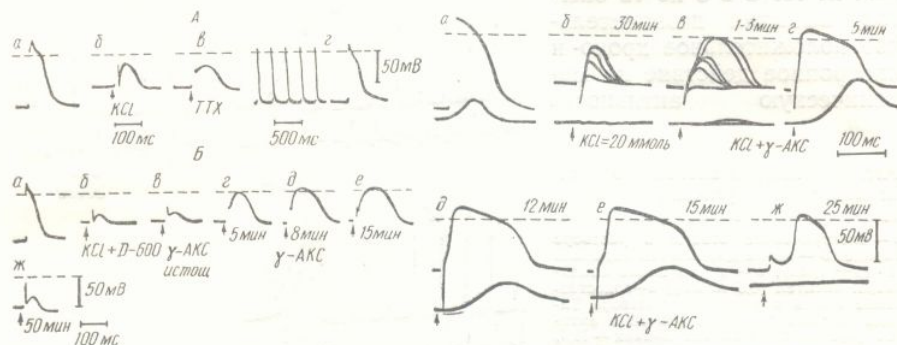


Рис. 3. Активация антителами электрической активности миокардиальных клеток при блокаде быстрых натриевых и Na-Са каналов.

А, а — спонтанный ПД в растворе Тироде; б — после добавления в раствор Тироде 20 ммоль KCl; в — в растворе с ТТХ ($2 \cdot 10^{-6}$ г/мл); г — восстановление спонтанных ПД в растворе Тироде нормального состава. Б, а — ПД в растворе Тироде; б — медленные ответы при совместном действии KCl и Д-600; в — неэффективность предварительно истощенного гамма-АКС (1 мг/мл) — 13 мин регистрации; г — ж — последовательность развития эффекта антител (1 мг/мл) в условиях блокады Na и Na-Са каналов. Уровень нулевого потенциала обозначен горизонтальной пунктирной линией. Частота стимуляции 1,5 Гц.

Рис. 4. Эффекты антител на электрическую и механическую активность клеток миокарда, деполяризованных ионами калия.

а — ПД и сокращение в исходном растворе Тироде; б — медленные ответы (в растворе с 20 ммоль KCl) на приложенные деполяризующие стимулы, полученные при различных силах раздражения; в — усиливающий эффект антител — 1 мг/мл; г — ж — динамика развития действия антител во времени. Частота стимуляции 1,5 Гц. Нулевой мембранный потенциал указан горизонтальными пунктирными линиями.

тогда как в нормальной солевой среде их величина составляла только 28,9 %. Длительность ПД существенно уменьшалась, и к 40—60 мин действия Д-600 наступало разобщение в процессах электромеханического сопряжения. Амплитуда ПД и величина ПП при этом практически не менялись. Вызванные эффекты Д-600 были обратимыми, что согласуется с подобными результатами других авторов [18].

Активирующее действие антител на электрическую активность (ПД) в условиях снижения кальциевой проводимости, как видно из рис. 1, В значительно уменьшалось. При совместном действии Д-600 и антител перераспределения межимпульсных интервалов не наступало, что свидетельствует об отсутствии положительного хронотропного эффекта при ингибировании медленных Na-Са каналов клеточной мембраны. Большинство клеток — 59,6 % (402 из 647) имели межимпульсный интервал в пределах от 450 до 2000 мс. Увеличение длительности ПД наступало только при более высоких величинах межимпульсных интервалов и находилось в промежутке от 550 до 1000 мс (т. е. при более низких частотах). При меньших интервалах (от 500 до 230 мс), а также при больших (более 1000 мс) антитела не вызывали увеличения длительности ПД и амплитуды сокращений. Проведенные опыты свидетельствуют о том, что блокада кальциевой проводимости значительно уменьшает стимулирующий эффект антител на миокардиальные клетки. Однако эти опыты проводились в условиях нормального функционирования быстрых натриевых каналов, а, как известно [20], во время деполяризации мембраны ионы кальция частично могут поступать в клетку и через натриевый канал, что затрудняет оценить истин-

ный вклад медленных Na действия противосердечны

Рассмотрим эффекты каналов в условиях вызвала. Как видно из рис. 3, клетки предсердия морских сопровождающиеся сокращением мерный внутриклеточно. Амплитуда ПД варьировала. Концентрация ионов Ca^{2+} в ПП клеток миокарда снижена на 60—50 % исходной величины. Спонтанная активность вызывала медленно нарастающие с активацией медленные ответы имели градуальности приложенного стимула к ТТХ (рис. 3, А, в). Вызванные ответы согласуются с данными на предсердии лягушки и млекопитающих.

При добавлении в депонированный из рис. 4, в, уже к 3—5 мин большие из них имели оверлап, а также удлиненное плато ПП. Такие ответы, исчезновение и ингибирование автоматии. Межимпульсный усиливающий эффект антител достигал своего максимума в начале их действия (рис. 4, в). Этого натриевого тока ТТХ тоже не было. Инотропного действия антител не было. Снижение нисходящей фазы реполяризации сокращения. При этом скорость изменения. Следовательно, антитела не снимают стимулирующего эффекта в процессе образования иммунного ответа. Будимой мембране возникает деполяризация Na-Са каналов, то снижается входящего тока доля. Развитие положительной хронотропии клетки. Результаты одного из опытов (рис. 3, Б, в). В таких условиях опытным антигеном (ткань сердечной мышцы) оказывал какой-нибудь вариант ПО (рис. 3, Б, в). В поддерживающий специфические антитела амплитуды и продолжительности сокращений. Правда, эффект антител был уменьшенным по сравнению с калиевой деполяризацией ($p < 0,05$) в введении медленных Na-Са кан-

Обсуждение

Полученный фактически свидетельствует о связи между функционированием миокардиальной клетки и взаимодействием с антителами. Детальное исследование частоты спонтанной активнос-

я ан-
Na-Ca
Na-Ca
ий ак-
сных
261 из
30 мс,



ток при

оль KCl;
юде нор-
действи
— 13 мин
блокады
1 линией.

ок мио-

20 ммоль
гражения;
д во вре-
ми пунк-

только
60 мин
аничес-
гически
согла-

ивность
одно из
Д-600 и
тупало,
ого эф-
мембра-
ульсный
сти ПД
интер-
и более
а так-
личения
иты сви-
ачитель-
иальные
о функ-
[20], во
т посту-
ь истин-

ный вклад медленных Na-Ca каналов в реализацию стимулирующего действия противосердечных антител.

Рассмотрим эффекты антител при «выключении» быстрых натриевых каналов в условиях вызванной и спонтанной активности клеток миокарда. Как видно из рис. 3, 4, в нормальном растворе Тироде мышечные клетки предсердия морской свинки генерируют потенциалы действия, сопровождающиеся сокращениями. Мембранный потенциал покоя, измеренный внутриклеточно в 189 клетках, составлял $-80,3 \pm 4,9$ мВ. Амплитуда ПД варьировала от 93 до 110 мВ. При повышении наружной концентрации ионов калия 15—20 ммоль в омывающем растворе ПП клеток миокарда снижался и к 20—30 мин перфузии составлял 60—50 % исходной величины. При этом овершут ПД полностью угнетался. Спонтанная активность прекращалась. Пороговые импульсы тока вызывали медленно нарастающие регенеративные ответы (РО), связанные с активацией медленных Na-Ca каналов (рис. 3, А, б). Электрические ответы имели градуальную природу, зависели от силы и длительности приложенного стимула (рис. 4, б) и были мало чувствительны к ТТХ (рис. 3, А, в). Вызванные изменения были обратимыми, что хорошо согласуется с данными, полученными другими исследователями на предсердии лягушки и морской свинки [21].

При добавлении в деполяризующий раствор гамма-АКС, как видно из рис. 4, в, уже к 3—5 мин действия антител возникали РО. Самые большие из них имели овершут и напоминали четко выраженное и к тому же удлиненное плато ПД (рис. 4, г). Иногда наблюдались спаренные ответы, исчезновение градуальности и даже кратковременное возникновение автоматии. Мембранный потенциал покоя не изменялся. Усиливающий эффект антител по восстановлению возбудимости сердечных клеток достигал своего максимального значения к 10—15 мин от начала их действия (рис. 4, г—е). Фармакологическая блокада быстрого натриевого тока ТТХ тоже не препятствовала развитию положительного инотропного действия антител. Наступало четко выраженное удлинение нисходящей фазы реполяризации ПД и увеличение амплитуды сокращения. При этом скорость нарастания переднего фронта ПД мало изменялась. Следовательно, инактивация быстрых натриевых каналов не снимает стимулирующего действия антител. Теперь, если же в процессе образования иммунного комплекса антиген — антитело на возбудимой мембране возникают функциональные сдвиги в системе медленных Na-Ca каналов, то совместная блокада как быстрого, так и медленного входящего тока должна уменьшить или даже предотвратить развитие положительной хроноинотропии антител на миокардиальные клетки. Результаты одного из опытов данной серии представлены на рис. 3. В таких условиях опытов предварительно истощенный гомологичным антигеном (ткань сердечной мышцы) иммунный гамма-глобулин не оказывал какого-нибудь выраженного действия на амплитуду и длительность РО (рис. 3, Б, в). В то же время иммунный гамма-глобулин, содержащий специфические антитела, уже к 5 мин вызывал увеличение амплитуды и продолжительности медленных ответов (рис. 3, Б, г—е). Правда, эффект антител на медленные ответы был значительно уменьшенным по сравнению с наблюдаемыми в условиях одной только калиевой деполяризации ($p < 0,02$), т. е. при нормальном функционировании медленных Na-Ca каналов.

Обсуждение результатов исследований

Полученный фактический материал подтверждает положение о связи между функционированием медленных Na-Ca каналов миокардиальной клетки и взаимодействием специфических антител с их мембранными антигенными детерминантами. Действительно, повышение частоты спонтанной активности, длительности плато ПД при действии

антител и связанное с ним прогрессирующее нарастание сократительной активности свидетельствует об усилении медленно входящего тока в клетку во время возбуждения. В то же время уменьшение активирующего действия антител при блокаде Na-Ca каналов доказывает правильность такого утверждения. Основанием для этого является твердо установленный факт, что главной транспортной системой в обеспечении миокардиальной клетки ионами кальция служат медленные Na-Ca каналы [12, 22, 23, 24]. Согласно этим данным, увеличение амплитуды сокращения сердечной мышцы морской свинки, а также скорости его развития является подтверждением того факта, что при действии антител в малых концентрациях в начальный период реакции антиген — антитело наступает перераспределение внутриклеточного содержания ионов кальция в сторону его возрастания. Об этом свидетельствует и увеличение прироста сокращений в лестнице Боудича при действии антител [15]. Хорошим примером в подтверждение сказанного служат полученные нами в опытах кривые зависимости ПД от интервала между импульсами, характеризующие время, за которое проводимость мембраны достигает величины покоя. При действии антител они смещались вверх и влево, свидетельствуя о том, что увеличение амплитуды изометрических сокращений не является результатом повышения частоты ПД, а вызывается усилением медленного Na-Ca тока. В подтверждение к сказанному свидетельствует и повышение частоты спонтанных ПД пейсмейкерных клеток при развитии реакции антиген — антитело, что сопровождалось увеличением скорости медленной диастолической деполяризации и снижением уровня возникновения потенциала действия [15]. Ибо усиление проводимости медленных Na-Ca каналов, как отмечают ряд исследователей [3, 4], имеет основное значение для генерации медленной диастолической деполяризации. Еще нагляднее это подтвердилось в опытах проведенных в условиях «выключения» быстрых натриевых каналов. Так, блокада одних только быстрых натриевых каналов недостаточна для прекращения автоматии и не препятствует развитию на возбудимой мембране реакции антиген — антитело. В условиях же блокады медленного тока хроно- и инотропный эффект противосердечных антител значительно уменьшался. Поскольку, наряду с усилением быстрого натриевого тока в развитии медленной диастолической деполяризации существенная роль принадлежит к усилению проводимости медленного Na-Ca канала, то это позволяет выдвинуть предположение о его вкладе в усиление ритмической активности при действии антител.

Увеличение частоты спонтанной активности возможно и при развитии деполяризации мембраны, т. е. при снижении ее критического уровня. Однако антитела незначительно изменяли уровень мембранного потенциала, чтобы вызвать тем самым ПД. Полученное в наших опытах частотное кардиостимулирующее действие антител не может быть и следствием усиления быстрого Na тока, т. к. ТТХ не препятствовал данному эффекту. Трудно поддается интерпретации и действие антител на систему калиевых каналов и, как следствие этого, уменьшение калиевой проводимости по медленному каналу. Поскольку блокада медленного Na-Ca тока D-600 устраняла эффекты положительной хронотропии антител, то можно предположить, что их кардиостимулирующее действие связано с усилением Na тока по медленному каналу. К тому же D-600 незначительно влияет на Na ток, подавляя его только на 7 % [20]. Кальциевый механизм инотропного действия антител на сердечную мышцу и натриевый — хронотропного косвенно подтверждены тем, что блокада Na-Ca тока уменьшает их эффект, а ингибирование Na каналов существенно не влияет на возрастание частоты.

Следует, однако, отметить, что в период максимального увеличения частоты спонтанных электрических разрядов и механической активности при эффектах антител, наряду с усилением медленного Na-Ca то-

ка, возможны и дополнительные ионами кальция. Это предполагает наличие в клетке ионную систему. Реализация Первой — это непосредственная система, второй — связанная с цАМФ через белок-предположение исходит из леотиды (цАМФ и цГМФ) связанными при активации есть данные о том, что при рецепторами происходит активация аденилциклазы, что ведет к цАМФ и позволяет большому количеству кальция поступить в клетку из внутриклеточных запасов и только увеличением его выхода из клетки. Данный механизм и состоит в том, что цАМФ и цГМФ наблюдаемое нами в опытах на мышце при действии антител является результатом увеличения частоты ПД. Однако роль цАМФ запасов кальция, возможна (не более 2—5 мин). Это вытекает из того, что антител уменьшаются, выражающаяся в пролонгации под влиянием цАМФ скорости, чем скорость укорочен.

Второй возможный механизм поступления ионов кальция в клетку (в эффектах аденоми антиген — антитело) на основании того, что специфическое действие антител приводит к уменьшению хронотропии. Его действие можно с Гистамином к тому же и является образованием иммунного комплекса.

Однако действие антител приводит к столь необходимым для жизни только в короткий промежуток времени опытов свидетельствуют о бо- активности, достигающей 20-кратной.

В последние годы появились предположения о том, что особенно, антинейронных натриевых каналов. Однако в условиях «выключения» натриевых каналов антител не только не оказывало никакого влияния, но и становилось особенно отчетливо.

Следовательно, и эти результаты свидетельствуют о том, что специфические антитела в малых концентрациях (не более 30 мин), вызывают уменьшение частоты сокращений клеток миокарда Na каналов. Не исключена возможность того, что увеличение скорости работы натриевых каналов [8], приводит к повышению скорости связывания кальция и оказыва-

ка, возможны и дополнительные резервы обогащения клеточных запасов ионами кальция. Это прежде всего его увеличение через аденилциклазную систему. Реализация такого эффекта возможна двумя путями. Первый — это непосредственное действие антител на аденилциклазную систему, второй — связан с эффектами биологически активных веществ на цАМФ через бета-адренорецепторную систему. Так первое предположение исходит из того, что ионы кальция и циклические нуклеотиды (цАМФ и цГМФ) являются почти универсальными и взаимосвязанными при активации сократительного акта [5, 16]. Кроме того, есть данные о том, что при взаимодействии антител с клеточными рецепторами происходит активация связанного с мембраной энзима — аденилциклазы, что ведет к увеличению внутриклеточной концентрации цАМФ и позволяет большему, чем в обычных условиях, количеству кальция поступить в клетку во время возбуждения [10]. Обогащение внутриклеточных запасов ионами кальция может быть обусловлено не только увеличением его поступления в клетку, но и уменьшением его выхода из клетки. Данный механизм опосредован через элементы СПР и митохондрии и состоит в стимуляции захвата кальция этими структурами в присутствии цАМФ [17]. Подтверждением этого может служить наблюдаемое нами в опытах проявление феномена «отдачи» в сердечной мышце при действии антител. Как утверждает Нидергерке Р. [19], облегчение является результатом накопления кальция во внутриклеточных депо. Однако роль цАМФ, как активатора в увеличении клеточных запасов кальция, возможна только в первые минуты действия антител (не более 2—5 мин). Это вызвано тем, что спустя 3—5 мин после действия антител уменьшается скорость расслабления сердечной мышцы, выражающаяся в пролонгировании общего сокращения. В то же время, под влиянием цАМФ скорость расслабления увеличивается в большей мере, чем скорость укорочения [24].

Второй возможный механизм или дополнительный путь в обогащении поступления ионов кальция в клетку при иммунном воздействии состоит в эффектах адреномиметиков (высвобождающихся при реакции антиген — антитело) на бета-рецепторы. Данное предположение следует из того, что специфический блокатор бета-рецепторов — индерал приводил к уменьшению хронотропного эффекта антикардиальных антител. Его действие можно объяснить антигистаминным эффектом [9]. Гистамин к тому же и является регулятором выхода норадреналина при образовании иммунного комплекса антиген — антитело.

Однако действие приведенных регуляторных механизмов в обеспечении столь необходимых для сокращения ионов кальция возможны только в короткий промежуток времени (2—5 мин). Результаты наших опытов свидетельствуют о более длительной стимуляции механической активности, достигающей 20—30 мин от начала действия антител.

В последние годы появился ряд работ [6, 7, 11], в которых высказываются предположения о том, что при действии антикардиальных и, особенно, антинейрональных антител затрагивается система быстрых натриевых каналов. Однако результаты наших опытов, проведенных в условиях «выключения» натриевых каналов, показали, что действие специфических антител не только не ослаблялось на РО, но наоборот, становилось особенно отчетливым.

Следовательно, и эти результаты делают очевидным тот факт, что специфические антитела в малых концентрациях и в начальный период действия (не более 30 мин), восстанавливают возбудимость в деполяризованных калием сердечных волокнах увеличением кальциевой проницаемости клеток миокарда в результате активации медленных Na-Ca каналов. Не исключена возможность и эффектов антител на замедление скорости работы натриевого насоса, что, по данным Р. В. Гнилько [8], приводит к повышению концентрации ионов натрия вблизи мест связывания кальция и оказывает тем самым влияние на эффективность

высвобождения его из мест связывания. Это увеличивает его приток к миофибриллярному аппарату, повышая силу развиваемого напряжения в сердечной мышце. Мы не исключаем и роли данного механизма, т. к. антитела полученные ко всей «массе» мембранных структур и клеточных органелл, не могут иметь одну точку приложения. Возможно их несколько, но ведущей в данный период цитотоксической реакции, судя по нашим результатам, есть одна — изменение функционального состояния именно тех белковых структур клеточных мембран под влиянием противосердечных антител, которые ответственны за поступление ионов кальция в клетку. Это наглядно подтверждается современными представлениями о роли медленного тока в активации сокращения в сердечной мышце [12, 22, 23].

В заключение необходимо отметить и реакцию сердечных клеток на введение неиммунного гамма-глобулина. Причина здесь, по-видимому, связана с наличием в гамма-НКС аутоантител и антител, выработанных при жизни животных против антигенов стафилококковой инфекции. Эти антитела, как известно [13], могут фиксироваться на сердечной ткани и вызывать соответственно ее функциональные изменения. Уменьшение эффектов гамма-НКС после истощения антигенами сердечной мышцы и гемолитическим стрептококком свидетельствует о правильности такого предположения.

Таким образом, взаимодействие антител в начальный период развития реакции антиген — антитело на клеточной мембране миокардиальных клеток приводит к активации медленных Na-Ca каналов и как следствие к развитию положительного хроно- и инотропного эффекта. Развитию данной реакции не препятствует блокада бета-рецепторов и быстрых натриевых каналов. Ингибирование же медленного Na-Ca тока уменьшает развитие активирующего действия противосердечных антител на электрическую и механическую активность сердечной мышцы. Это делает правомочным предположение о роли медленных Na-Ca каналов возбудимой мембраны миокардиальных клеток в развитии иммунологической реакции антиген — антитело и реализации эффектов положительной хроноинотропии противосердечных антител.

N. V. Ilchevich, R. I. Yanchy

ON THE MECHANISM OF ACTIVATING ANTICARDIAC ANTIBODY EFFECT ON ELECTRICAL AND CONTRACTILE ACTIVITY OF MYOCARDIAL CELLS

Summary

Effect of specific antibodies (0.1-1 mg protein/ml) under conditions of selective blockade of the myocardial cell ion-transport systems is studied in experiments on isolated guinea pig auricula atrii with employment of intracellular recording of action potential and isometric voltage. It is stated that the blockade of fast sodium channels and β -adrenergic receptors does not hinder development of positive chronoinotropy of antibodies, whereas inhibition of slow Na-Ca channels diminishes development of their activating effect on the myocardium. A conclusion is made that anticardiac antibodies in the initial period of development of the immunological antigen-antibody reaction bring about an activation of slow Na-Ca channels.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Список литературы

1. Алексеева И. Н. Противопеченочные антитела и функции печени. — Киев: Наук. думка, 1980. — 181 с.
2. Аничков С. В. Избирательное действие медиаторных средств. — Л.: Медицина, 1974. — 295 с.
3. Бабский Е. Б., Бердяев С. Ю., Хорунжий В. А. Действие ионов марганца на автоматическую активность водителей ритма сердца лягушки. — Докл. АН СССР, 1973, 209, № 4, с. 996—999.

4. Бердяев С. Ю. Особенности синусного узла. — В кн.: Психодистонная система. Киев: Наук. думка, 1976, с. 48—58.
5. Волленбергер А., Виль Х., и ее отношение к роли кальция общей и клинической думка, 1976, с. 48—58.
6. Ворновицкий Е. Г., Беляев потенциал действия в периферии. биологии и медицины. Таллин: Б. и.
7. Гайнутдинов Х. Л. Исследования нейрональных мембран. Таллин: Б. и.
8. Гнитоко Р. В., Изаков В. Л. Личность лягушки методом с. 917—924.
9. Гуштин И. С. Анафилактический шок. — 1975. — 175 с.
10. Гуштин И. С. Немедленная реакция на электрическую стимуляцию. — Бюл. АН СССР, 1975, № 1, с. 175—176.
11. Ходоров Б. И., Ворновицкий Е. Г. Антитела на электрическую стимуляцию. — Бюл. АН СССР, 1975, № 1, с. 175—176.
12. Ходоров Б. И. Общая физиология. Таллин: Б. и.
13. Чумаков В. И., Сведлина Л. В. Развитие дистрофического процесса в сердечной мышце. Таллин: Б. и.
14. Янций Р. И. Роль специфического действия в сердечной мышце. — Бюл. АН СССР, 1975, № 1, с. 175—176.
15. Янций Р. И. Электрофизиология. Таллин: Б. и.
16. Hicks M. J., Shigekawa M., monophosphate-dependent protein kinase. — Circulation, 1975, 52, 10, 1000—1005.
17. Kirchberger M. A., Tada M., sphate-dependent protein kinase. — J. Mol. Cell. Cardiol., 1975, 15, 1, 1—10.
18. Kohlhardt M., Haastert H. P., mammalian myocardium fibre. — J. Mol. Cell. Cardiol., 1975, 15, 1, 1—10.
19. Niedrigerke R. Movements of the heart. — (Lond.), 1963, 167, N 3, p. 551—552.
20. Rasmussen H., Godman D. L. in cell activation. — Physiol. Rev., 1971, 51, 3, 365—384.
21. Reuter H. The dependence of calcium concentration. — J. Physiol., 1979, 291, 1, 1—10.
22. Reuter H. Divalent cations in the heart. — J. Physiol., 1979, 291, 1, 1—10.
23. Reuter H. Properties of two types of calcium channels in the heart. — J. Physiol., 1979, 291, 1, 1—10.
24. Thyrum P. T. Inotropic stimulation of the heart. — J. Pharmacol. and Ther., 1979, 225, 1, 1—10.

Отдел иммунологии и цитотоксикологии
Института физиологии им. А. А. Богomoletz

4. Бердяев С. Ю. Особенности ионной проницаемости мембран клеток—пейсмекеров синусного узла.— В кн.: Проблемы общей и клинической физиологии сердечно-сосудистой системы. Киев: Наук. думка, 1976, с. 7—15.
5. Волленбергер А., Виль Х., Краузе Е. Г. Система циклической АМФ-протеинкиназы и ее отношение к роли кальция в регуляции сердечного сокращения.— В кн.: Проблемы общей и клинической физиологии сердечно-сосудистой системы. Киев: Наук. думка, 1976, с. 48—58.
6. Ворновицкий Е. Г., Беляев В. И. Влияние гетерологических антител на генерацию потенциала действия в перехвате Ранвье изолированного нервного волокна.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1972, № 9, с. 16—18.
7. Гайнутдинов Х. Л. Исследование роли нервноспецифических белков в функционировании нейрональных мембран: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Л., 1978.—18 с.
8. Гинько Р. В., Изаков В. Я., Орлов Р. С. Исследование активности миокарда желудочка лягушки методом фиксации тока.— Физиол. журн. СССР, 1972, 58, № 6, с. 917—924.
9. Гушин И. С. Анафилаксия гладкой и сердечной мускулатуры.— М.: Медицина, 1975.—175 с.
10. Гушин И. С. Немедленная аллергия клетки.— М.: Медицина, 1976.—174 с.
11. Ходоров Б. И., Ворновицкий Е. Г., Колкер И. И. и др. Цитотоксическое действие антител на электрическую активность миокарда в отсутствие комплемента; защитный эффект гепарина.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1971, № 10, с. 17—20.
12. Ходоров Б. И. Общая физиология возбудимых мембран.— М.: Наука, 1975.—405 с.
13. Чумаков В. И., Сведлина Л. С. К вопросу о роли аутоиммунного компонента в развитии дистрофического процесса.— В кн.: Проблемы аутоаллергии в практической медицине. Таллин: Б. и., 1975, с. 78—79.
14. Янций Р. И. Роль специфических антител в процессе электромеханического сопряжения в сердечной мышце.— Физиол. журн., 1978, 24, № 5, с. 779—787.
15. Янций Р. И. Электрофизиологическое исследование действия антикардиальных антител на сердечную мышцу: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Киев, 1980.—21 с.
16. Hicks M. J., Shigekawa M., Katz A. M. Mechanism by which cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase stimulates calcium transport in cardiac sarcoplasmic reticulum.— Circulat. Res., 1979, 44, N 3, p. 384—391.
17. Kirchberger M. A., Tada M., Repke D. L., Katz A. Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase stimulation of calcium uptake by canine cardiac microsomes.— J. Mol. Cell. Cardiol., 1972, 4, N 6, p. 673—280.
18. Kohlhardt M., Haastert H. P., Krause H. Evidence of nospecificity of the Ca channel in mammalian myocardium fibre membranes.— Pflügers Arch., 1973, 342, N 2, p. 125—136.
19. Niedergerke R. Movements of Ca in beating ventricles of frog heart.— J. Physiol. (Lond.), 1963, 167, N 3, p. 551—580.
20. Rasmussen H., Godman D. B. Relationships between calcium and cyclic nucleotides in cell activation.— Physiol. Res., 1977, 57, N 3, p. 421—448.
21. Reuter H. The dependence of slow current in Purkinje fibres on the extracellular calcium concentration.— J. Physiol., 1967, 192, N 2, p. 479—492.
22. Reuter H. Divalent cations as charge carriers in excitable membranes.— Prog. Biophys. and Mol. Biol., 1973, 26, N 1, p. 1—43.
23. Reuter H. Properties of two inward membrane currents in the heart.— Ann. Rev. Physiol., 1979, 41, N 1228, p. 413—424.
24. Thyrum P. T. Inotropic stimulus and systolic calcium flow in depolarized guinea-pig atria.— J. Pharmacol. and Exp. Ther., 1974, 188, N 2, p. 166—179.

Отдел иммунологии и цитотоксических сывороток
Института физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
28.1 1982 г.