

2. Либерман Е. А., Минина С. В., Мякотина О. Л. и др. Внутринейронная переработка информации. Увеличение натриевой и уменьшение калиевой проницаемости при инъекции циклического нуклеотида и механическом раздражении нейрона // Биофизика.— 1985.— 30, № 4.— С. 632—636.
3. Федоров Н. А. Биологическое и клиническое значение циклических нуклеотидов.— М.: Медицина, 1979.— 183 с.
4. Bazilyuk O. V. Endothelium-dependent reaction of vascular smooth muscle at hypoxia // Physiology and Pharmacology of Smooth Muscle: International symposium. Varna, Oct. 1—5, 1985, Bulgaria.— Varna, 1985.— P. 14.
5. Bove A. A., Dewey I. D. Effects of serotonin and histamine on proximal and distal coronary vasculature: comparison with alpha-adrenergic stimulation // Amer. J. Cardiol.— 1983.— 52, P. 1333—1337.
6. Busse R., Förstermann U., Matsuda H., Pohl U. The role of prostaglandins in the endothelium-mediated vasodilatory response to hypoxia // Pflügers Arch.— 1984.— 401, N 1.— P. 77—83.
7. De Mey J. G., Vanhoutte P. M. Anoxia and endothelium-dependent reactivity of the canine femoral artery // J. Physiol. (Gr. Brit.).— 1983.— 335, N 1.— P. 65—74.
8. Feuerstein G. Leukotrienes and the cardiovascular system // Prostaglandins.— 1984.— 27, N 5.— P. 781—802.
9. Furchgott R. F. Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle // Circulat. Res.— 1983.— 53, N 5.— P. 557—573.
10. Furchgott R. F., Zawadzki J. V. The obligatory role of endothelium cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine // Nature.— 1980.— 288, N 5789.— P. 373—376.
11. Griffith T. M., Edwards D. H., Lewis M. I. et al. The nature of endothelium-derived vascular relaxant factor // Ibid.— 1984.— 308, N 5960.— P. 645—647.
12. Hickey K. A., Rubanyi G., Paul R. J., Highsmith R. F. Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells // Amer. J. Physiol.— 1985.— 248, N 5.— Pt. 1.— P. C550—C556.
13. Holden W. E., McCall E. Hypoxia-induced contractions of porcine pulmonary artery strips depend on intact endothelium // Exp. Lung. Res.— 1984.— 7, N 2.— P. 101—112.
14. Holzmann S. Endothelium-induced relaxation by acetylcholine associated with larger rises in cyclic GMP in coronary arterial strips // J. Cycl. Nucleotide Res.— 1982.— 8, N 6.— P. 409—419.
15. Kawasaki K., Seki K. M. Effects of diltiazem and nitroglycerin on prostaglandin $F_{2\alpha}$ -induced periodic contractions of isolated human coronary arteries // Jap. Circulat. J.— 1985.— 49, N 2.— P. 145—154.
16. Kukovetz W. R., Holzman S. Mechanism of endothelium-modulated relaxation of coronary smooth muscle by acetylcholine // Proc. 50-th Jubilee Congr. of the Hungarian physiological society. Budapest, July, 1985.— Budapest, 1985.— P. 82.
17. MacLouf J. Prostaglandines et systeme cardiovasculaire // Ann. cardiol. et angeiol.— 1983.— 32, N 7.— P. 435—438.
18. Miller R. C., Schoeffter P. Role of cyclic GMP in endothelium-dependent modulation of agonist contractile responses // Proc. 50-th Jubilee Congr. of the Hungarian physiological society. Budapest, July, 1985.— Budapest, 1985.— P. 92.
19. Paul R. J., Rubanyi G., Hickey K. M. et al. An endothelial cells derived vasoactive protein: Role in hypoxic coronary vasospasm // Ibid.— P. 95.
20. Rubanyi G., Paul R. The distinct effect of oxygen on vascular tone in isolated porcine coronary arteries // Circulat. Res.— 1985.— 56, N 1.— P. 1—10.
21. Singer H. A., Saye J. A., Peach M. J. Effects of cytochrome P-450 inhibitors on endothelium-dependent relaxation in rabbit aorta // Blood vessels.— 1984.— 21.— P. 223—230.
22. Solntseva L. I., Bezrukova L. V. Intracellular injection of cAMP and cGMP into snail neurones induces an increase in Na^+ conductance // Experientia.— 1985.— 41, N 2.— P. 252—254.

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

Поступила 17.04.86

УДК 612.171.1:612.744.14—085

Роль зависимых от кальмодулина реакций в регуляции сократительной функции миокарда

Б. И. Лаптев, С. А. Афанасьев, В. Д. Прокопьева, Н. П. Ларонов

Работа сердечной мышцы обеспечивается циклическими изменениями концентрации ионизированного кальция в миоплазме, который реализует свое действие через рецепторы белковой природы, в частности каль-

модулин (КМ). В литературе имеются данные о том, что КМ является активатором многих ферментов [6, 9, 11, 12, 15, 16], в том числе ферментов Ca^{2+} -насосов сарколеммы [6, 9] и саркоплазматического ретикула [11] (систем, ответственных за регуляцию внутриклеточной концентрации кальция), трансферазы фосфоорилазы (КФ 2.7.1.38), регулирующей гликогенолиз [15].

При изучении роли КМ в сократительной функции сердца используют препараты фенотиазинового ряда, способные инактивировать КМ [3, 4, 5]. Обычно применяют лишь один (трифторперазин) [5], или два (трифторперазин и френолон) [3, 4] препарата, характеризующиеся близким сродством к КМ [2]. Однако, по данным литературы, препараты фенотиазинового ряда нельзя считать селективными ингибиторами КМ, так как они могут также КМ-независимо взаимодействовать с Ca^{2+} -связывающими белками [7, 13], α -адренорецепторами [8, 14], оказывать мембраностабилизирующее действие [1, 10].

Одним из методических приемов для изучения роли КМ-зависимых реакций в регуляции сократительной функции миокарда при отсутствии селективных ингибиторов кальмодулина может быть сравнение параметров сократительной функции при действии ряда препаратов близких по структуре, но обладающих различным сродством к КМ.

Цель данной работы — проверка возможности изучения роли КМ в сократительной функции миокарда с помощью сравнительного изучения действия препаратов фенотиазинового ряда — трифторперазина (ТФП), френолона (Ф), мажептила (М) и аминазина (А), характеризующихся различным сродством к КМ, — на сократительную функцию папиллярной мышцы.

Методика

Опыты проведены на изолированном препарате папиллярных мышц левого желудочка сердца крыс (самцы) линии Вистар. Мышцы сокращались в изометрическом режиме при температуре 31°C и частоте стимуляции 0,5 Гц. Физиологический раствор имел следующий состав (в миллимоль на литр): NaCl — 120; KCl — 4,8; CaCl_2 — 2,0; MgSO_4 — 1,2; NaHCO_3 — 25; KH_2PO_4 — 1,2; глюкоза — 10. Проведено 5 серий опытов. Первая серия служила контролем (К) — 7 опытов. Во второй, в третьей, четвертой и пятой сериях в перфузионный раствор вводили следующие препараты: ТФП — 6 опытов, Ф — 7 опытов, М — 7 опытов и А — 6 опытов соответственно. Для уменьшения влияния фенотиазинов на α -адренорецепторы в перфузионный раствор за 20 мин до их введения добавляли празозин (10^{-7} моль/л). Через 20 мин после добавления исследуемого препарата (10^{-5} моль/л во всех случаях) на 40-й минуте проведения опыта кратковременно увеличивали частоту стимуляции до 2 Гц (частотный тест) с последующим ее уменьшением до исходного значения (0,5 Гц). После восстановления силы сокращений в перфузионном растворе повышали концентрацию Ca^{2+} от 2 до 4 ммоль/л (Ca^{2+} -тест), а частоту стимуляции на фоне Ca^{2+} -теста вторично повышали до 2 Гц.

Регистрировали силу сокращения, ее первую и вторую производные. Рассчитывали максимально развиваемое напряжение ($T_{\text{макс}}$), индекс начального расслабления (ИНР), как отношение минимального значения второй производной к максимальному значению первой производной ($T'_{\text{макс}}$) [5], индекс расслабления (ИР), как отношение минимального значения первой производной ($T'_{\text{мин}}$) к $T_{\text{макс}}$ [4], индекс повышения напряжения (ИПН) (аналогично ИР) как отношение $T'_{\text{макс}}$ к $T_{\text{макс}}$.

Для выявления взаимосвязи действия препаратов на сократительную функцию папиллярной мышцы и их сродства к КМ, которое характеризуется константой полумаксимального вытеснения флуоресцентного зонда $\text{dis-C}_3(5)$ (3,3'-дипропилтиокарбониланин иодида) из его комплекса с КМ— $\text{K}_{0,5}$ [2], использовали следующий методический прием. Составляли ряд значений, обратных $\text{K}_{0,5}$ ($1/\text{K}_{0,5}$), для используемых препаратов и соответствующие им ряды значений изменения (в процентах) определяемых параметров сократительной активности миокарда, во-первых, на 40-й минуте проведения опыта по отношению к значениям на 20-й минуте; во-вторых, при Ca^{2+} -тесте на фоне нормальной и повышенной частоты стимуляции; в-третьих, при частотном тесте на фоне повышенной и нормальной концентрации ионов кальция.

$\text{K}_{0,5}$ для ТФП, Ф, М, А имела следующие значения (в микромоль на литр): 4, 7, 12,

17 соответственно [2]. Ряд для $1/K_{0,5}$ был таким: $ТФП > \Phi > М > А > К$. В контроле значение $1/K_{0,5}$ принималось за ноль. Рассчитывали коэффициенты линейной корреляции (r) между рядом для $1/K_{0,5}$ и рядом изменений значений каждого параметра при действии исследуемых препаратов.

В работе использовали ТФП фирмы «Sigma» (США), френолон — «Egyt» (ВНР), мажептил — «Specia-France» (Франция), аминазин — фармакопейный препарат (СССР).

Результаты и их обсуждение

В наших опытах исходные значения максимально развиваемого напряжения во всех сериях недостоверно отличались от контрольных значений как в конце адаптации, так и через 20 и 40 мин после начала опыта. Коэффициенты корреляции между рядом для $1/K_{0,5}$ и рядами, каждый из которых состоял из значений изменения одного из параметров ($T_{\max}$, $T'_{\max}$, $T'_{\min}$, ИНР, ИР или ИПН) на 40-й минуте проведения опыта по отношению к 20-й минуте варьировали от 0,06 до —0,78 (табл. 1). В этих случаях корреляция была недостоверной.

Достоверные значения корреляции (см. табл. 1) наблюдались лишь при частотном тесте на фоне повышенной концентрации ионов кальция — для ИНР ($r = -0,87$, $P < 0,05$) и при Ca^{2+} -тесте на фоне увеличенной частоты стимуляции — для ИР ($r = -0,91$, $P < 0,05$). Оба показателя снижались (табл. 2) пропорционально значениям ингибирования КМ исследуемыми препаратами.

Таблица 1. Коэффициенты линейной корреляции между значениями сродства препаратов фенотиазинового ряда к кальмодулину и значениями изменения под их действием параметров сократительной функции миокарда крысы

Параметр сократительной функции	Действие фенотиазинов до тестов (0,5 Гц; 2 ммоль/л Ca^{2+})	Частотный тест		Ca^{2+} -тест	
		Концентрация Ca^{2+} , ммоль/л		Частота стимуляции, Гц	
		2	4	0,5	2,0
$T_{\max}$	0,29	—0,52	—0,21	0,73	0,55
$T'_{\max}$	0,20	—0,68	0,05	0,46	0,29
$T'_{\min}$	0,06	0,09	—0,26	0,69	—0,11
ИПН	—0,78	0,44	0,37	—0,27	—0,28
ИНР	0,68	—0,59	—0,87*	0,04	—0,01
ИР	—0,49	0,52	—0,49	—0,75	—0,91*

* $P < 0,05$.

Таблица 2. Действие препаратов фенотиазинового ряда на ИНР (при частотном тесте на фоне повышенной концентрации ионов кальция) и ИР (при Ca^{2+} -тесте на фоне повышенной частоты стимуляции), % соответствующих исходных значений

Показатель	Препарат				Контроль
	ТФП	Φ	М	А	
ИНР	$7,0 \pm 4,6$	$20,0 \pm 3,6$	$23,0 \pm 5,0$	$26,0 \pm 3,7$	$23,0 \pm 6,0$
ИР	$-12,7 \pm 7,6$	$-8,2 \pm 3,7$	$-7,8 \pm 1,2$	$-5,0 \pm 3,9$	$2,4 \pm 4,6$

Ранее Aass и соавт. исследовали роль КМ в сократительной функции папиллярной мышцы (в физиологическом эксперименте) [5], используя в качестве ингибитора КМ ТФП, а стимулятора мышцы агонист β -адренорецепторов изадрин. По мнению указанных авторов, такое воздействие на папиллярную мышцу приводило к более полной активации КМ, что позволяло выявить КМ-зависимые процессы. В этих условиях было обнаружено снижение одного параметра сократительной функции — ИНР. Это позволило авторам предположить, что КМ активирует процессы удаления кальция из миоплазмы. Однако Aass и

соавт. использовали лишь один недостаточно селективный (как уже говорилось выше) ингибитор КМ, а при стимуляции β -адренорецепторов в клетке, вероятно, происходит увеличение как Ca^{2+} , так и цАМФ, что затрудняет трактовку полученных этими авторами данных.

В других исследованиях [3, 4], проведенных на папиллярной мышце морской свинки (в изотоническом режиме сокращения), было показано, что ингибиторы КМ — ТФП и Ф — снижают скорость расслабления. Однако эти результаты, как и данные, полученные при использовании одного препарата — ТФП [5], трудно трактовать с позиции селективного действия на КМ, поскольку при использовании препаратов, характеризующихся близким сродством к КМ, невозможно оценить взаимосвязь между сродством препаратов к КМ (ингибированием КМ) и их действием на параметры сократительной функции.

Полученная нами достоверная корреляция между значениями ингибирования КМ и снижения ИНР и ИР позволяет более обоснованно, чем в других работах [3—5], говорить о важной роли зависимых от кальмодулина реакций в сократительной функции миокарда. Следует отметить, что в наших опытах такая корреляция обнаруживается лишь для ИНР при увеличении частоты стимуляции на фоне повышенного уровня концентрации ионов кальция, а для ИР — лишь при увеличении концентрации ионов кальция на фоне повышенной частоты стимуляции. Очевидно, в таких условиях усиливается нагрузка на энергетическую и Ca^{2+} -транспортирующую системы клетки. Исходя из данных литературы [6, 9, 15], можно предположить, что КМ активирует распад гликогена и одновременно удаление ионов кальция из миоплазмы. Наблюдавшиеся в наших опытах изменения ИНР и ИР, вероятно, отражают замедление этих двух процессов, происходящее при ингибировании КМ и проявляющееся в условиях повышения силы и частоты сокращения миокарда.

SIGNIFICANCE OF CALMODULIN-DEPENDENT REACTIONS IN REGULATION OF THE CARDIAC MUSCLE CONTRACTILITY

B. I. Laptev, S. A. Afanasiev, V. D. Prokopieva, N. P. Larionov

Phenothiazine preparations (trifluoperazine, frenolone, majoetile and aminazine) which inhibit calmodulin in various degrees have been studied for their effect on the rat papillary muscle contractility. Such parameters as relaxation onset index and relaxation index are determined. Their change induced by phenothiazines reliably correlates with the calmodulin inhibition degree.

Siberia Branch of the All-Union Cardiological Research Centre,
Academy of Medical Sciences of the USSR, Tomsk

1. Афанасьев С. А., Лаптев Б. И., Прокопьева В. Д., Ларионов Н. П. Исследование защитного действия аминазина при ишемии и реперфузии изолированного сердца // Биол. науки. — 1986. — № 3. — С. 25—29.
2. Балденков Г. Н., Меньшиков М. Ю., Феоктистов И. А., Ткачук В. А. Влияние нейротропных соединений на кальмодулин- и тропонин С-зависимые процессы // Биохимия. — 1985. — 50, № 1. — С. 1141—1150.
3. Капелько В. И., Горина М. С. Действие гипонатриемии и френолона на сократительную функцию изолированной мышцы сердца // Физиол. журн. — 1986. — 32, № 1. — С. 39—43.
4. Капелько В. И., Горина М. С., Меньшиков М. Ю., Ткачук В. А. Влияние ингибиторов кальмодулина на сокращение и расслабление сердечной мышцы // Бюл. экспери. биологии и медицины. — 1985. — 100, № 7. — С. 34—36.
5. Aass H., Skomedal T., Osnes J.-B. Effects of trifluoperazine on β -adrenergic responses of rat papillary muscle: related to calmodulin // Acta pharmacol. and toxicol. — 1983. — 53, N 4. — P. 265—274.
6. Caroni P., Carafoli E. The Ca -pumping ATPase of heart sarcolemma. Characterization, calmodulin dependence, and partial purification // J. Biol. Chem. — 1981. — 256, N 7. — P. 3263—3270.
7. Hinds T. R., Raess B. U., Vincenzi F. F. Plasma membrane Ca^{2+} -transport: antagonism by several potential inhibitors // Membr. Biol. — 1981. — 58, N 1. — P. 57—63.

8. Huerta-Bahena Y., Villalobos-Molina R., Garcia-Saius G. A. Trifluoperazine and chlorpromazine antagonise alpha 1- but not alpha 2-adrenergic effects // Mol. Pharmacol.—1982.—23, N 1.—P. 67—70.
9. Kuwayama H., Kanazawa T. Purification of cardiac sarcolemmal vesicles: high sodium: high sodium pump content and ATP-dependent, calmodulin-activated calcium uptake // J. Biochem.—1982.—91, N 4.—P. 1419—1426.
10. Landry Y., Amellal M., Ruckstuhl M. Can calmodulin inhibitors be used to probe calmodulin effects? // Biochem. Pharmacol.—1981.—30, N 14.—P. 2031—2032.
11. Lopaschuk G., Richter B., Katz S. Characterization of calmodulin effects on calcium transport in cardiac microsomes enriched in sarcoplasmic reticulum // Biochemistry.—1980.—19, N 24.—P. 5603—5607.
12. Means A. R., Deman J. R. Calmodulin — an intracellular calcium receptor // Nature.—1980.—285, N 8.—P. 73—77.
13. Prokopjeva V. D., Barannic I. V., Roshepkina V. Z., Larionov N. P. The influence of phenothiazines on the sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase from skeletal and cardiac muscles // Biochem. Int.—1984.—8, N 6.—P. 843—850.
14. Pruneau D., Mainguy Y., Roy F. Trifluoperazine antagonises postsynaptic α_1 -but not α_2 -adrenoreceptor — mediated pressor responses in the rat // Eur. J. Pharmacol.—1984.—105, N 3.—P. 343—347.
15. Sul H. S., Cooper R. H., Mecullough T. E. et al. Regulation of cardiac phosphorylase kinase // Protein phosphoryl.—1981, Book A.—P. 343—355.
16. Walsh M. P., Peuch C. J., Vallot B. et al. Cardiac calmodulin and its role in the regulation of metabolism and contraction // Mol. and Cell. Cardiol.—1981.—12, N 7.—P. 1091—1101.

Сиб. фил. Всесоюз. кардиол. науч. центра
АМН СССР, Томск

Поступила 27.06.86

УДК 612.89:615.217

Зависимость захвата экзогенного норадреналина десимпатизированным сердцем от концентрации норадреналина на фоне действия фармакологических модуляторов

А. Г. Козлов, С. Ю. Савицкий, А. А. Яковлев

Содержание норадреналина (НА) в сердце является одним из главных факторов, определяющих его адренореактивность. Наиболее четко это проявляется в условиях десимпатизации, когда растет число адренорецепторов (АР) [14, 15], их сродство к данным агентам [15] и в итоге

Влияние некоторых модуляторов на захват ^3H -норадреналина предсердием в условиях

Показатель	Контроль	Действие модулятора		
		АТФ	ГТФ	Аденозин
Активность нейронального захвата ^3H -норадреналина при разной его концентрации в инкубационной среде, пмоль/г·мин				
0,06 мкмоль/л	$0,1202 \pm 0,0320$	$1,213 \pm 0,094^*$	$0,481 \pm 0,073^*$	$0,276 \pm 0,014^*$
0,30 мкмоль/л	$0,2648 \pm 0,0246$	$2,829 \pm 0,237^*$	$2,071 \pm 0,444^*$	$0,464 \pm 0,070^*$
3,00 мкмоль/л	$4,7441 \pm 1,4600$	$22,450 \pm 3,185^*$	$5,217 \pm 0,737$	$1,613 \pm 0,361$
30,00 мкмоль/л	$18,7460 \pm 0,5391$	$161,729 \pm 23,795^*$	$8,024 \pm 0,342^*$	$73,739 \pm 7,747^*$
Константа Михаэлиса—Ментен нейронального захвата, мкмоль/л				
	5,0	1,66	0,94	0,47
Интенсивность экстра-нейронального захвата, пмоль·г ⁻¹ ·мин ⁻¹ × мкмоль/л				
	—	3,02	—	2,60

* Достоверное отличие от контроля.