

- circadian rhythm of plasma melatonin and prolactin in sheep // *Endocrinology*.— 1982.—110, N 6.— P. 2186—2188.
8. Lazicka-Frelek M., Jeske W., Zgliczynski S. Fiziologiczny rytm dobowy wydzielania prolaktyny u kobiet i mezczyzn // *Endocrinol. pol.*— 1981.—32, N 6.— P. 437—444.
 9. Miller F., Maickel L. R. Fluorometric determination of indole derivatives // *Life Sci.*— 1970.—9, N 13.— P. 745—752.
 10. Petterborg L. J., Richardson B. A., Vaughan M. K., Reiter R. I. Effect of single afternoon melatonin on LH, prolactin and melatonin titers in the Syrian hamster // *J. Neural Transmiss.*— 1984.—59, N 4.— P. 229—307.
 11. Puri C. P., Puri J., David G. F., Anand K. T. Testosterone, cortisol, prolactin and bioactive LH in day and night samples of cerebrospinal fluid and serum of male rhesus monkeys // *Brain Res.*— 1980.—200, N 2.— P. 377—387.
 12. Quardi S. N., Spies H. G. Cyclic and diurnal patterns of serum prolactin in the rhesus monkey // *Biol. Reprod.*— 1976.—14, N 4.— P. 495—501.
 13. Reiter R. J., Johnson L. Y. Depressant action of the pineal gland on the pituitary LH and prolactin in male hamsters // *Horm. Res.*— 1974.— N 5.— P. 311—320.
 14. Semm P., Demaine C., Vollrath L. The effects of sex hormones, prolactin and gonadotropin on electrical activity in guinea pigs // *Cell. and Neurobiol.*— 1981.—1, N 3.— P. 259—269.
 15. Simionescu L., Sahleanu V., Oprescu M. Circadian rhythm of serum and hypophyseal prolactin in the male rat // *Rev. roum. med.*— 1974.—12, N 5.— P. 347—354.
 16. Willoughby J. O., Audet J., Grossfield T., Martin J. B. Growth hormone and prolactin: effects of pinealectomy // *Proc. Austral. Physiol. and Pharmacol.*— 1978.—9, N 2.— P. 198—200.
 17. Wurtman R. J., Deng M. H., Ronsheim P. The responses of melatonin rhythms to environmental lighting // «Pineal Gland and Endocrinol. Role.» *Proc. NATO Adv. Studyinst.*, Erice, June—July 2, 1982.— New York; London, 1983.— P. 221—226.

Харьков, ин-т эндокринологии
и химии гормонов м-ва здравоохранения УССР

Поступила 19.09.85

УДК 612.74:615.216.6

Влияние тубокурарина на контрактуру спинной мышцы пиявки, вызванную кофеином

Б. А. Ройтуб, Р. С. Златин, Ю. П. Лиманский

Известно, что спинная мышца медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis*) — классический объект для определения содержания АХ в биологических средах. Работы последних лет [1, 2, 3, 9, 11] позволили значительно повысить чувствительность этого метода и довести определяемые концентрации АХ до 10^{-18} ммоль/л. Это дало возможность изучить роль АХ в механизме возникновения «кофеиновой контрактуры» [4, 13] на спинной мышце медицинской пиявки. Повышение такой чувствительности позволило изучить влияние на сократительную способность мышцы сверхмалых доз не только ацетилхолина (10^{-18} ммоль/л), но и кофеина (10^{-13} ммоль/л).

Методика

Мы провели 41 исследование на 9 пиявках. Повышение чувствительности хеморецепторов мембран мышечных волокон пиявки достигалось предварительным воздействием на животных комплексом экстремальных условий, включающим голод, низкие температуры и смену среды (перевод препарата спинной мышцы пиявки из раствора Рингера в раствор Кребса). Препарат укрепляли двумя серфинками в плексиглазовой ванночке, заполненной аэрируемым раствором Кребса с прозеринем ($2 \cdot 10^{-8}$ ммоль/л), и присоединяли к механической части электронного регистрирующего устройства. Сокращение мышечного препарата регистрировали в изотоническом режиме. В каждом конкретном опыте нагрузка на мышцу была постоянной на протяжении всего времени исследования. Последовательность проведения опыта состояла в исследовании сократительной способности мышцы под влиянием АХ (10^{-18} ммоль/л), кофеина (10^{-13} ммоль/л), d-тубокурарина ($1,4 \cdot 10^{-4}$ ммоль/л), а также кофеина и АХ на фоне предварительного

действия (15—30 мин) d-тубокураина. После воздействия каждого из указанных веществ проводилось отмывание препарата мышцы раствором Кребса.

Показателем мышечного сокращения служило изменение угла, образованного в результате отклонения писчика регистрирующего прибора от базисной линии (исходного фона) после добавления раствора исследуемого препарата.

Результаты и их обсуждение

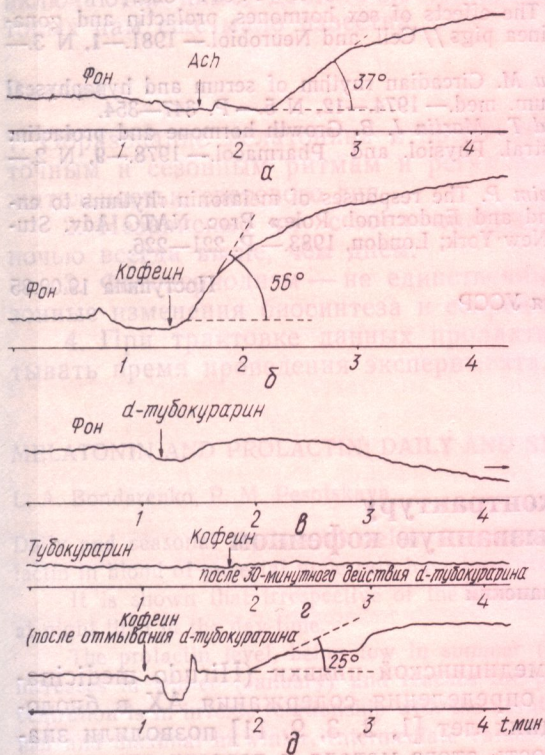
Результаты исследований показали, что при воздействии на препарат спинной мышцы пиявки АХ происходило сокращение мышцы (значения размера угла варьировали от 30° до 70°). Мышечное сокращение наблюдалось во всех случаях после воздействия кофеином (размер угла варьировал в тех же пределах, что и при воздействии ацетилхолина).

При воздействии d-тубокураином с целью блокады Н-холинорецепторов в течение 3—10 мин наступало расслабление мышцы.

На фоне блокады холинорецепторов d-тубокураином воздействие на препарат кофеином сопровождалось значительно меньшим сокращением мышцы (размер угла уменьшался в 1,5—2 раза). В отдельных случаях реакция на кофеин отсутствовала.

Влияние ацетилхолина и кофеина на сократительную способность спинной мышцы пиявки:

а — влияние ацетилхолина (10—18 ммоль/л); б — влияние кофеина (10—13 ммоль/л); в — влияние d-тубокураина (1,4·10⁻⁴ ммоль/л); г — влияние кофеина после 30-минутного действия d-тубокураина; д — влияние кофеина после 15-минутного отмывания d-тубокураина. Стрелка указывает на момент введения исследуемого препарата. Пунктирными линиями обозначены углы отклонения писчика от базисной линии.



Типичные результаты одного опыта представлены на рисунке, из которого видно, что АХ в дозе 10—18 ммоль/л вызывает сокращение мышцы ($\angle 37^\circ$). После отмывания АХ и добавления кофеина (10—13 ммоль/л) размер угла составлял 56°. При воздействии d-тубокураина (1,4·10⁻⁴ ммоль/л) наблюдается расслабление мышцы. После 30-минутного воздействия d-тубокураином реакция на кофеин не возникала, после 15-минутного отмывания мышцы раствором Кребса реакция на кофеин вновь появилась, но была более низкой ($\angle 25^\circ$ по сравнению с исходной и имела ступенчатый характер, что по-видимому, обусловлено неполным отмыванием более прочно связанного с хеморецептором d-тубокураина).

Полученные нами данные указывают на роль холинергического механизма в возникновении сокращений спинной мышцы пиявки под влиянием кофеина. Предполагается, что кофеин оказывает на пресинаптическом уровне облегчающее влияние на механизм высвобождения ацетилхолина, специфически взаимодействуя с холинорецептором мышцы. Такой вывод совпадает с имеющимися в литературе [10] единичными данными, полученными на гладких мышцах теплокровных животных. Как показано в опытах на подвздошной кишке морской свинки [10], кофеин вызывает облегчение спонтанного высвобождения

АХ из нервных окончаний мышцы, атропин вызывает существенное снижение стимулирующего действия кофеина на эту мышцу. Однако другие авторы [14] установили на том же объекте, что влияние кофеина продолжает наблюдаться при воздействии атропином. Эти авторы выявили определенное сходство в действии кофеина и АХ на электрическую активность исследуемых мышц, хотя в других работах [8, 12] такое сходство не наблюдалось. Можно предположить, что противоречивость приведенных литературных данных может быть связана с использованием их авторами относительно больших доз кофеина в отличие от доз, примененных в наших опытах.

Полученные нами данные не противоречат гипотезе о том, что кофеин может стимулировать некоторые гладкие мышцы прямым действием и при участии кальциевого механизма [5—7, 15, 16].

Такое влияние на высвобождение кальция, по-видимому, не исключается и на пресинаптическом уровне. В этом случае ионы кальция оказывают активирующее влияние на высвобождение АХ из синаптических везикул. Однако в условиях наших опытов (обработка препарата в экстремальных условиях и использование очень малых доз кофеина) действие кальциевого механизма не проявлялось, так как не наблюдалась активация сокращения мышцы кофеином в период последствия d-тубокурарина.

В заключение следует отметить, что использование сверхчувствительных по отношению к действию физиологически активных веществ препаратов мышечной ткани дало возможность выявить роль холинергического механизма в опосредовании действия сверхмалых доз кофеина на сокращение спинной мышцы пиявки. Действие кофеина на сокращение гладких мышц может опосредоваться не только через холинергический, но и через другие механизмы.

THE TUBOCURARINE EFFECT ON THE CAFFEINE-INDUCED CONTRACTURE OF THE LEECH DORSAL MUSCLE

B. A. Roitrub, R. S. Zlatin, Yu. P. Limansky

Experiments conducted on the dorsal muscle of the medicinal leech (*Hirudo medicinalis*) treated with neostigmine methylsulphate ($2 \cdot 10^{-8}$ mmol/l) with higher sensitivity of chemoreceptors to acetylcholine (10^{-18} mmol/l) have revealed that caffeine in a dose of 10^{-13} mmol/l induces contraction of the muscle which is partially or completely blocked by d-tubocurarine ($1.4 \cdot 10^{-4}$ mmol/l) after its 15-30 min action. d-Tubocurarine itself evokes the muscle relaxation occurring within 3-10 min. A supposition is advanced on the presynaptic modulating caffeine effect on the release mechanism of acetylcholine specifically interacting with the muscle cholinoreceptor.

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

1. Златин Р. С., Ройтруб Б. А., Костюк О. И. О холинергических механизмах гипоталамо-кортикальных влияний // Пробл. физиологии гипоталамуса.— 1982.— Вып. 16.— С. 68—73.
2. Ройтруб Б. А., Златин Р. С. Способ устойчивого повышения чувствительности биологического метода определения ацетилхолина // Физиол. журн.— 1983.— 29, № 2.— С. 237—239.
3. Beny J.-L. Une methode de dosage de l'acetylcholine appliquee a l'etude du ganglion sympathique cervical du rat // J. Physiol. (Paris).— 1978.— 74, N 6.— P. 623—631.
4. Bolton T. B. Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle // Physiol.— Rev.— 1979.— 59, N 3.— P. 606—719.
5. Borys H. K., Karler R. Effects of caffeine on the intracellular distribution of calcium in frog sartorius muscle // J. Cell Physiol.— 1971.— 78, N 3.— P. 387—404.
6. Chapman R. A., Miller D. J. The action of caffeine on frog myocardial contractility // J. Physiol.— 1971.— 217, N 1.— P. 64.
7. Herz R., Weber A. Caffeine inhibition of Ca uptake by muscle reticulum // Fed. Proc.— 1965.— 24, N 2.— P. 208.
8. Ito Y., Osaka T., Kuriyama H. Topical differences of caffeine action on the smooth muscle cells of the guinea pig alimentary canal // Ibid.— 1974.— 24, N 2.— P. 237—242.

9. Kadota K., Nagata M. Bioassay of acetylcholine with a thin muscle strip of the Japanese medical leech: a preliminary note on the reappraisal of the availability of this method // Jap. J. Pharmacol.—1975.—25, N 5.—P. 602—605.
10. Kazic T. Action of metylxanthines and imidazole on the contractility of the terminal ileum of the guinea pig // Eur. J. Pharmacol. 1977, 41, N 2, P. 103—111.
11. Nagata M., Kadota K. Specificity of muscle response of the Japanese medical leech to acetylcholine // Jap. J. Pharmacol.—1976.—26, N 5. P. 631—634.
12. Osa T. The inhibitory action of caffeine on the smooth muscle of mouse myometrium and guinea pig ileum // Ibid.—1973.—23, N 2.—P. 199—216.
13. Sadow A. Excitation-contraction coupling in skeletal muscle // Pharmacol. Rev.—1965.—17, N 2.—P. 265—320.
14. Suzuki H., Kuriyama H. Electrical and mechanical properties of longitudinal and circular muscles of the guinea pig ileum // Jap. J. Physiol.—1975.—25, N 2.—P. 759—773.
15. Weber A. The mechanism of the action of caffeine on sarcoplasmic reticulum // J. Gen. Physiol.—1968.—52, N 5.—P. 760—772.
16. Weber A., Herz R. The relationship between caffeine contracture of intact muscle and the effect of caffeine on reticulum // Ibid.—1968.—52, N 5.—P. 750—759.

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

Поступила 29.01.86

УДК 616.853.2+591.553.+577.169

Особенности гормональной регуляции обмена электролитов у крыс с различной судорожной готовностью

Н. Г. Сергиенко, Е. Я. Панков, О. В. Розумович

Изучение особенностей внутренней среды организма при изменении регуляторных функций центральной нервной системы, является одной из основных задач физиологии и биохимии. Известно, что у больных эпилепсией и у животных с повышенной судорожной готовностью наблюдаются сдвиги обмена электролитов: изменяется в плазме крови концентрация кальция, натрия, калия [1—4, 6, 7, 9, 10, 12, 14], магния, фосфора [13, 15—17]. Можно предположить, что различия содержания электролитов у животных с неодинаковой судорожной предрасположенностью являются отражением глубоких изменений, происходящих в механизмах поддержания постоянства внутренней среды, и опосредуются гуморальными, в частности гормональными факторами.

В данном сообщении приводятся результаты исследования содержания электролитов и особенностей его гормональной регуляции у крыс обоего пола массой 150—200 г с генетически детерминированной высокой судорожной готовностью (популяция Крушинского — Молодкиной; КМ) и крыс линии Вистар, разделенных по чувствительности к аудиогенному раздражителю (звонок силой 96 дБ в течение 120 с) на две группы: первая — крысы с высокой (В) и вторая — крысы с низкой (Н) возбудимостью мозга [5, 8]. Содержание электролитов в плазме крови и моче определяли с использованием общепринятых методов: калий, натрий — методом пламенной фотометрии (пламенный фотометр фирмы «Zeiss»), кальций и магний — комплексонометрически, неорганический фосфор — восстановлением фосфорно-молибденовой кислоты [11]. Кроме того, натрий, калий, кальций и магний определяли методом атомно-абсорбционного анализа на спектрографе «Сатурн-1». Кальцитонин, паратгормон и альдостерон исследовали с использованием радиоиммунологических наборов фирмы «Cea-Ire-Sorin» (Франция — Бельгия — Италия), «Immuno Nuclear Corporation» (США), «Вук-Mallinckrodt» (ФРГ). Исследования проводили в зимне-весенний (февраль — март) и летне-осенний (июль — сентябрь) периоды.

В результате проведенных исследований было установлено