

8. Дадабаев А. Ультраструктура и состояние секреторного процесса ацинарных клеток поджелудочной железы под влиянием ацетилхолина.— Мед. журн. Узбекистана, 1982, № 8, с. 34—38.
4. Дэвидсон Д. Биохимия нуклеиновых кислот.— М.: Мир, 1976.— 412 с.
5. Дубицкий Л. А., Шостаковская И. В. Изменение соотношения двух путей синтеза пиримидиновых предшественников РНК в отдельных органах пищеварительного тракта под влиянием ацетилхолина.— Физиол. журн., 1983, 29, № 5, с. 604—608.
6. Линд А. Я., Линд Х. П., Тяхепильд Л. Я. Опыт и перспективы исследования секреторных процессов на кафедре биохимии ТГУ.— Учен. зап. Тарт. ун-та, 1966, 191, с. 76—113.
7. Свистун Т. И., Загороднева А. Г., Гофштейн В. Ш. Холинергический механизм регуляции обмена белков и нуклеиновых кислот в слизистой оболочке желудка.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1974, № 6, с. 9—11.
8. Спиринов А. С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот.— Биохимия, 1958, 23, № 4, с. 656—662.
9. Шаткин А. Определение содержания РНК, ДНК и белка с помощью меченых предшественников и последующего химического фракционирования.— В кн.: Методы вирусологии и молекулярной биологии. М.: Мир, 1972, с. 191—193.
10. Шостаковская И. В. Экспериментальный анализ работоспособности поджелудочной железы: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— Львов, 1968.— 40 с.
11. Шостаковская И. В., Дубицкий Л. А. Изменение синтеза пиримидиновых предшественников РНК в тканях пищеварительных желез под влиянием ацетилхолина.— В кн.: Фундаментальные проблемы гастроэнтерологии: Тез. докл. XIII Всесоюз. конф. Киев, 1981, с. 291.
12. Bauduin T., Tondeur T., Van Sande J., Vincent D. Secretion and protein metabolism in the rat pancreas in vitro.— Biochim. et Biophys. Acta, 1973, 304, N 1, p. 81—92.
13. Black O., Webster P. D. Nutritional and hormonal effects on RNA polymerase enzyme activities in pancreas.— Amer. J. Physiol., 1974, 227, N 6, p. 1276—1280.
14. Burdon K. H. Ribonucleic acid maturation in animal cells.— In: Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology / Ed. I. D. Davidson, W. E. Cohn. New York: Acad. press, 1971, vol. 77, p. 1—79.
15. Chou J. Y., Dickman S. R. Effects of urecholine and atropine on canine pancreas slices on incorporation of ¹⁴C-adenine and ¹⁴C-orotic acid into acid-soluble metabolites and RNA.— Arch. Biochem. and. Biophys., 1969, 135, N 1/2, p. 435—450.
16. Darnell J. E. Ribonucleic acid from animals cells.— Bact. Rev., 1968, 32, N 3, p. 262—289.
17. Dickman R., Yong J. Effects of pancreozymin, urecholine and actinomycin D on the metabolism of ribonucleic acid by canine pancreas.— Biochem. J., 1966, 99, N 3, p. 56P—57P.
18. Farber E., Sidrancky H. Changes in protein metabolism in the rat pancreas on stimulation.— J. Biol. Chem., 1956, 222, N 1, p. 237—248.
19. Morisset J. A., Webster P. D. In vitro and in vivo effects of pancreozymin, urecholine and cyclic AMP on rat pancreas.— Amer. J. Physiol., 1971, 220, N 1, p. 202—208.
20. Morisset J. A., Webster P. D. Effects of fasting and feeding on protein synthesis by rat pancreas.— J. Clin. Investig., 1972, 51, N 1, p. 1—8.
21. Sutton D. R., Donaldson R. M. Synthesis and secretion of protein and pepsinogen by rabbit gastric mucosa in organ culture.— Gastroenterol., 1975, 69, N 1, p. 166—174.
22. Webster P. D. Early effect of methacholine on pancreatic RNA synthesis.— Amer. J. Physiol., 1968, 214, N 4, p. 851—855.
23. Webster P. D., Black O. J., David L. et al. Progress in Gastroenterology. Pancreatic acinar cell metabolism and function.— Gastroenterology, 1977, 73, N 6, p. 1434—1449.
24. Yoshida H., Shibata M. A rapid method for the major-base composition of ribonucleic acids.— Biochem. J., 1969, 66, N 5, p. 737—738.

Львов. ун-т

Поступила 20.11.83

УДК 612.17:616.127—005.8:615.373.3:546.41

Г. А. Чередниченко

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОНИЦАЕМОСТИ САРКОЛЕММЫ ДЛЯ КАЛЬЦИЯ ПРИ ИММУННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА СЕРДЦЕ

В исследованиях последних лет все большее значение в развитии патологических процессов в сердечной мышце придается изменениям структуры и функции клеточных мембран, в частности, нарушениям

ионного транспорта в сарколемме кардиомиоцитов [10]. Данные электрофизиологических и электронномикроскопических исследований [3, 4] свидетельствуют о возможной роли нарушений ионного транспорта, в частности транспорта ионов Ca^{2+} , в развитии иммунных повреждений сердца. Проницаемость сарколеммы для кальция при данной форме патологии ранее не была изучена. В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование динамики пассивного транспорта кальция в сарколемме при иммунном воздействии на сердце.

Методика

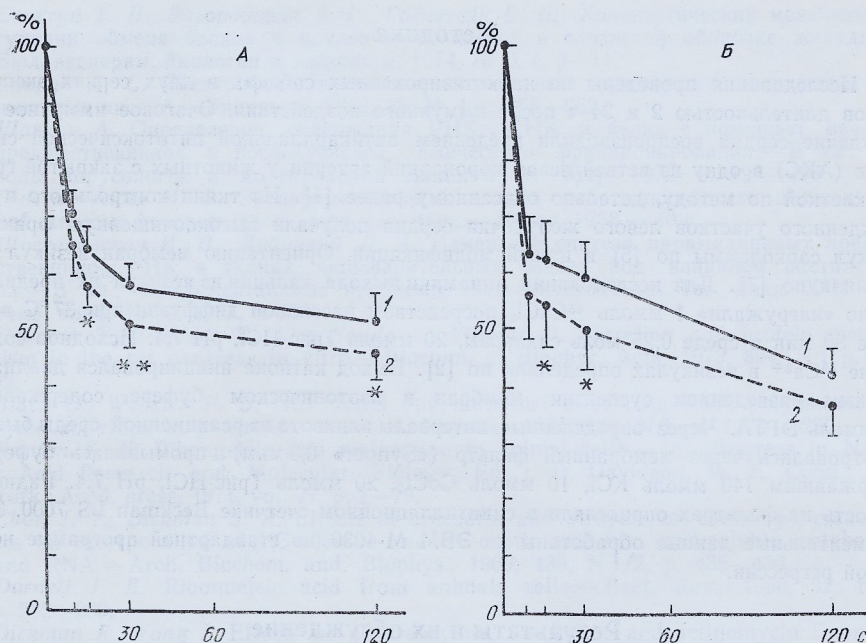
Исследования проведены на наркотизированных собаках в двух сериях экспериментов длительностью 2 и 24 ч после иммунного воздействия. Очаговое иммунное повреждение сердца воспроизводили введением антикардиальной цитотоксической сыворотки (АКС) в одну из ветвей левой коронарной артерии у животных с закрытой грудной клеткой по методу, детально описанному ранее [1]. Из ткани контрольного и поврежденного участков левого желудочка сердца получали высокоочищенную фракцию везикул сарколеммы по [5] в нашей модификации. Ориентацию мембран везикул определяли по [7]. Для исследования динамики выхода кальция из везикул их предварительно «нагружали» 1 ммоль $^{45}\text{CaCl}_2$ посредством пассивной диффузии при 37 °C в течение 30 мин в среде 0,25 моль сахарозы, 20 ммоль Трис-НСl, pH 7,4. Исходное содержание $^{45}\text{Ca}^{2+}$ в везикулах определяли по [2]. Выход катиона инициировался двадцатикратным разведением суспензии мембран в изотоническом буфере, содержащем 0,2 ммоль ЭГТА. Через определенные интервалы аликвота из реакционной среды быстро фильтровалась через мембранный фильтр («Synpro» 0,3 мкм) и промывалась буфером, содержащим 140 ммоль KCl, 10 ммоль CoCl_2 , 20 ммоль Трис-НСl, pH 7,4. Радиоактивность на фильтрах определяли в сцинтилляционном счетчике Beckman LS 7000. Экспериментальные данные обработаны на ЭВМ М-4030 по стандартной программе нелинейной регрессии.

Результаты и их обсуждение

После введения АКС в одну из ветвей левой коронарной артерии развивались типичные для этой модели иммунопатологии сердца признаки зонального нарушения функции миокарда: трансформация комплекса QRS в QS во II и III отведениях ЭКГ при введении АКС в огибающую ветвь или в I и II отведениях при введении в нисходящую ветвь левой коронарной артерии. Крупные очаги кровоизлияний в миокарде отмечались в соответствии с местом введения АКС. Весьма существенно снижались показатели сократительной функции миокарда: dp/dt_{max} на $30,2 \pm 5,7 \%$ ($p < 0,01$), индекс сократимости по Веррагу — на $15,8 \pm 4,8 \%$ ($p < 0,05$).

Из миокарда контрольной и поврежденной зон левого желудочка были получены высокоочищенные фракции сарколеммы, которые, по данным электронной микроскопии, имели везикулярную структуру. Препараты мембран, выделенные из интактного миокарда, характеризовались высокой степенью очистки классических сарколеммальных маркеров — 5'-нуклеотидазы и убаин-чувствительной $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазы, активность которых во фракции сарколеммы была выше, чем в нефракционированном гомогенате соответственно в 10 и 12 раз. Активность азид-чувствительной и кальций-магниевого АТФаз во фракции сарколеммы была вдвое ниже, чем в гомогенате, что свидетельствует о незначительных примесях мембран митохондрий и, возможно, саркоплазматического ретикула. Активность убаин-чувствительной $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазы возрастала более чем в три раза (достигая в среднем $87,2 \pm 5,7$ мкмоль/мг в час, $n=4$) после обработки детергентом додецилсульфатом натрия. Это свидетельствует о том, что в отсутствие детергентов мембрана большей части везикул плотно замкнута и непроницаема для таких крупных молекул, как АТФ и убаин. Этот факт наряду с фактом везикулированности фракции (т. е. наличия внутреннего пространства) делает препарат удобным объектом для исследо-

вания трансмембранных процессов. Проведенное определение ориентации мембран показало, что 55,3 % везикул имеют ориентацию мембраны, аналогичную ориентации ее в клетке, 21,3 % — ориентированы цитоплазматической поверхностью наружу и 23,4 % составляют везикулы с поврежденной мембраной, свободно проницаемой для крупных молекул. Присутствие во фракции сарколеммы субпопуляции везикул с мембраной, ориентированной цитоплазматической поверхностью нару-



Динамика выхода $^{45}\text{Ca}^{2+}$ из везикул сарколеммы контрольного (1) и поврежденного (2) участка миокарда через 2 (А) и 24 (Б) ч после введения АКС.

По вертикали — внутривезикулярное содержание $^{45}\text{Ca}^{2+}$, в % к исходному; по горизонтали — время в секундах. * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$.

жу, предполагает, что выход Ca^{2+} из таких везикул (при условии сохранения в мембране кальциевых каналов) будет аналогичен входу кальция в клетку, наблюдающемуся в нормальных физиологических условиях.

То, что регистрируемый нами процесс действительно отражает трансмембранный перенос ионов кальция из внутреннего пространства везикул во внешнюю среду доказывается следующими фактами: 1) кальциевый ионофор А 23187 значительно ускоряет выход Ca^{2+} по градиенту его концентрации; 2) ионы Co^{2+} и Cd^{2+} , известные как эффективные блокаторы входящего кальциевого тока, находясь внутри везикул, оказывают выраженное замедляющее действие на выход Ca^{2+} ; 3) присутствие ионов Na^+ во внешней среде значительно ускоряет выход кальция из везикул, по-видимому, за счет работы $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ обменного механизма.

При исследовании проницаемости изолированных мембран для радиоактивного кальция нами было обнаружено умеренное увеличение этого показателя в сарколемме миокарда, подвергнутого иммунному воздействию (рисунок). Как следует из рисунка, степень этого увеличения и общий характер кривых выхода катиона сходен в обеих сериях экспериментов. Анализ кривых в полулогарифмических координатах (на рисунке не показано) свидетельствует, что во всех случаях выход кальция представляет собой двухфазный процесс и не описывается одной экспонентой, как это можно было ожидать в случае простой диффузии катиона через мембрану.

Норма
диальных
сарколеммы
меостаза,
сического
циевом об
ванного Са
качестве о
патологиче
техоломмы

Получе
ного возде
увеличивае
но не вына
прямого (в
мембрану.

Следу
на изолир
ских ситуа
ваний не о
ция [6, 9].
нищаемость
но, объясн
вий, в коор

Провед
тител с ан
проницаем
личине вын

1. Горев Н. Розы микротоксическая
2. Куприянов В. В. М. с. циркулярная
3. Моббингс карда при исследовании
4. Янши Р. ный микроскоп 80, № 5, с. 1
5. Bers D. M. acta, 1979, 80, № 5, с. 1
6. Bersohn M. colemmal p. C288 —
7. Caroni P. lemma — E
8. Chien K. H. myocardi
9. Daly M. J. in hyperten pt. 2, p. 122
10. Dhalia K. function —
11. Hearse D. 1977, 9, № 1
12. Hearse D. parabola p. 641 — 652

Ин-т физиологии
АН УССР, Киев

Нормальное функционирование сократительного аппарата миокардиальных клеток во многом зависит от того, насколько эффективно сарколеммальные механизмы обеспечивают поддержание ионного гомеостаза. При реперфузии ишемического [11] и реоксигенации гипоксического [12] миокарда наблюдаются значительные изменения в кальциевом обмене, выражающиеся в избыточном накоплении ионизированного Ca^{2+} . Перегрузка клеток миокарда кальцием предлагается в качестве общего механизма повреждения клеток и при ряде других патологических состояний — кальциевом парадоксе, повреждениях катехоламинами, кардиомиопатиях и т. д.

Полученные нами результаты показывают, что в условиях иммунного воздействия на сердце проницаемость сарколеммы для кальция увеличивается. Причины этого явления в настоящее время окончательно не выяснены, однако можно предполагать существование механизма прямого (или опосредованного через комплемент) действия антител на мембрану, приводящего к увеличению ионной проницаемости.

Следует отметить, что в единичных работах также выполненных на изолированных препаратах сарколеммы при различных патологических ситуациях, получены противоречивые результаты: в ряде исследований не обнаружено изменений в проницаемости мембран для кальция [6, 9], с другой стороны есть указания на то, что кальциевая проницаемость значительно увеличена [8]. Такое несоответствие, возможно, объясняется существенными различиями экспериментальных условий, в которых моделировалось повреждение миокарда.

Проведенное нами исследование показало, что взаимодействие антител с антигенами на мембране приводит к некоторому увеличению проницаемости сарколеммы для кальция, что может отразиться на величине ионного потока и, в конечном счете, на функции миокарда.

Список литературы

1. Горев Н. Н., Сагач В. Ф., Зайченко А. П. Экспериментальные цитотоксические некрозы миокарда. Моделирование и гемодинамическая характеристика острого цитотоксического шока. — Кардиология, 1973, 13, № 2, с. 11—18.
2. Куприянов В. В., Преображенский А. Н., Сакс В. А. Пассивная проницаемость везикулярных препаратов сарколеммы миокарда для ионов Ca . — Биохимия, 1981, 46, вып. 10, с. 1863—1878.
3. Мойбенко А. А., Попович Л. Ф. Коронарные сосуды и сократительный аппарат миокарда при иммунном повреждении сердца (гистохимические и ультраструктурные исследования). — Вестн. Акад. мед. наук СССР, 1982, № 7, с. 58—64.
4. Янций Р. И., Ильевич Н. В. Влияние антимембранных антител на трансмембранный потенциал покоя и потенциал действия кардиомиоцитов. — Физиол. журн., 1984, 80, № 5, с. 625—634.
5. Bers D. M. Isolation and characterization of cardiac sarcolemma. — Biochim. biophys. acta, 1979, 555, N 1, p. 131—146.
6. Bersohn M. M., Philipson K. D., Fukushima J. Y. Sodium-calcium exchange and sarcolemmal enzymes in ischemic rabbit hearts. — Amer. J. Physiol., 1982, 242, N 5, p. C288—C295.
7. Caroni P., Carafoli E. The regulation of the $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ exchanger of heart sarcolemma. — Eur. J. Biochem., 1983, 132, N 3, p. 451—460.
8. Chien K. R., Reeves J. P., Buja M. L. et al. Phospholipid alteration in canine ischemic myocardium. — Circulat. Res., 1981, 48, N 5, p. 711—719.
9. Daly M. J., Elz J. S., Nayler W. G. Sarcolemmal enzymes and $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ exchange in hypoxic, ischemic, and reperfused rat hearts. — Amer. J. Physiol., 1984, 247, N 2, pt. 2, p. H237—H244.
10. Dhalla N. S., Pierce G. N., Panagia V. et al. Calcium movement in relation to heart function. — Basic Res. Cardiol., 1982, 77, N1, p. 117—139.
11. Hearse D. J. Reperfusion of the ischemic myocardium. — J. Mol. and Cell. Cardiol., 1977, 9, N 8, p. 605—616.
12. Hearse D. J., Humphrey S. M., Bullock G. R. The oxygen paradox and the calcium paradox: two facets of the same problem? — J. Mol. and Cell. Cardiol., 1978, 10, N 9, p. 641—668.

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

Поступила 19.04.85