

БЛОКАДА ИОНАМИ КАДМИЯ НАТРИЕВЫХ ТОКОВ МЕМБРАНЫ ИЗОЛИРОВАННЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ

Блокирующее действие ионов кадмия на кальциевую проводимость впервые было показано на нейронах моллюсков [2]. Оно характеризовалось достаточно большой специфичностью (K_d для блокады кальциевого тока Cd^{2+} составляла 70 мкмоль/л). Ионы кадмия (концентрация 0,05—1 ммоль/л) применяют в качестве специфических блокаторов кальциевых каналов в исследованиях трансмембранных токов клеток миокарда [6, 7]. В настоящем сообщении приведены данные о том, что ионы кадмия блокируют не только кальциевую, но и натриевую проводимость мембраны изолированных кардиомиоцитов.

Методика

Эксперименты проводили на ферментативно изолированных миоцитах левого желудочка сердца крыс одномесячного возраста. Ионную проводимость мембраны одиночных кардиомиоцитов исследовали в условиях внутриклеточной перфузии и фиксации напряжения на мембране [9] при температуре 20—22 °C. В качестве внутриклеточного раствора использовали ТРИС-НФ (135 ммоль/л; pH 7,2). Внеклеточный раствор содержал (ммоль/л): NaOH—154; KOH—5; $Ca(NO_3)_2$ —3,6-ТРИС-оксиметиламинотан—10 и был доведен метансульфоновой кислотой до pH 7,4. Разница в осмотическом давлении между вне- и внутриклеточным растворами (внутриклеточный раствор примерно на 25 % был гипосмотичнее наружного) обеспечивала высокие значения сопротивления утечки системы «клетка в поре» (R_L составляет 700—900 МОм). Трансмембранные токи регистрировали с помощью многоканального анализатора NTA-1024 и выводили на графопостроитель. Приложение к мембране кардиомиоцитов внеклеточных растворов кадмия различной концентрации осуществляли с помощью техники быстрой гидродинамической аппликации [3]. Время полной смены внеклеточного раствора составляло 50—70 мс. Влияние ионов кадмия на трансмембранную ионную проводимость тестировали на 17 клетках.

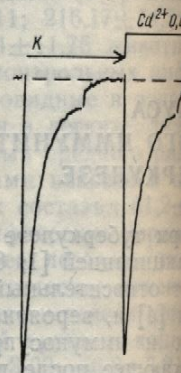
Результаты и их обсуждение

После разрушения клеточной мембраны и замены внутриклеточного содержимого искусственным солевым раствором в исследуемых кардиомиоцитах в ответ на деполяризующее смещение мембранного потенциала регистрировался входящий ионный ток. В описываемых экспериментальных условиях высокая концентрация ионов фтора во внутриклеточном растворе подавляла кальциевые токи [8]. Поскольку внутриклеточный раствор был лишен ионов хлора для устранения хлорного тока [1, 4], можно было предположить, что регистрируемый входящий ток переносится только ионами натрия. Такое предположение подтверждалось зависимостью этого тока от концентрации Na^+ в наружном растворе, а также его чувствительностью к тетродотоксину (ток полностью блокировался 10^{-4} моль/л ТТХ).

Приложение к мембране кардиомиоцитов внеклеточных растворов кадмия нарастающей концентрации приводило к прогрессирующему подавлению входящего ионного тока, начиная с концентрации 30—60 мкмоль/л Cd^{2+} в наружном растворе. Полное подавление входящего ионного тока мембраны одиночных кардиомиоцитов, регистрируемого в описанных условиях, наблюдали при наружной концентрации Cd^{2+} , составляющей 0,7—0,8 ммоль/л. Пример блокирующего действия ионов кадмия на натриевые токи мембраны изолированных клеток сердца приведен на рисунке.

Полученные результаты совпадают с данными о полном подавлении ионами кадмия (0,5 ммоль/л) не только кальциевого, но и натрие-

вого тока на фрагментах строения на цитируемой работе о действии кадмия на натриевый ток мембраны с концентрацией 0,05—0,8 ммоль/л, т. е. прилишь на порядок. Веществом посредственным воз-



Действие нарастающих концентраций кадмия на входящий ток мембраны изолированных кардиомиоцитов. K — регистрируемый ток.

на состояние мембраны. Изучение данных может быть использовано на трансмембранных каналах мембраны ка-

CADMIUM IN THE M

It is found that cadmium has a specific effect on transmembrane currents to be used as a pharmacological tool.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Academy of Sciences, Ukraine

1. Верхратский А. Н., Пидопличко В. И. Хлорный ток в мембране кардиомиоцитов. 1985.—2, № 1.—С. 17—20.
2. Крышталъ О. А. Блокирование натриевого тока в мембране первой стадии. 1983.—37, № 6.—С. 75—78.
3. Пидопличко В. И., Ветеринарный В. И., Тетродотоксину потенциалов кардиомиоцитов. 1983.—37, № 6.—С. 75—78.
4. Difracesko D., Ferroni F. J. Physiol., London.—1985.

ВЫХ ТОКОВ МЕМБРАНЫ МИОЦИТОВ

на кальциевую проводимость
юсков [2]. Оно характеризу-
о (K_d для блокады кальцие-
оны кадмия (концентрация
специфических блокаторов
нсмембранных токов клеток
риведены данные о том, что
евую, но и натриевую про-
миоцитов.

илированных миоцитах левого же-
ую проводимость мембраны оди-
уриклеточной перфузии и фикса-
20—22°C. В качестве внутрикле-
ль/л; pH 7,2). Внеклеточный раст-
и(NO_3)₂-3,6-ТРИС-оксиметиламино-
гой до pH 7,4. Разница в осмоти-
ворами (внутриклеточный раствор
беспечивала высокие значения со-
авляет 700—900 МОм). Трансмем-
ального анализатора NTA-1024 и
бране кардиомиоцитов внеклеточ-
уществляли с помощью техники
полной смены внеклеточного раст-
на трансмембранную ионную про-

дение

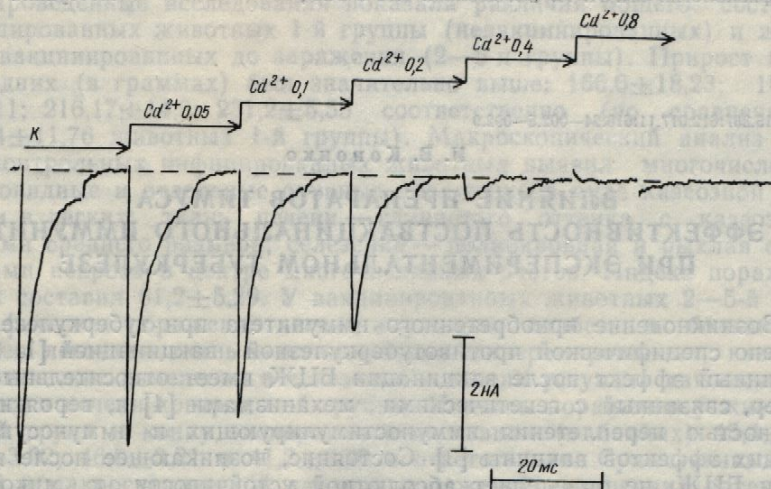
и замены внутриклеточно-
твором в исследуемых кар-
ещение мембранного потен-
к. В описываемых экспери-
ия ионов фтора во внутри-
токи [8]. Поскольку внутри-
а для устранения хлорного
регистрируемый входящий
е предположение подтверж-
ации Na^+ в наружном раст-
одотоксину (ток полностью

ов внеклеточных растворов
по к прогрессирующему по-
ия с концентрации 30—60
ное подавление входящего
иоцитов, регистрируемого в
иой концентрации Cd^{2+} , со-
сирующего действия ионов
ированных клеток сердца

нными о полном подавле-
кальциевого, но и натрие-

иол. журн., 1986, т. 32, № 4

вого тока на фрагментах волокон Пуркинье, что связывают с особен-
ностями строения натриевого канала сердечных клеток [5]. Однако в
цитируемой работе отсутствуют данные о влиянии различных концент-
раций кадмия на натриевый ток. В наших экспериментах подавление
натриевого тока мембраны одиночных кардиомиоцитов Cd^{2+} начиналось
с концентрации 0,05 ммоль/л и было полным при концентрации 0,7—
0,8 ммоль/л, т. е. при изменении нарастающей концентрации Cd^{2+} всего
лишь на порядок. Вероятно, подобное действие можно объяснить не не-
посредственным воздействием кадмия на ионные каналы, а влиянием



Действие нарастающих концентраций ионов кадмия (ммоль/л) на входящий натрие-
вый ток мембраны изолированного кардиомиоцита (поддерживаемый потенциал сос-
тавляет 120 мВ, тестирующий — 30 мВ):

K — регистрация тока в растворе, не содержащем ионов кадмия.

на состояние мембраны в целом. Таким образом, на основании полу-
ченных данных можно предполагать неспецифическое действие кадмия
на трансмембранные ионные токи в клетках миокарда и считать неце-
лесообразным использование ионов Cd^{2+} в качестве фармакологическо-
го инструмента, рассчитанного на избирательную блокаду кальциевых
каналов мембраны клеток сердца.

A. N. Verkhatsky

CADMIUM IONS BLOCKAGE OF SODIUM CURRENTS IN THE MEMBRANE OF ISOLATED CARDIOMYOCYTES

It is found that cadmium ions block not only calcium conduction but also sodium
one of the isolated cardiomyocyte membrane. Cadmium is supposed to have a nonspe-
cific effect on transmembrane ionic currents in the myocardium cells and is not expedient
to be used as a pharmacologic means for a selective blockage of calcium channels.

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

1. Верхратский А. Н., Пидопличко В. И. Тетродотоксин-чувствительный, pH зависимый хлорный ток в мембране изолированных кардиомиоцитов // Биол. мембраны.— 1985.—2, № 1.— С. 17—24.
2. Крышталъ О. А. Блокирующее действие ионов кадмия на кальциевый входящий ток в мембране нервной клетки // Докл. АН СССР.—1976.—231, № 4.— С. 1003—1005.
3. Пидопличко В. И. Техника «ступенчатой» и «прямоугольной» гидродинамической аппликации веществ на мембрану перфузированных нейронов // Физиол. журн.— 1983.—37, № 6.— С. 754—757.
4. Пидопличко В. И., Верхратский А. Н. Возможное существование чувствительной к тетродотоксину потенциалозависимой хлорной проводимости в мембране перфузированных кардиомиоцитов // Докл. АН СССР.—1984.—279, № 4.— С. 1012—1015.
5. Difrancesco D., Ferroni A., Visentin S. Cadmium blocks Na^+ in calf Purkinje fibres // J. Physiol., London.— 1984.—353, Aug.— P. 73.

Физиол. журн., 1986, т. 32, № 4

477

6. Lee E. W., Lee K. S., Noble D., Spindler A. J. A very slow inward c current in single ventricular cells // *Ibid.*—1983.—345, December.—P. 6.
7. Lee K. S., Tsien R. W. Mechanism of calcium channel blockade by verapamil, D600, diltiazem, and nitrendipine in single dialysed heart cells // *Nature*.—1983.—302, N 5913.—P. 790—794.
8. Kostyuk P. G., Krishtal O. A., Pidoplichko V. I. Effect of internal fluoride and phosphate on membrane currents during intracellular dialysis of nerve cells // *Ibid.*—1975.—257, N 5445.—P. 691—693.
9. Kostyuk P. G., Krishtal O. A., Pidoplichko V. I. Intracellular perfusion // *J. Neurosci. Meth.*—1981.—4, N 3.—P. 201—210.

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

Поступила 05.05.85

УДК 615.357:612.017.11:616.24—002.5—092.9

И. В. Кононко

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ ТИМУСА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТУБЕРКУЛЕЗЕ

Возникновение приобретенного иммунитета при туберкулезе обусловлено специфической противотуберкулезной вакцинацией [1, 6]. Но вакцинный эффект после вакцинации БЦЖ имеет относительный характер, связанный с генетическими механизмами [4] и, вероятно, со сложностью переплетения иммуностимулирующих и иммуносупрессирующих эффектов вакцины [3]. Состояние, возникающее после вакцинации БЦЖ, не определяет абсолютной устойчивости к микобактериям туберкулеза [5]. В настоящее время внимание исследователей привлекают гормоны тимуса. Результаты изучения их действия на противотуберкулезный иммунитет представлены лишь в единичных работах.

Цель нашей работы — экспериментальное изучение возможности повышения эффективности вакцинации БЦЖ с помощью препаратов тимуса — лимфоцитозстимулирующего вещества (ЛСВ) и тимозина, регулирующее влияние которых на иммунологическую реактивность доказано при некоторых заболеваниях.

Методика

Исследования проведены на 75 туберкулиноотрицательных морских свинок (самцы), начальная масса которых составляла $(251,99 \pm 6,82)$ г. Животных условно разделили на следующие 5 групп: 1-я — животные, которых заражали туберкулезом (контроль инфекции); 2-я — животные, которых вначале вакцинировали, а затем заражали туберкулезом (контроль вакцинации); 3-я — животные, которым на 1 кг массы вводили 2 мг ЛСВ; 4-я — животные, которым на 1 кг массы вводили 8 мг тимозина; 5-я — животные, которым вводили смесь препаратов (указанных их доз). 1-я и 2-я группы животных получали физиологический раствор натрия хлорида. Препараты и физиологический раствор (0,5 мл) вводили подкожно в течение 10 дней ежедневно, после чего животным 2—5-й групп подкожно в паховую область вводили 0,8 мг сухой вакцины БЦЖ (Ташкентский НИИВС) на 1 кг массы. После вакцинации возобновляли введение препаратов и вводили их в течение 7 сут (через сутки). Затем всех животных заражали с помощью подкожного введения 0,02 мг вирулентных микобактерий туберкулеза H₃₇Rv в 0,5 мл растворе натрия хлорида. На 30-е и 55-е сутки после заражения у морских свинок производили оценку туберкулиновой чувствительности путем внутрикожного введения туберкулина (1:10). Интенсивность туберкулиновой чувствительности определяли, измеряя площадь кожной реакции. Затем животных забивали под эфирным наркозом и определяли макроскопическую пораженность внутренних органов по Чернушенко и соавт. [7]. Вычисляли индексы массы вилочковой железы и селезенки, полученное значение умножали на 100. Производили иммунологические исследования содержания Е- и ЕАС-розеткообразующих клеток по Sandberg и соавт. [9], уровня неспецифической и специфической пролиферации лимфоцитов перифери-

ческой крови в культуре 20 мкг/мл) и ППД-Л (Лентител — гематоглоитининов —лучения исходных значений. Препараты вилочковой железы известному способу Ноорге

Проведенные исследования инфицированных животных, вакцинированных последних (в граммах) $\pm 18,11$; $216,17 \pm 14,3$; $118,14 \pm 11,76$ животных контрольных инфицированных стекловидные и отдельные мони в легких; тканей очагами среднего размера знаками некроза в центре них составил $61,2 \pm 5$ специфические поражения случаев легочная ткань некротические изменения в лезенке и печени контрольных 2—5-й групп к концу $43,8 \pm 3,02$; $46,8 \pm 3,21$ различий в макроскопических отдельных группах вакцин.

Для туберкулезной лезы и увеличение массы органов выявило, что в муса контрольных инфицированных $0,07 \pm 0,012$, чем у интактных морских свинок этот показатель 3-й группы, показатели были выявлены те инфицированных животных, значительно отличались $1,1 \pm 0,25$. Несколько меньше $(0,7 \pm 0,17)$; $0,69 \pm 0,09$ и получавших одновременно лезенки мало отличались 1-й группы $(1,25 \pm 0,010)$.

Содержание Е-розе инфицированных животных затеком у интактных животных $(17,6 \pm 1,25) \%$ и $(43,2 \pm 1,25) \%$ период у животных 2-й группы введение препаратов в течение 7 сут числа Е-РОК по сравнению с интактными животными. Под действием вакцины эффект был соответственно $(33,0 \pm 3,0) \%$; $(26,6 \pm 1,50) \%$; $P < 0,05$.

Существенных различий в селезенке животных из всех групп в течение всего эксперимента вали таковым у интактных животных.

Число ЕАС-розеткообразующих клеток животных 1-й группы