

РОЛЬ ИОНОТРАНСПОРТНЫХ СИСТЕМ САРКОЛЕММЫ В ПОТЕРЕ АМИНОКИСЛОТ ПРИ ПЕРФУЗИИ СЕРДЦА БЕСКАЛЬЦИЕВОЙ СРЕДОЙ И ПОВРЕЖДЕНИИ МИОКАРДА ПРИ "КАЛЬЦИЕВОМ ПАРАДОКСЕ"

В.В. АЛАБОВСКИЙ, Э.ДЖ.КРЭГОУ* (мл*), А.А. ВИНОКУРОВ

Воронежская Государственная Медицинская академия имени Н.Н.Бурденко,
г. Воронеж. тел.: (0732) 560338

*Накогдочес TX 75963- 1548, П/я 631548, Техас, США;

Снижение концентрации Na^+ до 30 мМ в бескальциевой среде приводит к усилению потери аминокислот миокардом. Увеличение содержания Na^+ в растворе до 200 мМ препятствовало выходу аминокислот из сердца, перфузируемого бескальциевой средой. Обнаружена обратная корреляция между выходом аминокислот из сердца при перфузии бескальциевой средой (Глу, Гли, Асп, Асн, Ала, Гли), с одной стороны, и восстановлением параметров дыхания митохондрий (величины дыхательного контроля по Чансу и скорости фосфорилирования), содержанием АТФ и фосфокреатина при восстановлении прежней концентрации Ca^{2+} , с другой стороны.

Ингибирование K^+-Cl^- -котранспорта препаратом DIOA (10 мкМ) или Cl^- -каналов IAA-94 (1,5 мкМ) усиливало высвобождение в раствор аминокислот (Глу, Гли, Асп, Асн, Ала, Гли, Тау). Следовательно, транспорт аминокислот в кардиомиоцитах зависит не только от величины трансмембранного градиента Na^+ , но и от активности других систем транспорта ионов. Сохранение внутриклеточного пула аминокислот при перфузии сердца бескальциевой средой способствует сохранению на высоком уровне параметров дыхания митохондрий и внутриклеточных макроэргических соединений при восстановлении прежней концентрации Ca^{2+} ("кальциевом парадоксе").

Ключевые слова: сердце, "кальциевый парадокс", Na^+ , повреждение, креатин, аминокислоты.

ВВЕДЕНИЕ. Реперфузия сердца Ca -содержащим раствором после непродолжительной перфузии бескальциевой средой сопровождается повреждением кардиомиоцитов, развитием контрактуры миофибрилл, нарушением энергетического состояния миокарда [1,2]. Данное явление, обнаруженное в 1966 году, было названо "кальциевым парадоксом". Несмотря на интенсивные исследования, механизм развития "кальциевого парадокса" все еще остается неясным. Установлено, что при перфузии сердца бескальциевой средой происходит накопление в кардиомиоцитах Na^+ и их набухание [3]. Подобно другим клеткам, кардиомиоциты имеют систему регуляции своего объема. Набухание кардиомиоцитов сопровождается активированием механизмов восстановления их прежнего размера (так называемое регуляторное уменьшение объема) за счет выхода из клеток осмотически активных веществ, в том числе аминокислот и других анионов, в частности Cl^- [3-7]. В настоящее время остается неизвестным, существует ли взаимосвязь между анион-транспортными системами сарколеммы и потерей аминокислот при перфузии сердца бескальциевой средой. Известно, что для некоторых аминокислот в сарколемме кардиомиоцитов имеются транспортные системы,

активируемые Na^+ (Na^+ /аминокислотный котранспорт). Однако, значение внеклеточной концентрации Na^+ в регуляторной потере аминокислот при "кальциевом парадоксе" остается неясным.

Учитывая это, целью настоящего исследования явилось изучение взаимосвязи между глубиной повреждения кардиомиоцитов и потерей сердцем аминокислот в зависимости от величины градиента Na^+ , активности $\text{K}^+\text{-Cl}^-$ -котранспорта и Cl^- -каналов при "кальциевом парадоксе"

МЕТОДИКА. Эксперименты проводились на изолированных сердцах белых беспородных крыс, перфузированных по методу Лангендорфа раствором Рингера-Локка (в мМ): NaCl - 140; NaH_2PO_4 -0,5; KCl - 5,0; трис-ОН - 5 (pH = 7,4); CaCl_2 -2; глюкозы-11. Все растворы подогревали до 37° С и насыщали кислородом. Крыс декапитировали, вскрывали грудную клетку и сердце помещали в охлажденный раствор Рингера -Локка. В аорту вводили канюлю и со скоростью 10 мл/мин на 1 г влажной массы подавали исходный раствор в течение 15 минут для стабилизации сократительной функции и показателей энергетического состояния. После периода стабилизации сократительной функции сердце перфузировали бескальциевой средой, содержащей 0,5 мМ ЭДГА в течение 10 минут. По окончании перфузии бескальциевой средой через сердце пропускали исходный раствор, содержащий 2,0 мМ CaCl_2 .

Изменение концентрации Na^+ производили только во время перфузии сердца бескальциевой средой. При уменьшении содержания в растворе хлорида натрия осмотичность сохраняли добавлением соответствующего количества сахарозы. Реперфузию во всех сериях экспериментов осуществляли исходным раствором.

Через 5 минут реперфузии сердца исходным раствором сердца замораживали при температуре жидкого азота щипцами Волленбергера и готовили тканевые экстракты с помощью 6 % трихлоруксусной кислоты. После центрифугирования при 3000 g супернатант нейтрализовали 2 N КОН при 0-4° С и определяли содержание адениннуклеотидов стандартными ферментативными методами [8]. Содержание креатина оценивали спектрофотометрически с помощью альфа-нафтола. Концентрацию фосфокреатина вычисляли по разности содержания в ткани креатина и суммарного креатина (креатин + фосфокреатин) [9]. Выделение митохондрий и изучение параметров их дыхания производили по методикам, описанным ранее [1]. Белок определяли биуретовым методом. Концентрацию ионов кальция в растворах контролировали с помощью ионоселективного электрода ЭИ-Са-01 и электронного потенциометра ВЛ-750.

Концентрацию аминокислот в бескальциевом растворе, оттекающем от сердца исследовали с помощью аминокислотного анализатора Т339 (Чехия).

Величину набухания кардиомиоцитов оценивали по накоплению воды в ткани сердца, определяя содержание воды в миокарде, соотнесенное на 1 грамм сухой массы. Для этого образцы сердечной мышцы высушивали при 1000 в течение 24 часов.

Для оценки глубины повреждения кардиомиоцитов при "кальциевом парадоксе" использовали следующие показатели: содержание в ткани сердца адениннуклеотидов, фосфокреатина и креатина, сопряжение процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях [1].

В исследовании использованы препараты DIOA в концентрации 5 мкМ, блокирующей более чем на 90% $\text{K}\text{-Cl}$ - котранспорт и IAA94, ингибирующий на 50% Cl -каналы.

В работе были использованы миоглобин лошади и трисамин ("Sigma"), ферменты и коферменты "Boehringer Mannheim GmbH" (Германия). Остальные реактивы - отечественного производства квалификации "х.ч."

Полученные данные обработаны методом вариационной статистики с использованием критерия t Стьюдента, анализа вариации ANOVA.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Проведенные эксперименты показали, что перфузия сердца бескальциевой средой, содержащей 0,5 мМ ЭДГА в течение 10 минут

приводит к высвобождению из сердца аминокислот- таурина, глутамата, глутамина, аспартата, аспарагина, аланина и глицина (табл. 1).

Таблица 1. Влияние ионного состава раствора, строфантина, IAA94 и DIOA на концентрацию некоторых аминокислот (мкМ), в оттекающем от сердца перфузионном растворе.

Состав	Таурин	Аспартат	Аспарагин	Глутамат	Глутамин	Глицин	Аланин
[Ca ²⁺] = 2 [Na ⁺] = 140 мМ	0,1±0,01***	0,1±0,05***	0***	0,2±0,1***	0***	0***	0***
[Ca ²⁺] = 0 [Na ⁺] = 30 мМ	170,5±10,7***	24,48±1,9**	15,13±0,42*	40,36±1,11**	17,34±9,32	18,06±2,12	48,13±4,47**
[Ca ²⁺] = 0 [Na ⁺] = 140 мМ (контроль)	44,32±6,50	9,25±1,12	12,90±0,69	12,80±1,24	21,20±1,50	16,80±1,97	12,82±0,92
[Ca ²⁺] = 0 [Na ⁺] = 140 мМ сахароза- 120 мМ	41,00±9,80	8,08±0,05	11,80±0,26	12,62±2,20	24,32±0,67	16,12±3,73	13,1±1,44
Ca ²⁺ = 0 [Na ⁺] = 200 мМ	31,8 ± 1,8*	4,3 ± 1,03***	9,21 ± 2,2	4,48 ± 0,4	12,60±1,30**	7,20±1,80*	8,74 ± 0,23*
[Ca ²⁺] = 0 [Na ⁺] = 200 мМ строфантин 50 мкМ	115,3±12,9*	26,52±3,67	22,02±3,33*	17,65±1,75*	31,13±5,3*	28,6±3,0*	30,38±6,01*
[Ca ²⁺] = 0 [Na ⁺] = 140 мМ DIOA 5 мкМ	72,94±2,70**	14,84±1,01*	8,57 ± 1,80	15,65±0,60*	21,70 ± 2,07	24,46±2,07	18,07 ± 1,5*
[Ca ²⁺] = 0 [Na ⁺] = 140 мМ IAA-94 1,5 мкМ	68,86 ± 4,4*	18,48 ± 2,6**	24,61±1,12**	29,68 ± 2,05	32,48±2,74**	2,04±0,95*	9,13 ± 1,1
[Ca ²⁺] = 0 [Na ⁺] = 140 мМ HMA 1 мкМ	27,8 ± 2,53	8,05 ± 0,3*	11,7 ± 0,22	11,76 ± 2,8	14,1 ± 0,57	7,90±2,90	13,30±1,72

Примечание. Здесь и в последующих таблицах. достоверность различий по сравнению с контролем: одна звездочка - $p < 0,05$; две - $p < 0,01$; три - $p < 0,001$.

Последующая реперфузия сердца исходным раствором, содержащим 2,0 мМ Ca²⁺, приводит к значительным изменениям энергетического состояния кардиомиоцитов (табл. 2). Установлено, что развитие "кальциевого парадокса" сопровождается снижением концентрации адениннуклеотидов, фосфокреатина и креатина более чем на 50-90% по сравнению с исходным состоянием. В митохондриях сердца отмечается разобщение процессов окисления и фосфорилирования, снижение показателя АДФ/О и скорости фосфорилирования (табл. 3). Одновременно отмечается выход значительного количества миоглобина в оттекающий от сердца перфузионный раствор и увеличение количества воды в миокарде (табл. 4)

Уменьшение концентрации хлорида натрия до 30 мМ (осмотичность поддерживали добавлением соответствующего количества сахарозы) вызывало усиление потери сердцем таурина, глутамата, глутамина, аспартата, аспарагина, аланина и глицина по сравнению с контролем. Содержание в перфузионном растворе других аминокислот (валина, лейцина, изолейцина, аргинина, тирозина, триптофана, серина, фенилаланина, лизина) было незначительным и не зависело от ионного состава среды перфузии (данные не представлены). Последующая реперфузия Ca-содержащим раствором усиливала выход миоглобина из сердца более чем за четыре раза по сравнению с экспериментами, в которых бескальциевая среда содержала физиологическую

концентрацию хлорида натрия (табл. 4). Одновременно отмечалось полное разобщение процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях, уменьшение до нуля концентрации АТФ и фосфокреатина в мышце сердца (табл. 2,3).

Таблица 2. Влияние концентрации Na^+ на содержание адениннуклеотидов, фосфокреатина и креатина в сердце при "кальциевом парадоксе" (мкмоль/г сухой массы).

$[\text{Na}^+]$ в бескальциевой среде	АТФ	АДФ	АМФ	креатин	фосфокреатин
интактное сердце	$23,5 \pm 0,7^*$	$8,5 \pm 0,3^*$	$1,1 \pm 0,02^*$	$51,7 \pm 1,7^*$	$34,3 \pm 4,70^*$
$[\text{Na}^+] = 140 \text{ мМ}$ (контроль)	$4,9 \pm 0,1$	$3,5 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,10$	$35,2 \pm 1,1$	$0,7 \pm 0,03$
$[\text{Na}^+] = 30 \text{ мМ}$	$0 \pm 0^*$	$2,4 \pm 0,3^*$	$2,2 \pm 0,10^*$	$17,4 \pm 0,4^*$	$0 \pm 0^*$
$[\text{Na}^+] = 200 \text{ мМ}$, строфантин 50 мкМ	$0 \pm 0^*$	$1,8 \pm 1,1$	$2,3 \pm 1,4$	$11,4 \pm 0,4^*$	$0 \pm 0^*$
$[\text{Na}^+] = 200 \text{ мМ}$	$12,6 \pm 0,3^*$	$2,7 \pm 0,2^*$	$1,4 \pm 0,10^*$	$69,9 \pm 3,8^*$	$8,8 \pm 1,60^*$

Таблица 3. Влияние концентрации ионов натрия во время перфузии сердца бескальциевой средой на некоторые показатели окислительного фосфорилирования митохондрий после реперфузии Ca^{2+} -содержащим раствором "кальциевом парадоксе"

Серии экспериментов	Субстраты окисления					
	Глутамат и малат (по 5 мМ)			α -кетоглутарат (10 мМ)		
	ДК/Чанс/	АДФ/О	АДФ/Т мкмоль/с на мг белка	ДК/Чанс/	АДФ/О	АДФ/Т мкмоль/с на 1 мг белка
исходное состояние	$3,97 \pm 0,10^{**}$	$3,01 \pm 0,10^{**}$	$7,08 \pm 0,1^{**}$	$3,17 \pm 0,2^{**}$	$3,02 \pm 0,20^*$	$5,98 \pm 0,30^{**}$
$\text{Na}^+ = 140 \text{ мМ}$ (контроль)	$1,22 \pm 0,04$	$1,16 \pm 0,40$	$0,48 \pm 0,2$	$1,09 \pm 0,3$	$1,09 \pm 0,3$	$0,42 \pm 0,04$
$\text{Na}^+ = 30 \text{ мМ}$	$1,01 \pm 0,10$	-	-	$1,05 \pm 0,10$	-	-
$\text{Na}^+ = 200 \text{ мМ}$	$3,18 \pm 0,10^{**}$	$3,29 \pm 0,05^{**}$	$3,73 \pm 0,14^{**}$	$2,15 \pm 0,08^*$	$2,14 \pm 0,10^{**}$	$2,87 \pm 0,64^{**}$
$\text{Na}^+ = 200 \text{ мМ}$ строфантин 50 мкМ	$1,03 \pm 0,11$	-	-	$1,06 \pm 0,12$	-	-
$\text{Na}^+ = 140 \text{ мМ}$ сахараза 120	$1,26 \pm 0,04$	$1,18 \pm 0,4$	$0,52 \pm 0,2$	$1,19 \pm 0,3$	$0,56 \pm 0,01$	$0,56 \pm 0,01$

Примечание: Представлены данные 5-14 экспериментов в серии. Значимость различий по сравнению с контролем ($\text{Na}^+ = 140 \text{ мМ}$).

Таким образом, снижение концентрации Na^+ в бескальциевой среде усиливает набухание кардиомиоцитов и выход из них аминокислот.

Увеличение концентрации Na^+ до 200 мМ, наоборот, препятствовало выходу аминокислот в оттекающий перфузионный раствор (табл. 1). Одновременно уменьшался выход миоглобина из сердца при реперфузии Ca^{2+} -содержащим раствором, сохранялась на высоком уровне концентрация АТФ и фосфокреатина, сопряжение процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях (табл. 1-4). Одновременно гипернатриевая среда ослабляла накопление воды в миокарде более чем в 2 раза по сравнению с контролем. Для уточнения механизма действия высокой концентрации Na^+ были проведены эксперименты, в которых осмотическое давление бескальциевой среды было увеличено путем добавления сахарозы, но не хлорида натрия. Опыты показали, что такие растворы не снижают потерю миокардом аминокислот, накопление воды и глубину повреждения сердца при "кальциевом парадоксе".

Как известно, высокий внеклеточный уровень натрия способен создавать более высокий трансмембранный градиент Na^+ только в условиях сохранения активности Na^+/K^+ -

АТФазы [10]. Для уточнения данного положения нами были проведены эксперименты, в которых изучалось влияние гипернатриевой среды в условиях, приводящих к снижению активности Na,K-АТФазы. С этой целью в бескальциевый раствор добавляли 50 мкМ строфантин. Реперфузию сердца осуществляли исходным раствором, содержащим физиологический уровень Ca^{2+} и Na^+ . Эксперименты показали, что в присутствии блокатора Ка,К-АТФазы гипернатриевая среда теряет защитные свойства и усиливает как выход аминокислот из миокарда, так и набухание кардиомиоцитов.

Таблица 4. Влияние концентрации Na^+ и сахарозы на содержание воды в миокарде (мл/мг сухой массы) и выход аминокислот из сердца (мкг/г сухой массы) при перфузии сердца бескальциевой средой ($M \pm m$)

Серия экспериментов	Суммарное количество аминокислот (Тау, Ала, Глу, Гли, Гли, Асп, Асп)	Количество воды
$[\text{Ca}^{2+}] = 0$ $[\text{Na}^+] = 140 \text{ mM}$ контроль 1	$85,77 \pm 12,2$	$11,54 \pm 0,20$
$[\text{Ca}^{2+}] = 0$ $[\text{Na}^+] = 30 \text{ mM}$	$334,0 \pm 12,4$	$33,95 \pm 0,25^{**}$
$[\text{Ca}^{2+}] = 0$ $[\text{Na}^+] = 200 \text{ mM}$	$78,33 \pm 11,4$	$3,49 \pm 0,10^{**}$
$[\text{Ca}^{2+}] = 0$ $[\text{Na}^+] = 140 \text{ mM}$ сахароза 120 mM	$156,1 \pm 6,9$	$11,09 \pm 0,82$

Таким образом, для осуществления действия гипернатриевой средой необходимо сохранение активности Na,K-АТФазы. Содержание Na^+ в бескальциевой среде определяет не только содержание воды в миокарде, но и глубину его повреждения при восстановлении физиологической концентрации Ca^{2+} .

Таким образом, увеличение концентрации Na^+ в бескальциевой среде ослабляет потерю некоторых аминокислот миокардом. Изменения осмотического давления раствора не влияют на проявление защитных свойств гипернатриевой среды.

Добавление блокатора Cl⁻ каналов IAA94 (1,5 мкМ) или K⁺-Cl⁻ симпорта усиливало выход таурина, глутамата, глутамина, аспартата, аспарагина, аланина и глицина из сердца (табл. 1). Ингибитор Na/H антипорта НМА (1 мкМ) не влиял на потерю аминокислот при перфузии сердца бескальциевой средой.

Таким образом, блокирование анионотранспортных систем сарколеммы (Cl⁻ каналов или K⁺-Cl⁻ симпорта) усиливало выход некоторых аминокислот из кардиомиоцитов.

Как известно, изменение клеточного объема и связанного с ним выхода аминокислот может оказать влияние на метаболизм кардиомиоцитов. Внутриклеточный пул аминокислот в миокарде необходим не только для синтеза белка, но и является важным источником кетокислот для цикла Кребса и сопряженного с ним окислительного фосфорилирования. Учитывая это, представляло интерес изучение взаимосвязи между интенсивностью потери аминокислот для функционального состояния митохондрий при "кальциевом парадоксе". Анализ полученных данных показал наличие обратной зависимости между потерей аминокислот при перфузии сердца бескальциевой средой и функциональным состоянием митохондрий сердца при "кальциевом парадоксе" (рис. 1,2). Интенсивная потеря аминокислот при удалении Ca^{2+} из раствора препятствует восстановлению величины дыхательного контроля митохондрий (по Чансу) и скорости фосфорилирования (АДР/т) во второй фазе "кальциевого парадокса". Вследствие этого наблюдалось низкое содержание в миокарде АТФ и фосфокреатина (рис 1,2, табл. 2). Данные изменения удалось в значительной степени ослабить увеличением трансмембранного градиента Na^+ .

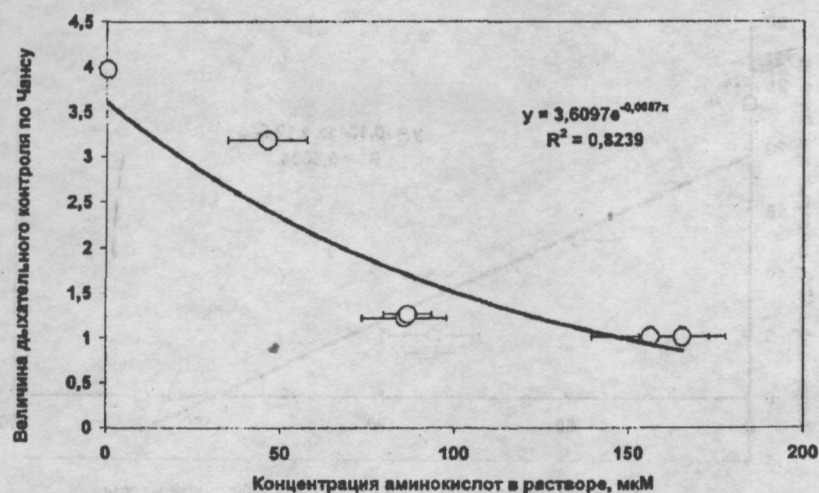


Рисунок 1 А

Зависимость между содержанием аминокислот (глутамата, глутамина, аспартата, аспарагина, глицина и аланина) в оттекающем от сердца перфузионном растворе и величиной дыхательного контроля митохондрий по Чансу

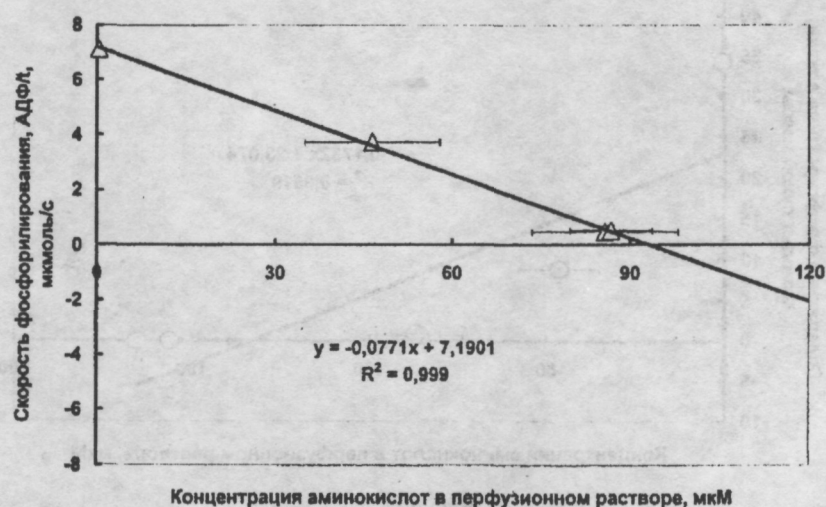


Рисунок 1 Б

Зависимость между содержанием аминокислот (глутамата, глутамина, аспартата, аспарагина, глицина и аланина) в оттекающем от сердца перфузионном растворе и скорости фосфорилирования (АДФ/т)

Известно, что снижение внеклеточной концентрации Ca^{2+} (менее 1 мкМ) приводит к потере медленными каналами своей селективности и поступлению через них ионов натрия внутрь клеток [2,4]. Кроме того, Na^+ может проникать в кардиомиоциты через систему $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ обмена. Одновременно происходит снижение активности Na,K-ATFазы более чем на 50-75 % [5]. Вследствие этого, концентрация натрия в цитоплазме увеличивается в 5-10 раз по сравнению с физиологическими условиями [11,2]. Полагают, что одновременно с Na^+ в клетках накапливается Cl^- [3,4,5,6]. В результате этих изменений в кардиомиоциты по осмотическому градиенту поступает вода и происходит их набухание.

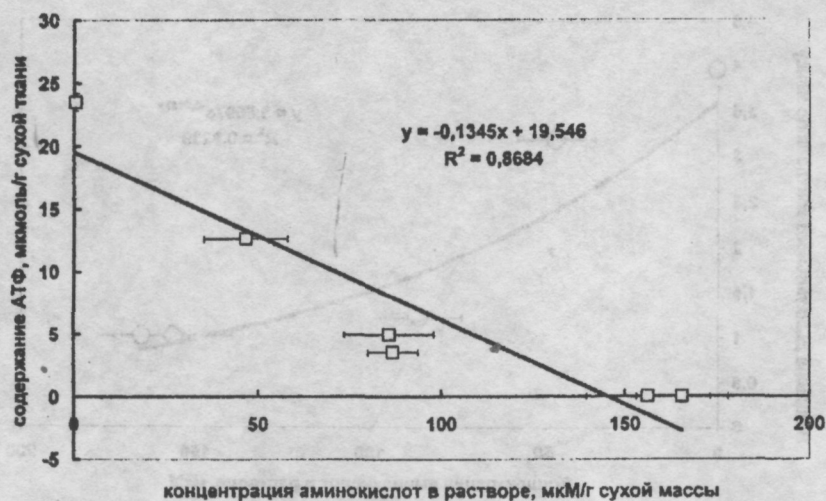


Рисунок 2 А

Зависимость между содержанием аминокислот (глутамата, глутамина, аспартата, аспарагина, глицина и аланина) в оттекающем от сердца перфузионном растворе и содержанием АТФ в миокарде

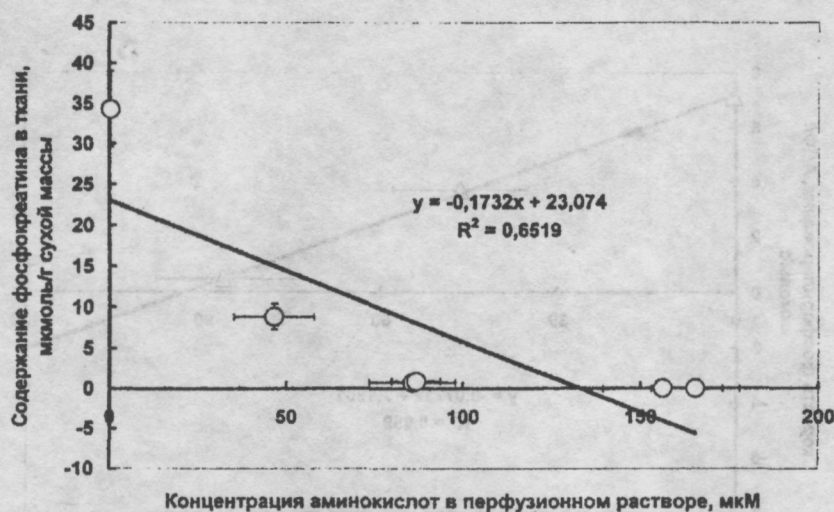


Рисунок 2 Б.

Зависимость между содержанием аминокислот (глутамата, глутамина, аспартата, аспарагина, глицина и аланина) в оттекающем от сердца перфузионном растворе и содержанием фосфокреатина в миокарде. Представлены значения среднего и доверительные интервалы для $p < 0,05$, а также уравнение и достоверность аппроксимации.

Как известно, накопление Na^+ и Cl^- внутри кардиомиоцитов вызывает не только увеличение их размера, но и активирует механизмы сохранения клеточного объема путем активирования выхода из клеток осмотически активных веществ (осмолитов). Для Cl^- эту функцию выполняют Cl^- каналы и K^+-Cl^- котранспорт, для аминокислот-аминокислотный транспортный механизм, активируемый Na^+ . Однако, как показали проведенные нами исследования, активирование выхода аминокислот из кардиомиоцитов происходит не только вследствие снижения градиента Na^+ , но и блокирования других анионотранспортных систем сарколеммы (Cl^- каналов IAA-94 или K^+-Cl^- симпорта DIOA). Следствием этого является увеличение набухания кардиомиоцитов (табл. 1) и активирование другого механизма сохранения клеточного объема- выхода аминокислот из кардиомиоцитов. Система передачи сигнала от цитоскелета клеток до

ионотранспортных систем сарколеммы, в том числе и до аминокислотного транспортного механизма, является чрезвычайно сложной и до конца не изучена [4-6]. Выяснение детальных механизмов потери аминокислот миокардом при набухании кардиомиоцитов является предметом дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dhalla N.S., Alto L.E., Singal P.K. (1983) Eur.Heart J. **40**, 51-56 (Suppl. H).
2. Chapman R.A. Tunstall J. (1987) Pmg. Biophys. Mol. Biol. **50**, 67-96.
3. Pena- Rasgado C., K.D. McGruder, J.C. Summers, H.Rasgado-Flores (1994) Am. J. Physiol. **267**, C768- C775.
4. Rasmusson R.L., Davis D.G., Lieberman M. (1993) Am. J. Physiol. **264**, C136-C145.
5. Sarkadi B.,Parker J.C. (1991) Biochim. Biophys. Acta. **1071**. 407-427.
6. Sorota S. (1992) Circul.Res. **70**. 679-687.
7. SuleimanM.-S., Chapman R.A. (1993) Cardiovasc. Res. **27**, 1810- 1814.
8. Bergmeyer H.-U. (1963) Methods in enzymatic analysis. New York, Acad.Press 1464-1468; 1777-1779; 2101-2110; 2129-2131.
9. Eggleton P., Elsen S., Gough N. (1943). Biochem. J. **37**, 526-529.
10. Алабовский В.В.,Винокуров А.А. (1992) Биохимия. **57**-К10. 1540-1547.
11. Кужман М.И., Алабовский В.В., Олейников О.Д. (1984) Вести АМН СССР. **4**, 35-41.
12. Rodrigo G., Chapman R.A. (1990) Exp. Physiol. **75**, 839- 842.

Поступила 05.04.97.

IMPORTANCE OF IONTRANSPORTING SARCOLEMMAL SYSTEMS IN LOSS OF AMINO ACIDS DURING Ca DEPLETION AND MYOCARDIAL DAMAGE DURING THE CALCIUM PARADOX

V.V. ALABOVSKY, CRAGOE EJ, JR.(*), A.A. WINOKUROV

Voronezh State Medical Academy, 10- Studencheskaya street, Voronezh, 394622, Russian
(*)Nacogdoches TX 75963- 1548, P.O. Box 631548, Texas, USA;

The loss of myocardial aminoacids is known to depend on sodium gradient across sarcolemma. This is regulated by changes of cellular volume as well. It is suggested that loss of aminoacids can be regulated by blocking of anion - transpoting systems during Ca-free perfusion. It have been found that calcium depletion from extracellular medium exacerbates release ofaminoacids two- four fold. Sodium lowering (from 140 mM to 30 mM) accelerates and sodium elevation (from 140 mM to 200 mM) attenuates loss oftaurine, glutamine, glycine, glutamate, aspartate, alanine and asparagine, but does not hydrophobic aminoacids.

Inhibition of Cl- channels by IAA94 or K-Cl cotransport with DIOA icreases the loss oftaurine, glutamine, glycine, glutamate, aspartate, alanine and asparagine during Ca-free perfusion.

The release ofaminoacids during Ca- free perfusion is negatively correlated with recovery of oxydative phosphorylation during the second phase the calcium paradox- Ca- readmission.

Key words: heart, сердце, "calcium paradox", Na^+ damage, creatine, amino acids .