

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.

возникает гиперреактивность [4]. Десимпатизацию не следует, по-видимому, считать чисто лабораторным феноменом, так как первоначальная потеря сердцем НА есть скорее всего обязательное условие эффективности последующего адренергического воздействия на него [6, 7]. Именно с этих позиций можно рассматривать кинетику катехоламинов (КА) в сердце и динамику развития их эффекта при стрессе [12].

Нейрональный захват (НЗ) и экстранейрональный захват (ЭНЗ)— основные пути неэнзиматической инактивации КА и, вероятно, с их помощью осуществляется регуляция адренореактивности сердца [11]. Можно предположить, что истощение содержания КА в сердце сказывается на кинетических особенностях захвата. Возможно также, что активность НЗ и ЭНЗ будет существенно зависеть от присутствия в области захвата различных веществ, выделяющихся в околорецепторное пространство и играющих роль модуляторов. В литературе по этому вопросу сведений нет.

Таким образом, задачей нашей работы было изучение зависимости: захват ³Н-норадреналина (³Н-НА) — концентрация НА в предсердии резерпинизированной крысы на фоне действия различных модуляторов.

Методика

Опыты проводили на препаратах предсердия половозрелых крыс, которым с целью химической десимпатизации вводили рауседил (резерпин) за 24 ч до опыта внутривенно из расчета 3 мг/кг [17]. Активность меченого ³Н-НА (фирма «Amersham», Великобритания; уд. активность — 19,24·10³ МБк/ммоль) определяли в препарате по методике, описанной ранее [5]. Изучали зависимость захвата ³Н-НА от концентрации НА в инкубационной среде (0,06; 0,3; 3,0 и 30,0 мкмоль/л) и наличия одного из предполагаемых модуляторов НЗ — АТФ (4·10⁻⁵ моль/л), ГТФ (1·10⁻⁴ моль/л), аденозина (4·10⁻⁵ моль/л), ацетилхолина (1·10⁻⁶ моль/л), Са²⁺ (0,4 г/дм³), изоптина (1·10⁻⁶ моль/л), обзидана и пирроксана (концентрации двух последних адреноблокаторов были на порядок выше концентрации НА). В инкубационную среду контрольного опыта модулятор не добавляли. Действие модуляторов на НЗ оценивали с помощью константы Михаэлиса — Ментен (К_м, мкмоль/л), что давало возможность определить средство фермента, участвующего в НЗ, к ³Н-НА. Принцип расчета К_м описан нами ранее [5].

В ряде опытов при росте концентрации НА захват НА, осуществляющийся согласно михаэлисовой кинетике, сменялся значительным ростом НЗ ³Н-НА, что свидетельствовало о подключении к НЗ и ЭНЗ. В этих случаях интенсивность ЭНЗ оценивали

резерпинизации животных (n=6)

модулятора

	Са ²⁺	Изоптин	Ацетилхолин	Обзидан	Пирроксан
0,014*	0,051±0,014*	0,283±0,002*	0,076±0,017*	1,69±0,032*	0,003±0,0005
0,070*	0,824±0,145*	1,423±0,0227*	0,897±0,169*	7,85±0,0290*	0,232±0,0040
0,361	2,518±0,682	15,471±2,073*	8,542±0,820*	1,544±0,320	2,360±0,0060
7,747*	21,582±4,012*	105,418±5,949*	22,041±2,538*	3,735±0,830*	34,030±3,210
	2,94	6,66	1,40	Нет свед.	9,09
	0,56	1,48	—	—	1,06

по приросту поглощения метки тканью (сверхмаксимального значения НЗ) на единицу прироста концентрации НА в среде. Единица интенсивности ЭНЗ — $\mu\text{моль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что поглощение ^3H -НА препаратом предсердия крысы зависит от концентрации НА в инкубационной среде (таблица). Так, в интервале концентраций НА 0,06—3,0 $\mu\text{моль/л}$ по мере увеличения концентрации агониста в среде отмечается рост поглощения ^3H -НА по типу насыщения. Такая кинетика соответствует классической и связана скорее всего с деятельностью аппарата НЗ [1, 5, 17]. Однако при дальнейшем увеличении концентрации НА, начиная с 3,0 $\mu\text{моль/л}$ в ряде серий опытов отмечалось отклонение зависимости, описываемой михаэлисовой кинетикой, что выражалось в резком усилении поглощения препаратом ^3H -НА. Вероятно, в условиях продолжающегося увеличения концентрации НА к НЗ подключается и ЭНЗ.

Как отмечалось выше, общий характер действия НА на НЗ состоит в усилении последнего, что согласуется с данными литературы [13, 20] и связано с активированием Na^+, K^+ -АТФазы (КФ 3.6.1.37) пресинаптической мембраны, сопряженной с переносом аминов [2, 3, 13, 20]. Участие этого фермента в НЗ доказывается угнетением НЗ убаином [22]. Нами установлено, что сама резерпинизация приводит к значительному уменьшению сродства Na^+, K^+ -АТФазы пресинаптической мембраны к НА, что проявляется в увеличении K_m с 0,5 $\mu\text{моль/л}$ (данные опубликованной ранее работы [5]) до 5,0 $\mu\text{моль/л}$ (данные настоящей работы), что согласуется с другими данными, имеющимися в литературе [1]. Появление в инкубационной среде адениловых нуклеотидов — АТФ и аденозина, имеющих принципиальное значение в регуляции коронарного кровотока, увеличивает это сродство (уменьшает K_m до 1,66 и 0,47 $\mu\text{моль/л}$ соответственно), что способствует распаду комплексов агонист — рецептор на кардиомиоците и, следовательно, увеличению адренореактивности. Действие указанных веществ связано либо с энергообеспечением механизма АТФазной реакции НЗ, либо с их влиянием на НЗ через пресинаптические пуринергические рецепторы.

Аналогичное активирующее действие оказывает в условиях опыта и ГТФ, являющийся обязательным компонентом реакции адренорецепции [14, 15]. Этот факт хорошо согласуется с нашими представлениями о НЗ как механизме усиления адренореактивности [5].

Особое место в адренергическом воздействии на сердце занимает Ca^{2+} , участвующий в механизмах как высвобождения медиатора, так и рецепции [3]. Нами установлено, что Ca^{2+} в условиях десимпатизации увеличивает сродство Na^+, K^+ -АТФазы к ^3H -НА (уменьшает K_m до 2,94 $\mu\text{моль/л}$), а изоптин, напротив, несколько снижает его (увеличивает K_m до 6,66 $\mu\text{моль/л}$). Это соответствует данным, полученным одними авторами [18, 19], хотя и противоречит данным, полученным другими [16, 21].

Все больше сторонников завоевывает трактовка роли медиаторов в НЗ с точки зрения синергизма адрен- и холинергических механизмов [9]. Именно так, по-видимому, можно интерпретировать данные и наших опытов о влиянии ацетилхолина на НЗ, добавление которого к инкубационной среде почти в 3 раза увеличивает сродство Na^+, K^+ -АТФазы к ^3H -НА. Такой механизм усиления адренореактивности, вероятно, связан с регуляцией механизмов НЗ либо через пресинаптические холинергические [3, 10], либо серотонинергические рецепторы [8].

Каков механизм активирующего действия модуляторов на НЗ? В опытах на синапсомозга доказано, что активирующее действие НА на Na^+, K^+ -АТФазу опосредованно альфа-адренорецепторами [2, 13]. Наши данные подтверждают возможность такого механизма и для симпатических нервов сердца: значение K_m при действии альфа-

адрено-
Действ
Та
тизаци
положи
фактор
зерпин
погло
Расче
занны
АТФ (
> Ca^{2+}
эффе
колем

DEPEND
BY THE
OF THE

A. G. Ko

Under c
positive
while is
presynap

A. A. Bo
Ministry

1. Аван
2. Аксе
3. Глеб
4. Кар
5. Коз
6. Коз
7. Коз
8. Кос
9. Кос
10. Лыс
11. Ман
12. Мее
13. Лик
14. Ткач
15. Ткач
16. Ахм

адреноблокатора пирроксана увеличивается с 5,0 до 0,09 мкмоль/л. Действие обидана не носит какого-либо закономерного характера.

Таким образом, установлено, что в условиях химической десимпатизации животных АТФ, ГТФ, аденозин, Ca^{2+} и ацетилхолин являются положительными модуляторами НЗ. Такое их влияние можно считать фактором повышения адренореактивности, характерной для условий резерпинизации. При увеличении концентрации НА с 3,0 до 30,0 мкмоль/л поглощение ^3H -НА предсердием осуществляется с помощью НЗ и ЭНЗ. Расчет показателя интенсивности ЭНЗ показывает, что влияние указанных выше веществ на ЭНЗ распределяется следующим образом: АТФ (3,92) > аденозин (2,60) > изоптин (1,48) > пирроксан (1,06) > Ca^{2+} (0,56). Учитывая пассивный механизм ЭНЗ [17], указанные эффекты следует трактовать с позиций изменения проницаемости сарколеммы кардиомиоцитов.

DEPENDENCE OF THE EXOGENEOUS ^3H -NOREPINEPHRINE UPTAKE BY THE HEART AGAINST THE BACKGROUND OF THE PHARMACOLOGIC MODULATORS' ACTION

A. G. Kozlov, S. Yu. Savitsky, A. A. Yakovlev

Under conditions of desympatization ATP, GTP, adenosine, Ca^{+} and acetylcholine are positive modulators of the neuronal capture of ^3H -norepinephrine by the auricle of a rat, while isoptine—a negative one. The capture by catecholamines is regulated through presynaptic α -adrenoreceptors.

A. A. Bogomoletz Medical Institute,
Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Kiev

1. Авакян О. М. Фармакологическая регуляция высвобождения и захвата норадреналина.— Ереван: Изд-во АН АрмССР, 1973.— 306 с.
2. Аксентьев С. Л., Конев С. В., Лыскова Т. И. и др. Исследование механизма активации Na^{+} , K^{+} -АТФазы мозга норадреналином // Биохимия.— 1978.— 43, № 10.— С. 1893—1899.
3. Глебов Р. Н., Крыжановский Г. Н. Функциональная биохимия синапсов.— М.: Медицина, 1978.— 328 с.
4. Карпова М. Н., Собиева З. И. Адренореактивность сердца химически десимпатизированного животного // Патол. физиология и эксперим. терапия.— 1981.— № 5.— С. 17—20.
5. Козлов А. Г., Савицкий С. Ю., Яковлев А. А. Модуляция нейронального захвата норадреналина предсердием крысы // Докл. АН УССР. Сер. Б.— 1985.— № 7.— С. 71—73.
6. Козлов А. Г., Шмиголь А. В. Инотропное действие изопrenalина на интактное и резерпинизированное сердце крысы при повторных введениях препарата // Физиол. журн.— 1984.— 30, № 2.— С. 232—234.
7. Козлов А. Г., Шмиголь А. В., Дюльдин А. А. Кинетика инотропного действия изопrenalина на изолированное сердце крысы (математическое моделирование) // Фармакология и токсикология.— 1982.— Вып. 17.— С. 10—15.
8. Косицкий Г. И., Лычкова А. Е., Смирнов В. М., Лычков А. А. Механизм взаимодействия блуждающего и симпатического нервов: возможен ли серотонинергический механизм? // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1984.— № 7.— С. 7—9.
9. Косицкий Г. И., Червова И. А. Сердце как саморегулирующаяся система.— М.: Наука, 1968.— 214 с.
10. Лыскова Т. И., Аксентьев С. Л., Адзериho P. Д. и др. Двухфазная стимуляция Na^{+} , K^{+} -АТФазы мозга, индуцированная взаимодействием норадреналина с альфа-адренорецепторами мембран // Биофизика.— 1977, № 3.— С. 547—548.
11. Манухин Б. Н., Волина Е. В., Мелентьева А. А. Захват норадреналина — НЗ изолированными органами крыс при блокаде и активации адренорецепторов // Физиол. журн. СССР.— 1977.— 63, № 1.— С. 79—85.
12. Меерсон Ф. З. Адаптация, деадаптация и недостаточность сердца.— М.: Медицина, 1978.— 344 с.
13. Пикuleв Т. Н., Щербань А. И. Регуляция активности Na^{+} , K^{+} -АТФазы мозга крысы норадреналином // Вопр. мед. химии.— 1979.— 25, № 6.— С. 719—723.
14. Ткачук В. А. Участие аденилатциклазы в проведении гормонального сигнала через мембрану // Укр. биохим. журн.— 1981.— 53, № 2.— С. 5—27.
15. Ткачук В. А. Введение в молекулярную эндокринологию.— М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983.— 256 с.
16. Ahmed K., Williams-Ashman H. G. Studies of microsomal sodium plus — potassium ion stimulated adenosine triphosphatase system in rat ventral prostate // Biochem. J.— 1969.— 113, N 5.— P. 829—836.

17. Fiebig E. R., Trendelenburg U. The neuronal and extraneuronal uptake and metabolism of ^3H -(-)-noradrenaline in the perfused rat heart // Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharm.—1978.—303, N 1.—P. 21—35.
18. Hosie R. S. A. The localization of adenosine triphosphatases in morphologically characterized subcellular fractions of guinea-pig brain // Biochem. J.—1965.—96, N 2.—P. 404—412.
19. Stam A. C., Shebburne J. W., Feldman D., Sonnenblick E. H. A myocardial sarcolemma preparation and the ouabain-sensitive (Na^+ - K^+ - Mg^{2+} -activated) adenosine triphosphatase on membrane // J. Neurochem.—1969.—16, N 9.—P. 1301—1307.
20. Swann A. C. Stimulation of brain Na^+ , K^+ -ATPase by norepinephrine in vivo prevention by receptor antagonists and enhancement by repeated stimulation // Brain Res.—1983.—260, N 2.—P. 338—341.
21. Tanaka R. Comparison of lipid effects on K^+ - Mg^{2+} -activated p-nitrophenyl phosphatase and Na^+ - K^+ - Mg^{2+} -activated adenosine triphosphatase on membrane // J. Neurochem.—1969.—16, N 9.—P. 1301—1307.
22. Toll L., Gundersen C. B., Bruce H. Energy metabolism in energy in the uptake of catecholamines by synaptic vesicles and adrenal chromaffin granules // Brain Res.—1977. 136, N 1.—P. 59—66.

Киев. мед. ин-т им. акад. А. А. Богомольца
М-ва здравоохранения УССР

Поступила 16.01.86

УДК 616.132.2—008.64—092.9:616.127—005

Реактивная гиперемия миокарда после экспериментальной коронарной недостаточности различной выраженности

Н. Н. Орлова

Широкие возможности, открываемые перед современной кардиологией методами реконструктивной хирургии коронарных сосудов, чрезкожной транслюминальной ангиопластики, внутрикоронарного тромболизиса, и признание функционального компонента в генезе коронарной недостаточности [5, 6, 7] неизмеримо усиливают интерес исследователей к изучению особенностей реперфузии после различных по выраженности нарушений кровоснабжения миокарда. Эффективность реперфузии в значительной мере определяется обратимостью изменений, сопровождающих предшествующую коронарную недостаточность. Наряду с этим серьезного внимания заслуживают так называемые реперфузионные повреждения миокарда [9, 11].

В условиях коронарной недостаточности могут существенно изменяться общие механизмы регуляции кровообращения и характер влияния отдельных регуляторных факторов на сердце и его сосуды [1, 2, 13]. В связи с этим существенное место в проблеме реперфузии занимает исследование состояния коронарного кровообращения, выяснение его регуляторных особенностей и адаптивных возможностей в условиях восстановления коронарного притока. Основной задачей нашей работы явилось изучение особенностей реактивной гиперемии с учетом ее способности ликвидировать дефицит кровотока, вызванный различными по выраженности регионарными нарушениями коронарной перфузии.

Методика

Исследования проведены в острых опытах на 33 собаках (массой от 14 до 20 кг) с использованием хлоралозно-уретанового наркоза (хлоралоза — 40 мг/кг, уретан — 400 мг/кг). Коронарное кровообращение оценивали у животных с закрытой грудной клеткой в условиях катетеризации огибающей ветви левой коронарной артерии специальным катетером, вводимым до закалинивания сосуда [4], аутоперфузия которого осуществлялась с помощью подключично-коронарного шунта. Регистрацию объемной скорости коронарного кровотока и его фазовых изменений проводили с помощью помещаемого ниже

места с
Kohden
ласти. С
желудк
Д.
го, доз
ного кр
вотока:
чения к
роста
Ра
[14, 15]
лическо
ДДЛЖ
артерни
кровоот
В
экспери
30 %-н
опытов
Две пер
щие —

Резулт

Во вс
зии со
ный п
перфу
лично
оказал
различ
реперс
минан
уже к
чител
коном
ражен
щало
реакт
отчетл
шений
М
фицит
реакци
ничен

Т а б л и
разной

Группа	
1-я	
2-я	
3-я	
4-я	