

ВЛИЯНИЕ ТАЛЛИЯ НА ДИНАМИКУ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ В КАРДИОМИОЦИТАХ КРЫСЫ

© 2017 г. К.В. Соболев, В.П. Нестеров, Г.Б. Белостоцкая, С.М. Коротков

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
194223, Санкт-Петербург, просп. Тореза, 44*

E-mail: peep9@yandex.ru

Поступила в редакцию 21.07.16 г.

Исследовано влияние ионов Tl^+ на динамику внутриклеточного кальция $[Ca^{2+}]_i$ в неонатальных кардиомиоцитах крысы. Впервые показано, что аппликация Tl^+ приводит к неконтролируемому увеличению $[Ca^{2+}]_i$ в клетках. При этом способность Tl^+ увеличивать $[Ca^{2+}]_i$ зависела от применяемой концентрации Tl^+ и времени его экспозиции с клетками. Увеличение $[Ca^{2+}]_i$ происходило за счет входа внеклеточного Ca^{2+} . Таллий не обладал способностью высвобождать Ca^{2+} из внутриклеточных депо. Таллий-индуцируемое увеличение $[Ca^{2+}]_i$ в клетках не ингибировалось нифедипином. Возможно, L-каналы не принимают участия в процессах таллий-индуцируемого увеличения $[Ca^{2+}]_i$. Предполагается, что индуцируемая ионами Tl^+ кальциевая перегрузка кардиомиоцитов может вносить свой вклад в токсическое действие Tl^+ на миокард.

Ключевые слова: таллий, миокард, кардиомиоциты, Ca^{2+} , митохондрии, токсичность.

Методы радионуклидной диагностики впервые были применены для регистрации центральной гемодинамики у больных с сердечно-сосудистой патологией в середине 1930-х гг. В кардиологии особый прогресс стал очевиден после синтеза целого ряда кардиотропных препаратов, особенно препаратов с изотопом ^{201}Tl , при помощи которого стало возможно оценивать состояние перфузии миокарда. Радионуклидное сканирование миокарда с радиоактивным таллием ^{201}Tl основано на том, что изотоп накапливается только жизнеспособным миокардом и практически не поступает в область некроза.

^{201}Tl является радиофармакологическим препаратом, наиболее апробированным в оценке жизнеспособности и перфузии миокарда при использовании компьютерной томографии [1,2]. Таллий применяется для диагностики опухолей [3,4], так как способен накапливаться в опухолевых клетках. Локализация таллия в опухоли зависит от множества факторов, таких как приток крови, жизнеспособность ткани, активность Na^+/K^+ -АТФазы, состояние энергонезависимых транспортных систем клетки – Ca^{2+} -каналов, проницаемость сосудов и мембран клеток [4]. При попадании в организм таллий обнаруживается во всех органах, при этом его значительное накопление происходит в сосудистом

сплетении желудочков мозга, слюнных и слезных железах, щитовидной железе, в миокарде, яичках, в печени и селезенке, но в наибольшем количестве – в почках [5,6]. Таллий длительно задерживается в организме, поскольку выведение таллия происходит медленно вследствие большого сродства ионов этого металла к тканевым калиевым переносчикам, в частности к Na^+/K^+ -АТФазе.

Таллий и его соединения высокотоксичны. Тяжесть токсического поражения зависит от дозы, времени экспозиции, скорости абсорбции таллия, возраста и индивидуальной чувствительности [7]. При отравлении таллием максимальные концентрации были обнаружены в мембране толстого кишечника, левом желудочке сердца и гипофизе [6]. При отравлении таллием крыс были обнаружены значительные структурные повреждения митохондриальных и клеточных мембран почек, печени и кишечника [8–11]. Помимо этого, Tl^+ может влиять на распределение Ca^{2+} в клетке. Большинство исследований посвящено изучению влияния Tl^+ на общее накопление кальция в различных тканях [12], однако изучение динамики концентрации внутриклеточного кальция ($[Ca^{2+}]_i$) в клетках после аппликации Tl^+ не проводилось.

Учитывая высокую абсорбционную способность таллия в миокарде, его широкое использование в медицинской практике, в частности в клинической кардиологии, мы исследовали

Сокращения: $[Ca^{2+}]_i$ – концентрация внутриклеточного кальция, КЗНК – кальций-зависимый неспецифический канал.

влияние таллия на $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах крысы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании были использованы самки крыс линии Вистар массой 250–300 г. Животных выдерживали при 20–23°C, в световом режиме: 12 ч света и 12 ч темноты и свободном доступе к воде и стандартной диете.

Выделение кардиомиоцитов. Методы выделения кардиомиоцитов и регистрации $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах были подробно описаны ранее [13]. Новорожденных крыс линии Вистар (однодневного возраста) усыпляли при помощи углекислого газа. Для выделения кардиомиоцитов сердца измельчали и инкубировали при 37°C в течение 40–50 мин в растворе Рингера для грызунов следующего состава: 146 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 2 мМ CaCl₂, 1 мМ MgCl₂, 11 мМ глюкозы, 10 мМ HEPES (pH 7,4), содержащем коллагеназу типа IA (1 мг/мл, Sigma, США) и трипсин (0,12%, Биолот, Россия). После фильтрации и центрифугирования клетки переносили в питательную среду DMEM (Биолот, Россия) с 10% эмбриональной сыворотки (Биолот, Россия) и антибиотиками (пенициллин (50 ед./мл)/стрептомицин (50 мкг/мл)). Мышечные клетки удаляли предварительной инкубацией на стеклянных чашках Петри в течение 40–50 мин при 37°C. Затем неприкрепившиеся клетки инкубировали на полосках покровных стекол (12 ± 24 мм), покрытых поли-D-лизином (0,1 мг/мл, MP Biomedicals, США). Клетки инкубировали в инкубаторе с CO₂ (Joan, Франция) при 5% CO₂, влажности 95%, температуре 37°C. Среду заменяли на новую каждые два дня. Клетки культивировали в течение 5–10 дней до начала экспериментов.

Измерение внутриклеточного кальция. Для измерения $[Ca^{2+}]_i$ покровные стекла с клетками инкубировали в растворе Рингера с флуоресцентным красителем Fura 2 AM (Sigma, США) в концентрации 5 мкмоль/л в течение 1 ч при 26°C. Затем клетки отмывали раствором Рингера в течение 30 мин и измеряли $[Ca^{2+}]_i$ при комнатной температуре на покровных стеклах, расположенных над объективом инвертированного микроскопа. $[Ca^{2+}]_i$ регистрировали с помощью компьютерной системы по внутриклеточному анализу изображений и фотометрии (Intracellular Imaging & Photometry System, США), включающей инвертированный микроскоп Nikon TMS (объектив 30×) с монохромной цифровой видеокамерой RS-170 CCD (Cohu Inc., США), компьютер и программное обеспечение. Возбуждение образца осуществляли

при длинах волн 340 и 380 нм, а эмиссию регистрировали при 510 нм. Изменение концентрации кальция было эквивалентно изменению соотношения (R) интенсивностей флуоресценции при 340 и 380 нм ($R = F_{340}/F_{380}$). Экспериментальные данные выражались в относительных единицах.

Статистика. Результаты представлены в виде средних значений и стандартного отклонения по меньшей мере для трех независимых экспериментов, для 5–25 клеток в каждом эксперименте; N – число экспериментов, n – количество клеток.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Нормальная функция сердечной мышцы зависит от ионов кальция. В данной работе мы изучали влияние Tl⁺ на динамику $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах крысы. Аппликация Tl⁺ в физиологическом растворе приводила к увеличению $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах. При этом увеличение $[Ca^{2+}]_i$ в клетках зависело от концентрации Tl⁺ и времени его экспозиции с клетками. Например, 1 мМ Tl⁺ не инициировал увеличение $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах по меньшей мере в течение первых 5 мин после аппликации металла (данные не показаны). Однако концентрация Tl⁺ в 1,5 мМ уже вызывала повышение $[Ca^{2+}]_i$ в клетках в течение 5 мин (рис. 1). Каждая кривая на рис. 1 соответствует сигналу, полученному от одной клетки. Для стимуляции входа Tl⁺ в клетки мы использовали нонактин (рис. 1б). При этом время реакции клеток на аппликацию таллия с нонактином было меньше, чем для клеток без нонактина. Следует отметить, что 72 ± 3% кардиомиоцитов не реагировали на аппликацию 1,5 мМ Tl⁺ в растворе без нонактина в течение 6 мин, в то время как в растворе 1,5 мМ Tl⁺ с 1 мМ нонактином 70 ± 4% клеток реагировали увеличением $[Ca^{2+}]_i$ ($n = 35$, $N = 4$).

Реакция кардиомиоцитов в ответ на аппликацию Tl⁺ была неоднородной. Одновременного ответа клеток на аппликацию Tl⁺ не наблюдалось. Для разных клеток задержка ответа на воздействие Tl⁺ была различной (рис. 1).

Ранее было показано, что нонактин может вызывать гибель кардиомиоцитов [14]. В наших экспериментах мы использовали заведомо низкую концентрацию нонактина (1 мкМ) и короткое время экспозиции, не более 16 мин. Влияние 1 мкМ нонактина на динамику изменения $[Ca^{2+}]_i$ показано на рис. 2. Увеличение $[Ca^{2+}]_i$ в начале эксперимента, непосредственно после аппликации нонактина, было незначительным и кратковременным. Аналогичные ре-

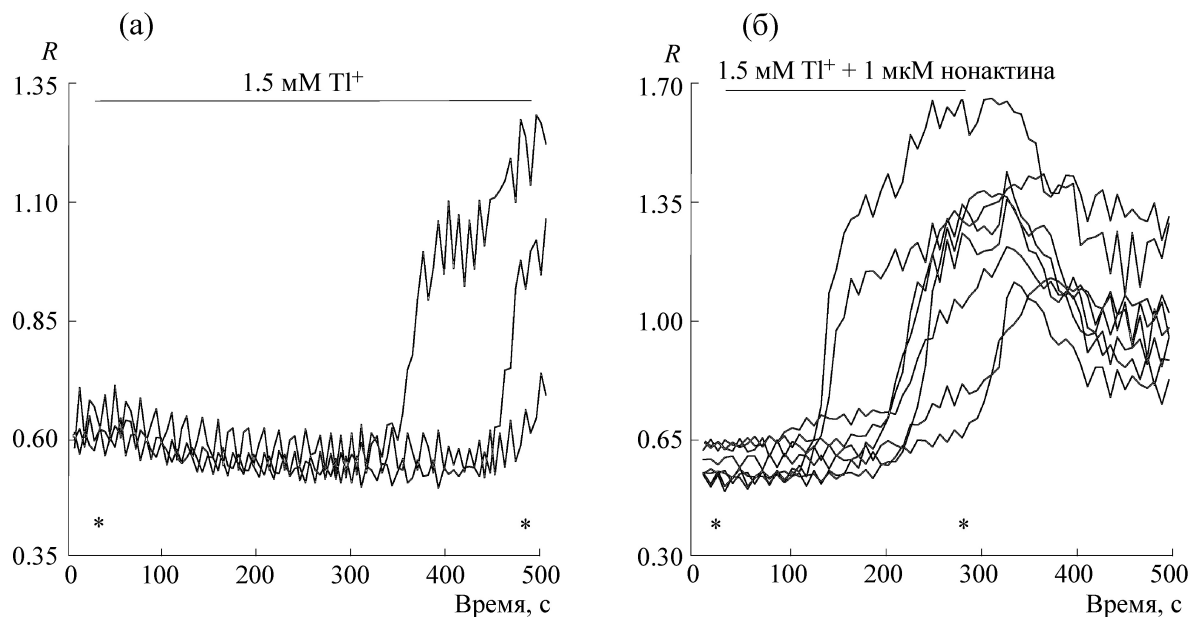


Рис. 1. Изменение концентрации внутриклеточного кальция в кардиомиоцитах в ответ на аппликацию 1,5 мМ Tl^+ : (а) – без нонактина ($n = 3$), (б) – с 1 мкМ нонактина ($n = 8$). Длительности применения Tl^+ и нонактина обозначены горизонтальными линиями над рисунком. Каждая кривая является кальциевым ответом одной клетки. В одном эксперименте было использовано одно покрывное стекло с клетками. Аналогичные результаты были воспроизведены в трех–четыре независимых экспериментах. По оси ординат – параметр R (отношение интенсивностей флуоресценции при 340 и 380 нм, отн. ед.). Звездочки внизу рисунка указывают на время аппликации и отмывания соответствующих растворов, обозначенных горизонтальными линиями над рисунком.

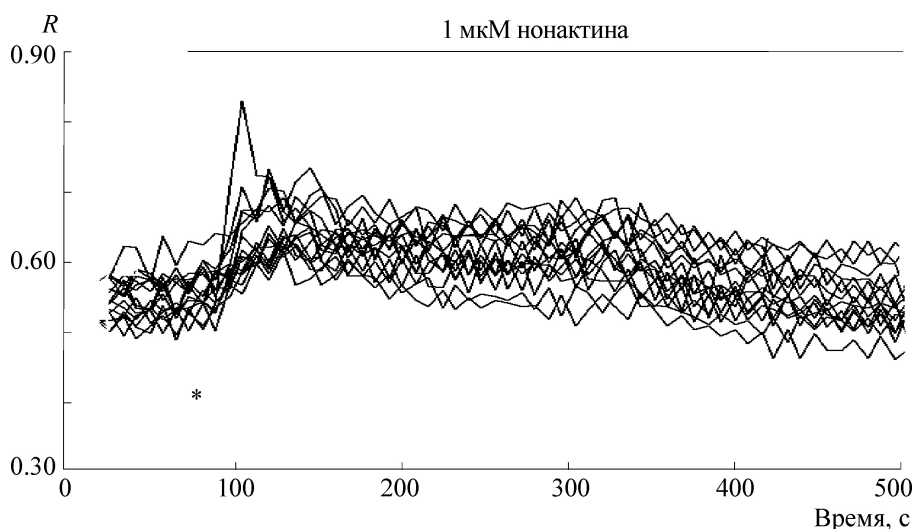


Рис. 2. Изменение концентрации внутриклеточного кальция в кардиомиоцитах в ответ на аппликацию 1 мкМ нонактина. Обозначения те же, что и на рис. 1.

зультаты были получены в трех независимых экспериментах. Только $19 \pm 2\%$ клеток ответили на нонактин ($n = 29$, $N = 3$).

В следующей серии экспериментов нами было продемонстрировано, что увеличение $[Ca^{2+}]_i$ было обусловлено не высвобождением Ca^{2+} из внутриклеточных депо, а входом внеклеточного

Ca^{2+} через плазматическую мембрану кардиомиоцитов, поскольку удаление внеклеточного Ca^{2+} в растворе предотвращало устойчивое увеличение $[Ca^{2+}]_i$, вызываемое Tl^+ . В наших экспериментах Ca^{2+} из внеклеточного раствора заменяли на 2 мМ EGTA как до (рис. 3а), так и после добавления Tl^+ (рис. 3б). Из рис. 3а видно, что в отсутствие внеклеточного Ca^{2+}

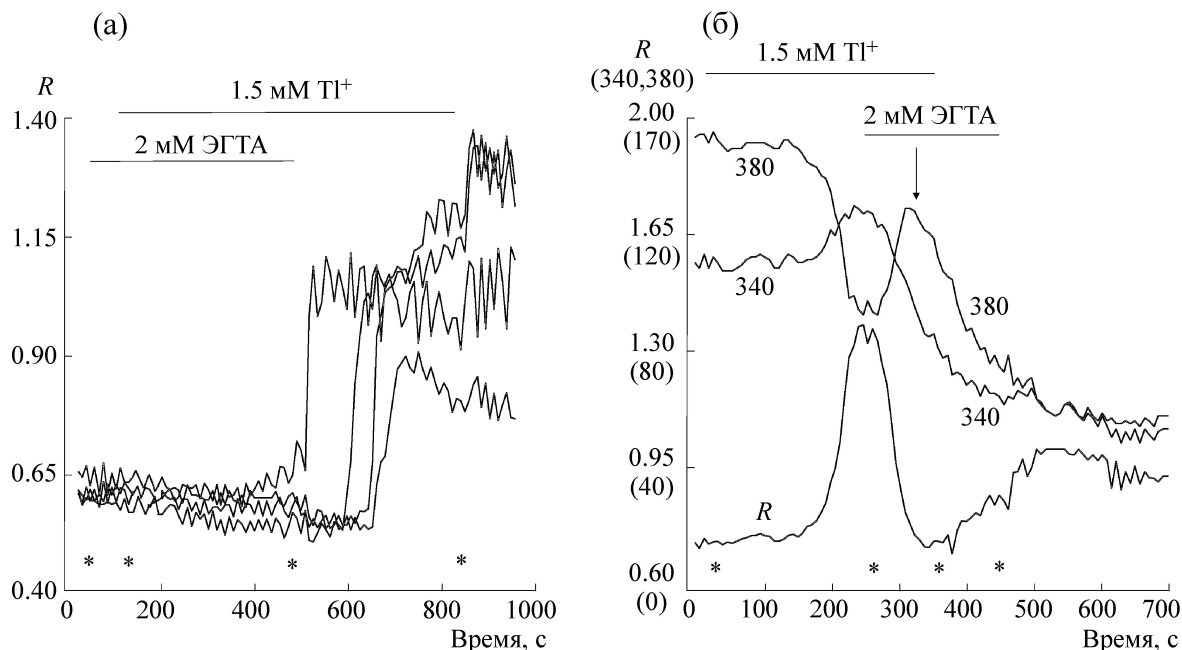


Рис. 3. Изменение концентрации внутриклеточного кальция в кардиомиоцитах в ответ на аппликацию $1,5 \text{ mM Tl}^+$ в бескальциевых растворах. Бескальциевый раствор добавлен: (а) – до аппликации $1,5 \text{ mM Tl}^+$ ($n = 3$); (б) – во время ответа клетки на $1,5 \text{ mM Tl}^+$ ($n = 1$). Все растворы содержали 1 мкМ нонактина (не показано). Бескальциевый раствор содержал 2 mM EGTA и не содержал кальция. Флуоресцентные сигналы возбуждения F_{380} и F_{340} показаны соответствующими цифрами около кривых. Стрелкой показано начало падения флуоресцентных сигналов (приблизительное время выхода красителя из клетки, см. объяснение в тексте). Другие обозначения те же, что и на рис. 1.

увеличения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ не наблюдалось. Более того, наблюдалось снижение $[\text{Ca}^{2+}]_i$, вызванное предыдущей аппликацией Tl^+ (рис. 3б). Для упрощения анализа на рис. 3б показан характерный ответ (R) одной клетки вместе с двумя флуоресцентными сигналами возбуждения при 380 нм (F_{380}) и 340 нм (F_{340}). Аналогичные эффекты наблюдались для всех клеток, в которых происходило увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в ответ на аппликацию Tl^+ ($n = 25, N = 3$). Особенностью ответа клеток на воздействие Tl^+ является то, что таллий, по-видимому, нарушает целостность цитоплазматической мембраны. Во время характерного ответа на аппликацию Tl^+ сигнал F_{380} начинает снижаться, а F_{340} увеличиваться. При удалении внеклеточного Ca^{2+} и Tl^+ сигналы F_{380} и F_{340} начинают стремиться к своим первоначальным значениям, однако не достигают этих величин и начинают стремительно падать, как показано стрелкой на рис. 3б. Это может свидетельствовать о выходе красителя из клетки, поскольку фотообесцвечиванием красителя за такой короткий промежуток времени можно пренебречь. Флуоресцентные сигналы большинства клеток после эксперимента не восстанавливались (рис. 4), и в дальнейшем все клетки погибали в течение $20\text{--}40$ мин после аппликации $1,5 \text{ mM Tl}^+$.

Трансмембранный перенос ионов кальция осуществляется через кальциевые каналы. В клетках миокарда расположены преимущественно медленные кальциевые каналы L-типа, которые блокируются соответствующими блокаторами кальциевых каналов. Чтобы выяснить, стимулирует ли Tl^+ вход кальция через L-каналы кардиомиоцитов, мы использовали нифедипин – селективный блокатор кальциевых каналов. В наших экспериментах нифедипин в концентрации 50 мкМ не оказывал никакого влияния на увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_i$, вызываемого аппликацией Tl^+ (рис. 5). Однако последующее добавление бескальциевого раствора снижало ответ клеток на Tl^+ ($1,5 \text{ mM}$). Аналогичные результаты были получены в трех независимых экспериментах.

ОБСУЖДЕНИЕ

Трансмембранный вход Ca^{2+} в саркоплазму кардиомиоцитов является основным событием в реализации механизма возбуждения–сокращения [15]. Увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ происходит в основном за счет входа Ca^{2+} через плазматическую мембрану. В наших экспериментах было продемонстрировано, что Tl^+ стимулирует значительный вход Ca^{2+} в кардиомиоциты, при этом не высвобождая Ca^{2+} из внутриклеточных

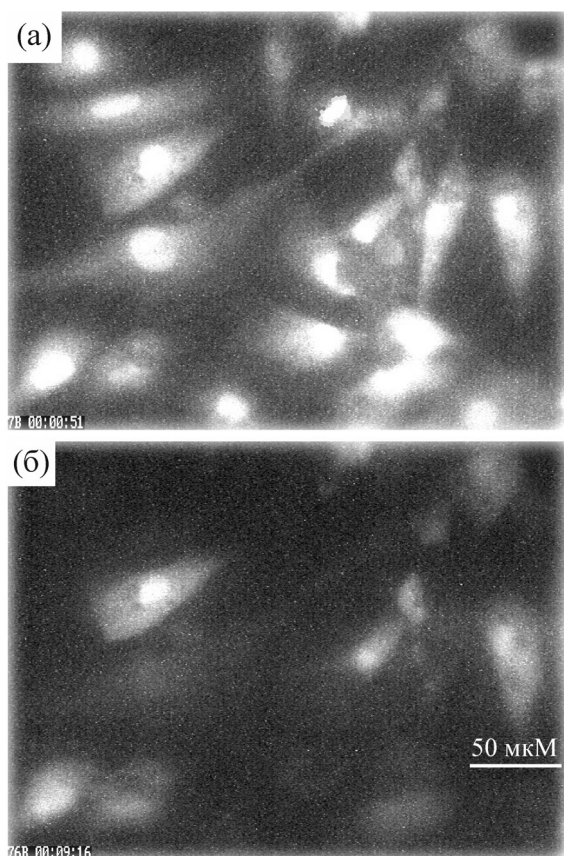


Рис. 4. Изображения кардиомиоцитов, нагруженных Fura 2 AM и флуоресцирующих при возбуждении 380 нм: (а) – в начале эксперимента, представленного на рис. 3б; (б) – в конце эксперимента.

депо. Таким образом, Tl^+ может влиять на процессы возбуждения–сокращения в сердце. Например, ранее было показано, что 4 мМ Tl^+ полностью подавляют сердечные сокращения лягушки [16], а 4,7 мМ – крысы [17]. При этом пейсмерные клетки более чувствительны к влиянию таллия, чем сократительные кардиомиоциты [17]. Tl^+ обладает способностью длительно задерживаться в тканях организма [17,18], а 1 мМ Tl^+ необратимо повреждал скелетные мышцы [18].

Снижение высокого уровня $[Ca^{2+}]_i$, индуцированного аппликацией Tl^+ в кардиомиоцитах в бескальциевой среде, означает, что клеточные механизмы поддерживающие гомеостаз Ca^{2+} , продолжают функционировать после отмывания Tl^+ . Однако значительные (миллимолярные) концентрации Tl^+ являются токсичными для клеток и, возможно, нарушают целостность плазматической мембраны клеток, поскольку мы наблюдали необратимое падение флуоресцентного сигнала после аппликации Tl^+ . Наши результаты согласуются с данными, полученными в работе [18], которые показали, что 1 мМ Tl^+ приводил к необратимым изменениям

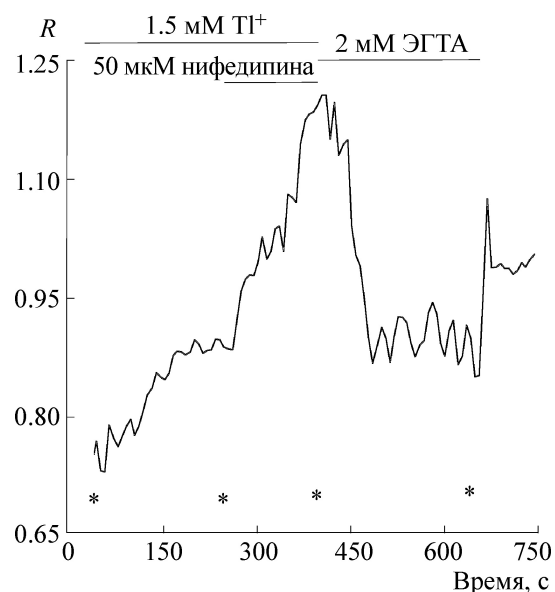


Рис. 5. Изменения в концентрации внутриклеточного кальция в кардиомиоцитах в ответ на аппликацию 1,5 мМ Tl^+ , нифедипина (50 мкМ) и бескальциевого раствора. 1 мкМ нонактина добавляли в растворы Tl^+ и нифедипина (не показано). Показана средняя величина ответа для четырех клеток. Аналогичные результаты были получены в трех независимых экспериментах. Другие обозначения те же, что и на рис. 1.

функции цитоплазматической мембраны скелетных мышц лягушки.

В наружной мембране клеток миокарда расположены преимущественно медленные кальциевые каналы L-типа [15], которые блокируются соответствующими блокаторами кальциевых каналов. Нифедипин в концентрации 2 мкМ эффективно блокировал вход Ca^{2+} в кардиомиоциты [19,20]. Однако в наших экспериментах нифедипин даже в высоких концентрациях (50 мкМ) не блокировал Tl^+ -индуцированный вход Ca^{2+} в клетки. Клеточные механизмы таллий-индуцированного увеличения $[Ca^{2+}]_i$ не совсем ясны, тем не менее, наиболее вероятным механизмом может являться нарушение целостности плазматической мембраны после аппликации Tl^+ .

Для стимуляции входа Tl^+ в клетки мы использовали ионофор нонактин, который увеличивает энергозависимый транспорт ионов Tl^+ в митохондриальный матрикс [21] и при некоторых условиях может вызывать гибель кардиомиоцитов [14]. 33% кардиомиоцитов погибли при использовании высокой концентрации нонактина (10 мкМ) и длительной (60 мин) экспозиции с ним клеток [14]. В концентрации 20–100 мкМ нонактин увеличивал $[Ca^{2+}]_i$ в цитоплазме невозбудимых клеток [22]. Авторы предположили, что увеличение $[Ca^{2+}]_i$ обусловлено

высвобождением кальция из внутриклеточных депо. Однако в условиях наших экспериментов оказалось, что используемые концентрации нонактина (1 мкМ) приводили к незначительному и кратковременному увеличению $[Ca^{2+}]_i$ (рис. 2). Кроме того, большинство клеток никак не реагировали на аппликацию нонактина в такой концентрации. Поэтому эффектами нонактина в наших экспериментах можно пренебречь.

Tl^+ легко проникает в организм через кожу, респираторные пути и желудочно-кишечный тракт [23–25]. Таллий и его соединения высокотоксичны. Отравление ионами Tl^+ людей сопровождается тахикардией, гипертонией, алопецией и аксональной нейропатией [5,6,23,26]. Таллий обнаруживается во всех органах, при этом значительное накопление таллия происходило в корковом слое почек, сосудистом сплетении желудочков мозга, слюнных и слезных железах, щитовидной железе, в миокарде, яичках, в печени и селезенке, но в наибольшем количестве в почках [5,6,27]. При отравлении таллием максимальные концентрации были обнаружены в почках, мембране толстого кишечника, левом желудочке сердца и гипофизе [6]. Наблюдались различные типы атрофии мышечных волокон у отравленных крыс [18,28,29].

Внутриклеточное накопление Tl^+ в миокарде происходило в митохондриях, саркоплазматическом ретикулуме, миофибриллах и в ядрах клеток при внутривенном введении металла [30,31,32]. Активный транспорт Tl^+ через клеточную мембрану осуществляется в основном с помощью Na^+/K^+ -АТФазы и $Na^+, K^+, 2Cl^-$ -симпортера [33–37], также некоторая часть металла распределяется пассивно, согласно трансмембранному электрохимическому градиенту. Tl^+ транспортируется в митохондрии сердца через АТФ-чувствительные (миток_{АТФ}) или ВК-типа Ca^{2+} -активируемые (миток_{Ca}) калиевые каналы [38–40]. В других типах клеток было обнаружено, что Tl^+ транспортируется как через потенциал-чувствительные, так и через калиевые каналы высокой и низкой проводимости [41–43].

Внутренняя мембрана митохондрий, обладающая низкой проницаемостью к ионам K^+ , оказалась, наоборот, высокопроницаема в отношении ионов Tl^+ [24,44,45]. В опытах с изолированными митохондриями было обнаружено, что увеличение концентрации Ca^{2+} в матриксе стимулирует открытие во внутренней мембране кальций-зависимого неспецифического канала (КЗНК) [46]. Кальциевая нагрузка митохондрий печени и сердца крысы способствовала открытию в их внутренней мембране Tl^+ -индуцированного КЗНК [47,48]. Открытие этого Tl^+ -индуцированного КЗНК соответственно стимули-

ровалось в присутствии ингибиторов митохондриальных калиевых каналов (миток_{АТФ} и миток_{Ca}) – 5-гидроксодекааноата и паксиллина [49]. Напротив, блокирование транспорта Ca^{2+} в матриксе рутениевым красным или ионами Y^{3+} , La^{3+} и Ni^{2+} заметно ингибировало открытие этого КЗНК во внутренней мембране [47,50].

При отравлении крыс таллием были обнаружены значительные структурные повреждения митохондриальных и клеточных мембран почек, печени и кишечника [8–11]. Ионы Tl^+ индуцируют апоптоз, снижают содержание внутриклеточного глутатиона и увеличивают продукцию активных форм кислорода и H_2O_2 , а также перекисное окисление липидов в изолированных гепатоцитах и клетках РС12 [51–54]. Эти негативные эффекты Tl^+ могли быть значительно снижены в присутствии ингибиторов КЗНК – циклоспорина А и карнитина [53]. Tl^+ увеличивал концентрацию Ca^{2+} и Na^+ в изолированных гепатоцитах крыс [12].

Ион Tl^+ , вследствие сходства ионных радиусов, является суррогатом иона K^+ и принадлежит к группе рассеянных элементов. Причинами токсичности таллия является способность ионов Tl^+ заменять K^+ в K^+ -зависимых биохимических процессах, легко проникать через внутреннюю митохондриальную мембрану, высвобождать Ca^{2+} из внутриклеточных компартментов и нарушать регуляцию клеточного цикла [12,18,23,25,44]. Следует отметить, что мы в своих экспериментах не наблюдали Tl^+ -индуцированного высвобождения Ca^{2+} из внутриклеточных компартментов кардиомиоцитов крысы.

Изотоп ^{201}Tl используется в клинической медицине для оценки жизнеспособности и перфузии миокарда при ишемии и инфаркте [1,2,32,55,56], а также для диагностики опухолей [3,4]. Учитывая высокую абсорбционную способность таллия в миокарде, его способность длительно задерживаться в организме, его отрицательный инотропный и хронотропный эффекты [16,17], можно ожидать отрицательное влияние ^{201}Tl на сердечную деятельность. Механизмы прямого угнетающего действия Tl^+ на сократимость миокарда до конца не ясны, но одним из механизмов на клеточном уровне может являться индуцируемая ионами Tl^+ кальциевая перегрузка кардиомиоцитов, обнаруженная в данной работе, с последующим открытием кальций-зависимого неспецифического канала во внутренней мембране митохондрий [47,48].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. L. Baggish and C. A. Boucher, *Circulation* **118** (16), 1668 (2008).

2. A. J. Einstein, K. W. Moser, R. C. Thompson, et al., *Circulation* **116** (11), 1290 (2007).
3. H. R. Nadel, *Semin. Nucl. Med.* **23**, 243 (1993).
4. H. M. Abdel-Dayem, A. M. Scott, H. A. Macapinlac, et al., *Nuclear Medicine Annual*, Ed. by L.M. Freeman (Raven Press, New York, 1994), p. 181.
5. J. Tanaka, T. Yonezawa, and M. Ueyama, *J. Toxicol. Sci.* **3**, 325 (1978).
6. L. E. Davis, J. C. Standefer, M. Kornfeld, et al., *Ann. Neurol.* **10**, 38 (1981).
7. G. Repetto, A. del Peso, and M. Repetto, *Thallium in the environment*, Ed. by J. O. Nriagu (John Wiley & Sons, Inc, New York, 1998), p. 167.
8. M. M. Herman and K. G. Bensch, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **10**, 199 (1967).
9. J. S. Woods and B. A. Fowler, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **83**, 218 (1986).
10. K. M. Leung and V. E. Ooi, *Chemosphere* **41**, 155 (2000).
11. G. A. Kilic and M. Kutlu, *Food Chem. Toxicol.* **48**, 980 (2010).
12. K. Zierold, *Toxicol. In Vitro* **14**, 557 (2000).
13. К. В. Соболев, С. М. Коротков, Г. Б. Белостоцкая и В. П. Нестеров, *Биол. мембраны* **30** (1), 21 (2013).
14. W. T. Shier and D. J. DuBourdieu, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **116**, 38 (1992).
15. D. M. Bers, *Nature* **415**, 198 (2002).
16. I. Ruzsnyák, L. György, S. Ormai, and T. Millner, *Experientia* **24** (8), 809 (1968).
17. M. N. Hughes, W. K. Man, and B. C. Whaler, *Chem. Biol. Interact.* **23** (1), 85 (1978).
18. L. J. Mullins and R. D. Moore, *J. Gen. Physiol.* **43**, 759 (1960).
19. J. D. Fu, H. M. Yu, R. Wang, et al., *Acta Pharmacol. Sin.* **27**, 901 (2006).
20. I. Itzhaki, S. Rapoport, I. Huber, et al., *PLoS One* **6**, e18037 (2011).
21. И. А. Скульский и В. В. Глазунов, *Цитология* **24** (2), 183 (1982).
22. D. M. Ojcius, A. Zychlinsky, L. M. Zheng, and J. D. Young, *Exp. Cell Res.* **197**, 43 (1991).
23. J. P. Mulkey and F. W. Oehme, *Vet. Hum. Toxicol.* **40**, 11 (1998).
24. S. M. Korotkov, *Encyclopedia of Metalloproteins*, Ed. by R. H. Kretsinger, V. N. Uversky, and E. A. Permyakov (Springer, New York, 2013), p. 2193.
25. J. J. Rodriguez-Mercado and M. A. Altamirano-Lozano, *Drug Chem. Toxicol.* **36**, 369 (2013).
26. D. Dumitru and A. Kalantri, *Muscle & Nerve* **13**, 433 (1990).
27. A. Ando, I. Ando, M. Katayama, et al., *Eur. J. Nucl. Med.* **12**, 567 (1987).
28. R. Barroso-Moguel, M. Mendez-Armenta, J. Villeda-Hernandez, et al., *J. Appl. Toxicol.* **16**, 385 (1996).
29. M. Mendez-Armenta, C. Nava-Ruiz, F. Fernandez-Valverde, et al., *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **32**, 107 (2011).
30. G. L. Llaurodo, G. A. Smith, J. A. Madden, and R. C. Meade, *J. Nucl. Med.* **20**, 1136 (1979).
31. J. G. Llaurodo, J. A. Madden, and G. A. Smith, *J. Nucl. Med.* **24**, 402 (1983).
32. M. Fukumoto, A. Kurohara, N. Yoshimura, et al., *Nucl. Med. Commun.* **19**, 1169 (1998).
33. M. L. Delano, H. Sands, and B. M. Gallagher, *Biochem. Pharmacol.* **34**, 3377 (1985).
34. L. Favari and M. Mourelle, *J. Appl. Toxicol.* **5**, 32 (1985).
35. D. R. Hunter, R. A. Haworth, A. B. Goknur, et al., *J. Mol. Cell. Cardiol.* **18**, 1125 (1986).
36. F. V Bielen, H. G. Glitsch, and F. Verdonck, *J. Physiol.* **465**, 699 (1993).
37. R. D. Peluffo and J. R. Berlin, *J. Physiol.* **501**, 33 (1997).
38. L. Testai, A. Martelli, A. Marino, et al., *Biochem. Pharmacol.* **85**, 1634 (2013).
39. A. P. Wojtovich, D. M. Williams, M. K. Karcz, et al., *Circ. Res.* **106**, 1190 (2010).
40. A. P. Wojtovich, S. M. Nadtochiy, W. R. Urciuoli, et al., *Peer J.* **1**, e48 (2013).
41. A. L. Blatz and K. L. Magleby, *J. Gen. Physiol.* **84**, 1 (1984).
42. C. D. Weaver, D. Harden, S. I. Dworetzky, et al., *J. Biomol. Screen.* **9**, 671 (2004).
43. S. Jorgensen, T. H. Johansen, and T. Dyhring, *Methods Mol. Biol.* **491**, 257 (2008).
44. N. E. Saris, I. A. Skulskii, M. V. Savina, and V. V. Glasunov, *J. Bioenerg. Biomembr.* **13**, 51 (1981).
45. S. M. Korotkov, *J. Bioenerg. Biomembr.* **41**, 277 (2009).
46. F. Ichas and J. P. Mazat, *Biochim. Biophys. Acta* **1366** (1-2), 33 (1998).
47. S. M. Korotkov and N. E. Saris, *J. Bioenerg. Biomembr.* **43**, 149 (2011).
48. S. M. Korotkov, V. P. Nesterov, I. V. Brailovskaya, et al., *J. Bioenerg. Biomembr.* **45**, 531 (2013).
49. S. M. Korotkov, I. V. Brailovskaya, A. R. Shumakov, and L. V. Emelyanova, *J. Bioenerg. Biomembr.* **47**, 243 (2015).
50. S. Korotkov, S. Konovalova, L. Emelyanova and I. Brailovskaya, *J. Inorg. Biochem.* **141**, 1 (2014).
51. C. E. Hanzel and S. V. Verstraeten, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **216**, 485 (2006).
52. C. E. Hanzel and S. V. Verstraeten, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **236**, 59 (2009).
53. J. Pourahmad, M. R. Eskandari, and B. Daraei, *Environ. Toxicol.* **25**, 456 (2010).
54. M. R. Eskandari, J. Pourahmad, and B. Daraei, *Toxicol. Environ. Chem.* **93**, 145 (2011).
55. D. McCall, L. J. Zimmer, and A.M. Katz, *Can. J. Cardiol.* **2**, 176 (1986).
56. S. Shiraishi, F. Sakamoto, N. Tsuda, et al., *Circ. J.* **79**, 623 (2015).

Effects of Tl⁺ Ions on the Dynamics of Intracellular Ca²⁺ in Rat Cardiomyocytes

C.V. Sobol, V.P. Nesterov, G.B. Belostotskaya, and S.M. Korotkov

*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences,
prosp. Toreza 44, St. Petersburg, 194223 Russia*

The effects of Tl⁺ ions on the dynamics of intracellular Ca²⁺ in neonatal rat cardiomyocytes were investigated. It was shown for the first time that application of Tl⁺ led to an uncontrolled increase in [Ca²⁺]_i in cells. Moreover, the ability of Tl⁺ to increase [Ca²⁺]_i depended on the Tl⁺ concentration used and the time of exposure to the cells. The increase in [Ca²⁺]_i was related to an entry of Ca²⁺ from the extracellular medium. Thallium did not release Ca²⁺ from intracellular stores. Thallium-induced increase in [Ca²⁺]_i was not inhibited by nifedipine. Perhaps, L-channels do not participate in the processes of thallium-induced increase in [Ca²⁺]_i. It is assumed that the thallium ions-induced calcium overload in cardiomyocytes may contribute to the toxic effect of Tl⁺ on the myocardium.

Key words: thallium, myocardium, cardiomyocytes, Ca²⁺, mitochondria, toxicity