

ВЛИЯНИЕ АНТИМЕМБРАННЫХ АНТИТЕЛ НА ТРАНСМЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПОКОЯ И ПОТЕНЦИАЛ ДЕЙСТВИЯ КАРДИОМИОЦИТОВ

Применение в практике биологических исследований методов внутриклеточного микроэлектродного отведения электрической активности и диализа, разработанных П. Г. Костюком [8], важно не только для выяснения тонких механизмов в функционировании клеточных мембран, но и для познания и расшифровки начальных молекулярных их изменений при различных воздействиях, находящихся за пределами разрешающей способности других методических приемов. Внедрение этих методических подходов в иммунологию с целью выяснения интимных взаимодействий антител с антигеном (клеточные мембраны) привело к появлению нового направления — мембранной иммунонейрофизиологии [23].

Необходимость такого изучения возникла с расширением наших знаний о механизме образования антител, развитием практической иммунологии, а также в связи с запросами клинической и экспериментальной медицины по изучению ряда заболеваний, патогенез которых определенным образом связан с аутоиммунными процессами и появлением в крови циркулирующих антител.

При исследовании действия антител, на возбудимые и невозбудимые клеточные образования было показано, что их взаимодействие с антигенной детерминантой клетки приводит к изменению функционального состояния, проявляющегося в нарушении ионной проницаемости и энергозависимого активного транспорта [3, 23]. Выяснение механизмов взаимодействия антител с антигеном лежит в основе целенаправленного изучения иммунной реакции и поиска эффективных средств в ее управлении. Показано [3], что гиперполяризация клеточной мембраны, а также увеличение концентрации Ca^{++} , гепарина [14], уменьшают или даже предотвращают развитие угнетающего действия антител.

Антикардиальные антитела при образовании иммунного комплекса на возбудимой мембране изменяют ее проницаемость, приводят к разобщению в процессах электромеханического сопряжения [17], оказывают влияние на кардио- и гемодинамику [11], нарушают барьерно-транспортные свойства, ферментативные и биохимические процессы [10].

Продолжая начатые исследования, направленные на выяснение механизма действия противосердечных антител на электрофизиологические свойства кардиомиоцитов [6], нами было показано, что в начальный период развития иммунной реакции антиген — антитело на возбудимой мембране кардиомиоцита затрагиваются мембранные ионно-транспортные системы, что выражается в активации электрической и сократительной активности сердечной мышцы.

Мы изучали развитие положительного и отрицательного хронотропного действия мембранных антикардиальных антител, а также их влияние на динамику накопления внутриклеточных депо саркоплазматического ретикулаума ионами кальция.

Методика. В опытах использовали изолированные спонтанно-активное правое и не обладающее автоматией левое ушко предсердий морских свинок. Для отведения электрической активности, трансмембранных потенциалов действия (ПД) применяли технику микроэлектродного отведения [8], с помощью «плавающих» стеклянных электродов с сопротивлением кончика 30—40 мОм. Сокращения регистрировали механоэлектрическим преобразователем 6MX1C в условиях, приближенных к изометрическим. При использовании искусственной стимуляции (левое ушко предсердия) наносили серии импульсов (по

15—45 импульсов) с частотой следования в серии 1—3 Гц с интервалом между сериями 3 мин. Препараты стимулировали сверхпороговыми прямоугольными импульсами тока отрицательной полярности, длительностью 5 мс, амплитудой, равной 2 реобазам. В течение опыта ушко перфузировали раствором Тироде, оксигенированным карбогеном. Температура раствора была в пределах 35—36 °С, pH 7,3—7,4.

Продуцентами для получения антикардиальных антител, специфических к плазматической мембране кардиомиоцитов морских свинок и крыс, служили кролики, которых иммунизировали сарколеммой, выделенной из миокардиальных клеток с применением полного адьюванта Фрейнда. Идентификацию и чистоту осадка выделенной сарколеммы миоцитов, используемой для иммунизации, определяли по АТФазной активности и контролировали электронномикроскопически. Иммунные сыворотки обладали высокой видо- и органной специфичностью и реагировали в реакциях связывания компонента (РСК) в разведении 1:640—1:800, а в реакции коагглютинации (РПК) с гомологичным антигеном в разведении по белку до 3—10 мкг. Из сыворотки выделяли общую гамма-глобулиновую фракцию путем осаждения сернокислым аммонием. В контрольных опытах использовали неиммунный гамма-глобулин, выделенный из интактных кроликов (γ -НКС), а также иммунный, но предварительно истощенный гомологичным антигеном и антигеном стафилококковой инфекции (5- β -гемолитический стрептококк группы А). Концентрация гамма-глобулина в тестирующем растворе составляла 0,1—0,5 мг белка/мл (активирующая доза) и 7—10 мг белка/мл (угнетающая доза).

В одной из серий опытов для выяснения действия антител на входящий ионный ток через мембрану одиночных сердечных клеток использован метод фиксации потенциала. Схема установки для «микроотведения» ионных токов описана [4]. Одиночные миоциты желудочков крыс выделяли по [24]. Входящий ток регистрировали от участков, составляющих 1/200—1/300 часть общей поверхности клеточной мембраны. Регистрацию входящего ионного тока производили после достижения постоянной его амплитуды в ответ на один и тот же тестирующий импульс с амплитудой 60 мВ и длительностью 10 мс. Величина поддерживаемого потенциала составляла —50 мВ. В опытах использовали только одну, стимулирующую концентрацию антител, 5 % раствор иммунного гамма-глобулина, что соответствует 0,1 мг белка/мл. Полученные данные обработаны статистически и оценены по критерию Стьюдента с применением 5 % уровня значимости ($p < 0,05$).

Результаты. Как видно из рис. 1, А, а, в нормальном растворе Тироде нанесение серии ритмических стимулов на левое ушко предсердия морской свинки вызывало четко выраженную бифазную лестницу Боудича. Добавление в омывающий раствор Тироде иммунного гамма-глобулина (0,1—0,5 мг белка/мл) приводило к изменению механической активности миокардиальных клеток предсердия морской свинки. На рис. 1 видно, что к 10 мин от начала действия антител прирост сокращений в бифазной лестнице как первого, так и последнего составлял соответственно $171 \pm 10,1$ и $142,5 \pm 11,2$ % ($n=11$, $p < 0,01$) их начальной величины. В данный промежуток времени в ряде опытов (4 из 11) наступало «ускользание» частоты разрядов от навязываемого ритма и даже возникновение автоматии. Амплитуда сокращений при этом повышалась в 2—3 раза.

На рис. 1, Б приведены кривые (1, 2, 3) описанных изменений механической активности в бифазной лестнице Боудича. Из сопоставления характера изменений прироста сокращений в ритмическом ряду видно, что в первые минуты действия антител наблюдается четко выраженный положительный инотропный эффект.

Следует отметить, что стимулирующее действие антител продолжалось от 15 до 20 мин. Затем, несмотря на дальнейшую аппликацию антителами, наступало постепенное уменьшение как амплитуды первого сокращения в лестнице, так и особенно последующих. Так, к 40 мин перфузии сердечной мышцы раствором с антителами в концентрации 0,1—0,5 мг/мл амплитуда первого сокращения составляла $88,4 \pm 17,1$ % ($n=6$, $p < 0,05$) исходной величины, а последнего соответственно $53,5 \pm 10,8$ % ($n=6$, $p < 0,01$). Исключение из перфузирующего раствора иммунного гамма-глобулина не всегда приводило к восстановлению механической активности. Зачастую после временного увеличения при-

роста сокращений в нормальной питательной среде развивалось новое прогрессирующее угнетение.

Увеличение концентрации иммунного гамма-глобулина в омывающем растворе до 7—10 мг/мл вызывало резкое угнетение механической активности сердечных клеток под воздействием специфических антител (рис. 2, А, Б). При этом латентный период цитотоксического действия антител уменьшался в 1,5—2 раза (по сравнению с таковым для малой концентрации антител) и составлял 1,5—2 мин. Кроме то-

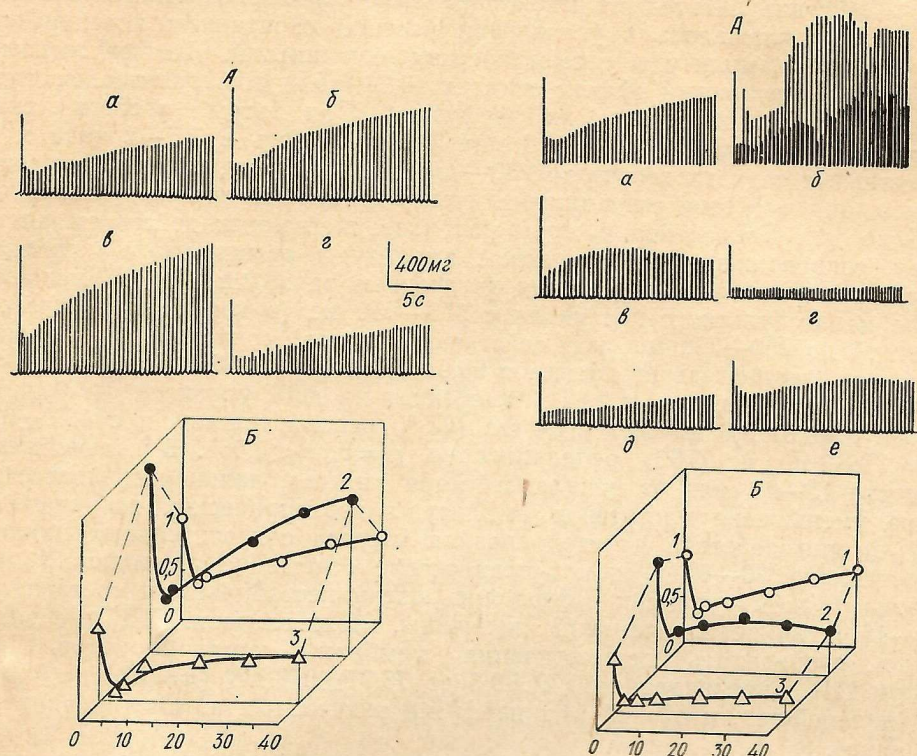


Рис. 1. Эффекты антител на изометрическое сокращение сердечных волокон левого ушка предсердия морской свинки.

А: а — вызванная ритмическая активность в растворе Тироде при частоте стимуляции 3 Гц; б, в, г — 6, 15 и 45 мин после начала действия антител (1,5 мг/мл). Б: 1 — изменение амплитуды сокращений в процессе ритмической стимуляции препаратов в растворе Тироде; 2 и 3 — через 15 и 45 мин после перфузии антителами. На графике все амплитуды приведены по отношению к первому и последующим сокращениям препарата в растворе Тироде (1), принятым за единицу. По горизонтали — количество стимулов, по вертикали — амплитуда изометрических сокращений.

Рис. 2. Действие антител на изометрическое сокращение сердечных волокон левого ушка предсердий морской свинки.

А: а — вызванные ритмические сокращения в растворе Тироде; б, в, г — через 6, 15 и 45 мин после начала действия антител (10 мг/мл); д — 30 мин после исключения из омывающего раствора антител; е — восстанавливающие эффекты ионов кальция (4,5 ммоль). Частота стимуляции 3 Гц, длительность стимулов — 5 мс, интервал между сериями (45 стимулов) — 5 мин. Остальные обозначения см. рис. 1.

го, первоначальная фаза стимуляции была менее выраженной и длилась не более 4—8 мин. В дальнейшем, спустя 9—12 мин от начала перфузии раствором, содержащим иммунный гамма-глобулин, развивался отрицательный инотропный эффект. Характерно, что к 15—20 мин действия антител после стационарного установления прироста сокращения в ритмическом ряду в 30 % опытов (3 и 9) наблюдалось временное проявление феномена «отрицательной лестницы» (рис. 2, А, в; Б, 2). В дальнейшем происходило незначительное увеличение прироста сокращений, и вместо «отрицательной лестницы» наступало ее сглаживание или стабилизация. Амплитуда первого сокращения, как видно из рис. 2, Б, 3, к 40 мин аппликации отчетливо уменьшалась и составляла $61,4 \pm 8,2\%$ ($n=9$, $p<0,01$) исходной величины. Особенно значительный угнетающий эффект антител наблюдался на последу-

ющих сокращениях в ритмическом ряду. При этом сокращение составляло только $22,7 \pm 12,4\%$ ($n=9$, $p<0,01$) их первоначальной величины.

Следует отметить, что при такой постановке эксперимента развившийся цитотоксический эффект отрицательного инотропного действия антител был необратим. Только лишь повышение Ca^{++} в омывающем растворе в 2—2,5 раза, как показано на рис. 2, А, е, приводило к восстановлению амплитуды сократительных ответов.

Действие антител на миокардиальные клетки, обладающие автоматией, заключалось в увеличении частоты спонтанных потенциалов действия и амплитуды изометрических сокращений. Положительный хроно- и инотропный эффект антител ($0,1—0,5$ мг/мл) развивался спустя 3—5 мин от начала их перфузии. При этом частота ритмической активности к 10—15 мин увеличивалась в 1,5—2 раза и в отдельных случаях достигала 280—350 циклов в мин, тогда как в норме и при действии неиммунного гамма-глобулина она колебалась от 65 до 140. Увеличение частоты разрядов, вызванных действием антител, сопровождалось увеличением амплитуды развиваемого напряжения и скорости его нарастания (в среднем на $28,0 \pm 6,0\%$). Уменьшение межимпульсного интервала с 350—450 мс (в нормальной солевой среде) до 260—300 мс (под действием антител) сопровождается удлинением сократительного цикла с $60,5 \pm 9,1$ до $71,4 \pm 10,4$ мс ($n=8$, $p<0,05$), а длительность ПД (измеренная на двух уровнях) увеличивалась с $40,6 \pm 9,6$ до $54,0 \pm 11,4$ мс (30 % реполяризация) и с $48,7 \pm 6,0$ до $72,8 \pm 9,1$ мс (70 % реполяризация, $n=8$, $p<0,05$). В дальнейшем, спустя 15—20 мин от начала действия антител, начиналось постепенное уменьшение частоты и амплитуды изометрических сокращений. К 40 мин действия антител средняя частота сократительных циклов составляла 20—40 в мин. Механические ответы на приходящий импульс к этому времени становились очень нестабильны и составляли 5—15 % их первоначальной величины. Длительность ПД уменьшалась, развивалась деполяризация мембраны кардиомиоцитов. При этом ПП уменьшался с $80,72 \pm 0,8$ до $75,77 \pm 0,7$ мВ ($n=21$, $p<0,01$). В дальнейшем, к 50—60 мин перфузии антителами автоматия прекращалась.

На рис. 3 представлены результаты опытов, полученных при действии антител в концентрации 7—10 мг/мл на амплитуду и частоту сократительных ответов. Из рисунка видно, что фаза положительной хроноинотропии антител на сердечные клетки временно сокращалась и уже к 8—10 мин развивался четко выраженный отрицательный эффект: урежение и нарушение правильности ритма, возникновение аритмий, коэффициент которых увеличивался в 15—30, а иногда в 90—100 раз. Амплитуда сокращений снижалась, становилась непостоянной и сильно зависящей от длительности межимпульсного интервала. На фоне максимального развития угнетающего действия антител реакция клеток на положительное действие катехоламинов сохранялась.

Следует отметить, что развившийся отрицательный инотропный эффект антител был обратим, если отмывание препарата производилось не более чем после 10—20 мин от начала действия антител. Это, по-видимому, связано с еще «непрочной» фиксацией антител на мембране миокардиальных клеток или с незначительными далеко не зашедшими структурными изменениями ее функций.

При исследовании действия антител на пейсмекерные клетки предсердия морской свинки и крысы в период максимального увеличения частоты спонтанных ПД установлено изменение продолжительности медленной диастолической деполяризации (МДП) и скорости ее нарастания. При этом продолжительность МДП уменьшалась с $346 \pm 11,5$ до $192,1 \pm 8,9$ мс, а ее скорость возрастала до 72 против 22 В/с в норме. Уровень порогового потенциала с увеличением частоты заметно снижался. В дальнейшем, при аппликации клеток антителами продолжительность МДП постепенно увеличивалась и к 30—

40 мин уже составляла 700—1400 мс, а ее скорость уменьшалась до 9 В/с. Аналогичный эффект вызывали и антитела в концентрации 7—10 мг белка/мл. Отличие состояло лишь в том, что их угнетающее действие наступало раньше и вызванные изменения были более значительными.

Увеличение частоты спонтанной активности кардиомиоцитов, скорости развития МДП в наших опытах привели к заманчивому предположению, не связана ли данная фаза в действии антител с измене-

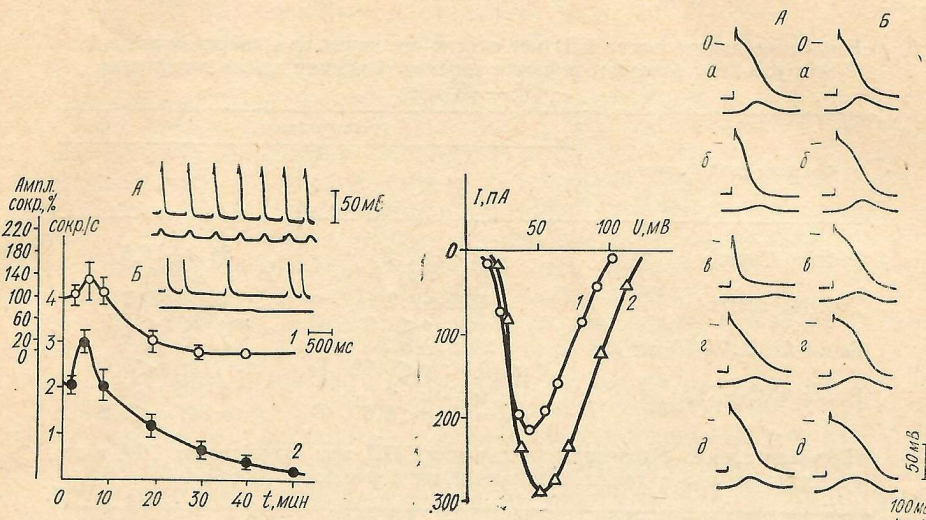


Рис. 3. Влияние антител на частоту спонтанной (2) и амплитуду механической (1) активности правого ушка предсердия свинки.

А — электрическая (верхняя кривая) и механическая активность (нижняя кривая) миокардиальных клеток в нормальном растворе Тироде; Б — соответствует 50 мин перфузии антителами в разведении 7—10 мг/мл.

Рис. 4. Вольт-амперные характеристики для пиковых значений входящего тока одиночного кардиомиоцита крысы.

1 — в инкубационной исходной среде; 2 — на 15 мин действия антител. По горизонтали — потенциалы, отсчитанные от потенциала покоя клетки. Поддерживаемый потенциал — 50 мВ, тестирующий — 60 мВ, длительность 10 мс, частота стимуляции 0,7 Гц.

Рис. 5. Изменение эффектов специфических антител на миокардиальные клетки морской свинки при действии тетраэтиламмония.

А — обратимость цитотоксической реакции антиген — антитело в условиях развивающейся блокады калиевых каналов: а — норма; б, в — соответственно 20 и 50 мин действия антител (10 мг/мл); г — эффект ТЭА (15 ммоль) на фоне цитотоксической реакции антиген — антитело (25 мин регистрации); д — ПД и сокращение после 30 мин отмывания нормальным раствором Тироде. Б — действие антител на сердечные клетки в условиях предварительной инактивации калиевых каналов: а — норма; б, в — 20 и 45 мин действия ТЭА; г, д — 10 и 40 мин аппликации антителами (10 мг/мл) в условиях ингибирования калиевых каналов.

нием натриевых каналов. Для выяснения высказанного предположения в одной из серий опытов, проведенных на одиночных кардиомиоцитах желудочка крысы с применением метода «микроотведения», регистрировали ионные токи через мембрану в условиях фиксации потенциала. Показано, что антимембранные антитела, в концентрации 0,5 мг белка/мл приводят к увеличению амплитуды максимальной величины натриевого тока на 30 %, по сравнению с его исходной величиной. Как видно из рис. 4, это сопровождалось сдвигом вправо по оси потенциалов потенциалозависимых характеристик натриевой проводимости: инактивационной характеристики, а также вольт-амперной кривой.

Представленные результаты исследований, особенно те, в которых наблюдалось развитие угнетающего эффекта антител на электрическую и сократительную активность, приводят к заключению, что их действие связано с уменьшением клеточной проводимости для ионов кальция и, возможно, натрия, играющих главную роль в генезисе ПД. Это не исключает и увеличения проводимости мембраны и для ионов калия, определяющих продолжительность реполяризационной фазы ПД и тем самым к уменьшению их длительности. А это, естественно,

в свою очередь — к уменьшению поступления ионов кальция в клетку во время генерации ПД. Учитывая это, в специальной серии опытов исследовали действие антител на миоциты в условиях блокады калиевых каналов с помощью тетраэтиламмония (ТЭА). Так, ТЭА в концентрации 10—15 ммоль в растворе вызывал брадикардию, сопровождающуюся расширением плато ПД. Однако, как видно из таблицы, результаты, полученные при таких же межимпульсных интервалах, показали, что причиной увеличения длительности ПД является эффект ТЭА.

Изменение длительности ПД (мс) клеток миокарда при действии антител и в условиях блокады калиевых каналов (межимпульсные интервалы 400 — 450 мс)

Факторы воздействия	Реполаризация	
	30 %	70 %
Раствор Тироде	40,06±9,6 n=67	54,0±11,5 n=67
ТЭА (15 ммоль/л)	45,1±2,2 n=82; p<0,2	63,4±5,6 n=82; p<0,1
Гамма-АКС (7—10 мг/мл)	29,83±3,3 n=114; p<0,02	42,33±4,9 n=114; p<0,05
Гамма-АКС+ТЭА	41,2±7,4 n=54; p<0,6	64,02±6,9 n=54; p<0,2

Примечание. Изменения длительности ПД при воздействиях ТЭА и антител сравнивали с данными, полученными в растворе Тироде.

Уменьшение выходящего калиевого тока при действии ТЭА на фоне развившейся блокады в процессах электромеханического сопряжения в миокардиальных клетках (под воздействием антител) приводило к восстановлению исходной длины ПД и сокращений (рис. 5, А). Наблюдаемый антагонизм между угнетающим действием антител (7—10 мг/мл), с одной стороны, и блокадой калиевого тока, с другой — развивался постепенно, начиная после 10—15 мин экспозиции. Восстановление нарушенного разобщения между электрическим возбуждением и сокращением наступало уже через 20—30 мин. К этому времени наблюдалось и частично восстановление ПД, однако мембрана сердечных клеток оставалась все же деполяризованной на 2—4 мВ, несмотря на продолжительное время экспозиции (более 1 ч). Интересно, что в условиях предварительной блокады калиевых каналов ТЭА анти-мембранные антитела не оказывали угнетающего влияния на кардио-миоциты (рис. 5, Б).

Следует обратить внимание на тот факт, что ТЭА не оказывал восстанавливающего действия в том случае, если разобщение электромеханического сопряжения вызвано не специфическими антителами, а действием блокатора медленного натрий-кальциевого тока (соединением Д-600).

Обсуждение. Хорошо известно, что амплитуда сокращений и скорость их нарастания в сердечной мышце определяются главным образом концентрацией свободных ионов кальция в области миофибрилярного аппарата и находятся в прямой зависимости от продолжительности реполяризационной фазы плато потенциала действия. Действительно, как свидетельствуют результаты наших опытов, увеличение амплитуды сокращения сердечной мышцы морской свинки, а также скорости его развития являются подтверждением того факта, что при действии антител в малых концентрациях (как и в больших, но в начальный период) наступает перераспределение внутриклеточного содержания ионов кальция в сторону его возрастания. Это подтверждается и увеличением прироста сокращений как первого, так и последнего в ритмическом ряду лестницы Боудича. Поскольку главной

транспортной системой в обеспечении саркоплазмы ионами кальция и его пополнении во время сокращения является система медленных натрий-кальциевых каналов [15, 25], то дополнительное увеличение прироста связано с их активацией. Однако это не исключает и других путей, по которым возможно пополнение запасов ионов Са, ответственных за активацию контрактильного аппарата, например, через натрий-кальциевый обменный механизм. Обменная Na—Са диффузия недостаточно эффективна, как указывают исследователи [9], для обеспечения прироста сокращений в ритмическом ряду. Есть основания полагать [9, 12], что усиление сокращений в процессе ритмического сокращения связано с пополнением запасов внутриклеточных резервуаров ионами Са во время плато ПД. Это представление о потенциало-зависимости «лестницы», как одного из регуляторов ее контроля, хорошо согласуется с тем, что действие фармакологических веществ (Д-600, кадмий, марганец) блокируют вход кальция в клетку, приводит к развитию отрицательного инотропного эффекта — «лестница вниз». Если исходить из современных представлений о механизмах генерации ПД в клетках и о электромеханическом сопряжении в них, то, естественно, можно предположить, что эффекты положительной хроноинотропии антител обусловлены активацией медленных Na—Са каналов. Увеличение длительности ПД, амплитуды и скорости изометрического напряжения при действии антител свидетельствует об усилении медленного входящего тока в клетку во время возбуждения. Об этом указывают и результаты опытов, выполненных нами с применением раздельного блокирования ионно-транспортных систем [6]. Снижение кальциевой проводимости путем ингибирования Na—Са каналов предотвращает эффект положительной инотропии антител. Хорошим примером в подтверждение сказанного являются опыты с регистрацией ПД пейсмекерных клеток, где повышение частоты спонтанной активности при развитии реакции антиген — антитело сопровождалось увеличением скорости медленной диастолической деполяризации и снижением критического уровня возникновения потенциалов. Данный механизм, как известно [1], связан с протеканием через мембрану ионов Na, Са и К. Еще более наглядно это подтвердилось в опытах с регистрацией входящего тока. В этих условиях опыта антитела вызывали усиление входящего тока. Вызываемый эффект можно было бы объяснить на основе компенсации антителами отрицательного поверхностного заряда мембраны кардиомиоцитов. Так, антитела, фиксируясь на мембранной антигенной детерминанте и имея положительный заряд, приближающийся к заряду двухвалентных катионов, уменьшают тем самым эффективный (отрицательный в нормальных условиях) заряд мембраны и ее поверхностный потенциал. Поскольку в нормальных условиях поддерживаемый потенциал не соответствовал максимуму инактивационной характеристики, то сдвиг последней в сторону более положительных потенциалов при действии антител должен приводить к увеличению максимального числа натриевых каналов, способных активироваться при деполяризации.

Следовательно, полученные данные о кардиостимулирующем действии антител могут быть объяснены в рамках представления о способности последних активировать входящий ток клеточных мембран сердечных клеток.

Если исходить из того, что эффект положительной хроноинотропии антимембранных антител связан с активацией Na и Na—Са каналов и усилением тем самым входящего тока, то механизм их угнетающего действия на электрическую и сократительную активность труден в интерпретации. Прежде всего это вытекает из результатов по тормозящему влиянию блокатора калиевого тока тетраэтиламмония на развитие цитотоксической реакции.

Естественно, возникает логическое предположение, что если стимуляция сократительной активности при действии антител в низких концентрациях связана с усилением входящего тока, то, напротив, уг-

нетение механической активности можно было бы связать с его блокадой. Ибо ионам кальция принадлежит главенствующая роль в сопряжении между возбуждением клеточной мембраны и активацией сократительных белков. Однако, если бы уменьшение амплитуды сокращений, скорости их развития и нарушение электромеханического сопряжения было связано с непосредственным блокирующим действием антител на кальциевый ток, то, как известно [9, 12], должен был бы наблюдаться в данном случае феномен «отрицательной» лестницы Боудича. Такого эффекта антитела не вызывали, хотя снижение прироста сокращений при ритмической стимуляции сердечной мышцы при их действии свидетельствует об уменьшении поступления ионов Са в клетку во время возбуждения. Однако связать это с прямым ингибированием кальциевого тока трудно. И вот почему.

Так, блокада кальциевого тока соединением Д-600 [5], в отличие от действия антител, не влияет на амплитуду ПД и величину ПП. Кроме того, катехоламины, реализующие свой инотропный эффект посредством усиления входящего кальциевого тока в условиях ингибирования медленных каналов были бездейственны [12]. В то же время при цитотоксическом действии антител на клетки миокарда эффект норадреналина, хотя и был уменьшен, но все же сохранялся. Из всего изложенного ясно, что отрицательный инотропный эффект антител не является результатом прямого ингибирующего действия их на входящий кальциевый ток. Поскольку угнетающее действие противосердечных антител устраняется ТЭА, то можно было бы предположить, что антитела вызывают активацию быстрого компонента калиевого тока или же повышают проницаемость мембраны к ионам калия. Однако ТЭА подавляет только поздний калиевый ток и не влияет на калиевую проницаемость [19].

Заманчивым, на наш взгляд, является утверждение о том, что незначительное уменьшение медленного тока [20] «делает» более эффективным калиевый ток в механизме укорочения деполяризации мембраны сердечных клеток. В пользу такого предположения свидетельствуют опыты, в которых наблюдалось уменьшение скорости развития медленной диастолической деполяризации при угнетающем действии антител на пейсмекерные клетки. Уменьшение же скорости пейсмекерного потенциала связано с активацией выходящего калиевого тока. Это еще раз наглядно подтверждает высказанное предположение о том, что в основе угнетающего действия антител лежит активация калиевых каналов. Данный вывод хорошо согласуется и с результатами, полученными при действии ТЭА. Последний, как известно [26], инактивирует калиевые каналы, тогда как антитела в больших концентрациях (а также и малых, но при длительном воздействии), по нашим результатам, вызывают их активацию. В этой антагонистической «борьбе» за клеточные рецепторы калиевых каналов, по-видимому, и заключается предотвращение ТЭА цитотропного действия специфических антител на миокардиальные клетки. Такое предположение справедливо и потому, что активация любого задержанного выходящего тока (по данным Хаусверса) может играть конструктивную роль в генезисе пейсмекерного потенциала [20]. Следовательно, антитела могут уменьшать длительность ПД и, таким образом, вызывать угнетение медленного входящего тока (и естественно и сокращений) как непрямым путем (через активацию калиевых каналов задержанного выпрямления), так и оказывать незначительное непосредственно прямое действие на медленный ток, переносимый ионами Na и Са. Это подтверждают результаты наших опытов об уменьшении инотропного эффекта норадреналина при развившейся цитотоксической реакции иммунного глобулина. Возможно, что в этом и состоит механизм действия антител на процессы электромеханического сопряжения в сердечной мышце.

Если согласиться со сказанным, то возникает новый вопрос — какова причина развивающейся деполяризации сердечных клеток при

действию антител? Обнаруженное нами увеличение внутриклеточной концентрации ионов натрия в миокардиальных клетках после воздействия специфических антител свидетельствует о повышении проницаемости мембраны для данного иона. Уменьшение же уровня деполяризации (в случае применения ТЭА на фоне действия антител) или предотвращение ее развития при блокаде калиевых каналов остается невыясненным. Если это связано с повышением проницаемости мембраны для ионов натрия, то как может ТЭА препятствовать развитию данной реакции? Как известно [22], ТЭА влияет только лишь на калиевую проводимость и не оказывает никакого действия на натриевую. Можно было бы думать, что ТЭА обладает и антикомплементарным действием, так как последний в присутствии антител оказывает литическое действие на клеточные структуры, повышает проводимость мембраны [21].

Заслуживает особого внимания действие ионов кальция по восстановлению нарушенного при действии антител электромеханического сопряжения. По-видимому, как утверждают некоторые исследователи [3], эффекты кальция в данном случае связаны с его антагонистическим действием на фиксированные антитела. Так, если принять во внимание тот факт, что при развитии реакции антиген — антитело изменяется конформационное состояние антигена [21], то восстанавливающее действие ионов кальция на миокардиальные клетки должно быть связано с поворотными структурными перестройками белковых макромолекул электрогенной мембраны.

Таким образом, каким бы ни был тонкий физиологический механизм интимной реакции антиген — антитело, полученные результаты и литературные данные дают основание для заключения, что большие концентрации антител, а также и малые, но при длительной аппликации, оказывают выраженное влияние на процесс электромеханического сопряжения в сердечной мышце посредством активации калиевых каналов задержанного выпрямления. Можно думать, что нарушение проницаемости сердечных клеток является результатом альтерирующего действия иммунного гамма-глобулина и создает условия для «облегченной» диффузии и проникновения в клетку свободных антител. Последние могут взаимодействовать с рецепторами клеточной мембраны и активировать калиевые каналы задержанного выпрямления и увеличивать тем самым скорость реполяризации потенциала действия. Следует отметить, что при этом возможно и усиление мгновенного выходящего калиевого тока, связанного с неспецифическим повышением проводимости мембраны к ионам калия. Все вместе взятое снижает продолжительность плато ПД, что сказывается на уменьшении поступления ионов кальция в клетку во время возбуждения и приводит к разобщению электромеханического сопряжения в сердечной мышце.

R. I. Yanchy, N. V. Ilchevich

EFFECT OF ANTIMEMBRANE ANTIBODIES ON TRANSMEMBRANE REST POTENTIAL AND ACTION POTENTIAL OF CARDIOMYOCYTES

The action of specific antimembrane antibodies is studied using the technique of the intracellular recording of transmembrane AP (action potentials) and recording of isometric voltage on isolated auricula atrii of guinea pig and on single cardiomyocytes of rat ventricles (the «microrecording» method). The immune antigen-antibody reaction on the excitable membrane is found to proceed in phases: the first (initial) phase — positive chromo-inotropic effect of antibodies which is associated with the activation of Na and Na-Ca channels; the second phase develops 20-30 min after the antibody action and is associated with the activation of potassium channels of delayed rectification and increase in the membrane permeability to Na ions.

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

Список литературы

1. 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.
2. Богданов Н. Ю., Захаров С. И., Розенштраух Л. В. Внутриклеточные обратные связи в процессах электромеханического сопряжения миокарда млекопитающих.— Успехи физиол. наук, 1983, 14, № 2, с. 116—133.
3. Гайнутдинов Х. Л. Исследование роли нервноспецифических белков в функционировании нейрональных мембран: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Л., 1978.— 18 с.
4. Зильбертер Ю. И., Тимин Е. Н., Бендукидзе З. А., Бурнашев Н. А. Метод «микротождества» для регистрации ионных токов через мембрану одиночных сердечных клеток.— Бюл. эксперим. биологии, 1981, № 12, с. 759—761.
5. Ильевич Н. В., Янчий Р. И. (N. V. Il'chevich, R. I. Janchiy). Effects of anticardiac antibodies on the electrical and mechanical activity of myocardial cells.— Mol. Cell Cardiol., 1980, 12, N 1, p. 60.
6. Ильевич Н. В., Янчий Р. И. О механизме активирующего действия противосердечных антител на электрическую и сократительную активность миокардиальных клеток.— Физиол. журн., 1982, 28, № 4, с. 401—409.
7. Ильевич Н. В., Шарпа Г. С., Янчий Р. И. и др. Влияние оварияльной антисыворотки на воспроизводительную функцию коров.— Физиол. журн., 1983, 29, № 3, с. 353—358.
8. Костюк П. Г. Микроэлектродная техника. Киев: Изд-во АН УССР, 1960.— 127 с.
9. Мукумов М. Р. Исследование механизмов сопряжения возбуждения и сокращения в миокарде лягушки: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1977.— 25 с.
10. Овчинников И. В. Биохимические основы цитотоксического действия противосердечных антител: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ташкент, 1972.— 27 с.
11. Сагаи В. Ф., Шабловская О. В., Зайченко А. П. Сравнительная характеристика влияния антикардиальной и антисеропротеиновой сывороток на кардио- и гемодинамику собак.— Физиол. журн., 1978, 24, № 6, с. 788—792.
12. Сорокин Л. В., Мукумов М. Р., Турпаев Т. М., Ходоров Б. И. Действие катехоламинов на электрическую и механическую активность миокарда в условиях блокады ионных каналов.— Докл. АН СССР, 1978, 243, № 4, с. 1086—1088.
13. Спасокукоцкий Ю. А., Ильевич Н. В., Барченко Л. И. и др. Действие специфических сывороток на половые железы.— Киев: Наук. думка, 1977, с. 216.
14. 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.
15. Ходоров Б. И. Общая физиология возбудимых мембран.— М.: Наука, 1975.— 405 с.
16. Ходоров Б. И., Ворновицкий Е. Г., Игнатьева В. Б. и др. О механизме разобщения возбуждения и сокращения в миокардиальных волокнах лягушки и морской свинки при блокировании медленных натрий-кальциевых каналов соединением D-600.— Биофизика, 1976, 21, вып. 6, с. 1024—1029.
17. Янчий Р. И. Роль специфических антител в процессе электромеханического сопряжения в сердечной мышце.— Физиол. журн., 1978, 24, № 5, с. 779—787.
18. Celada F., Strom R. Antibody-induced conformational changing reversible alterations in bioelectrical responses. Sciences in proteins.— Quart. Rev. Biophys., 1972, 5, N 3, p. 395—425.
19. Garnier D., Rougier O., Gargouie V. M. et al. Analyse electrophysiologique du plateau des reponses myocardiques mice en evidence d'un courant lent entrant en absence d'ions bivalents.— Pflügers Arch. ges. Physiol., 1969, 313, N 4, S. 321—342.
20. Hauswirth O., Noble D., Tsien R. The mechanism of oscillatory activity at low membranes potentials in cardiac Purkinje fibres.— J. Physiol., 1969, 200, N 1, p. 255—265.
21. Jackson T. B., Stephenc C. L., Lecar H. Single channel currents induced by complement in antibody coated cell membrans.— Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 1981, 78, N 10, p. 6421—6425.
22. Kao C. Y. Tetrodotoxin, sakitoxin and their significance in the study of excitation phenomenon.— Pharmac. Rev., 1966, 18, N 8, p. 997—1049.
23. Lauf P. Antigen-antibody reactions and cation transport in biomembranes: immunophysiological aspects.— Biochim. biophys. acta., 1975, 415, N 1, p. 173—209.
24. Powell T., Terrar D. A., Twist V. W.— Electrical properties of individual cells isolated adult rat ventricular myocardium.— J. Physiol., London, 1980, 302, N 1, p. 131—136.
25. Reuter H. Properties of two inward membrane currents in the heart.— Ann. Rev. Physiol., 1979, 41, N 1228, p. 413—424.
26. Stanfield P. R. The effect of the tetraethylammonium ion on the delayed currents of skeletal muscle.— J. Physiol., London, 1970, 209, N 1, p. 209—229.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 25.04.84