

THE ANTIHYPOXANT IONOL INFLUENCE ON THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF AIR-BLOOD LUNG BARRIER IN HYPOXIC HYPOXIA

It is shown that antihypoxant ionol has promoted normalization of the air-blood lung barrier ultrastructure, activation of the surfactant system under acute hypoxic hypoxia effect as well as compensatory redistribution of the thickness of separate barrier layers due to intensified synthesis of phospholipids which are the components of cytoplasmic membranes and pulmonary surfactant.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антрощенко Е. С. Проницаемость капилляров при сердечно-сосудистых заболеваниях по данным радиоиндикации // Клинич. мед.— 1984.— 62, № 3.— С. 68—70.
2. Бойков А. К. Электронная микроскопия некоторых деструктивных изменений клеток легочной альвеолы // Легкое в патологии.— Новосибирск: Наука, 1975.— Ч. 2.— С. 71—88.
3. Коваленко Т. Н. Состояние аэрогематического барьера легких в условиях нормальной и измененной газовой среды у крыс разного возраста: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Киев, 1984.— 26 с.
4. Поликар А., Колле А. Физиология нормальной и патологической соединительной ткани.— Новосибирск: Наука, 1966.— 269 с.
5. Розова Е. В. Компенсаторные и патологические изменения ультраструктуры аэрогематического барьера легких при гипоксии различного генеза // Реактивность и резистентность: фундаментальные и практические вопросы.— Киев: Б. и., 1987.— С. 227—228.
6. Сальников М. И., Евсеева Б. А. Влияние антиоксиданта дибунола на проницаемость капилляров у больных ишемической болезнью сердца // Биоантиоксиданты.— Черноголовка: Б. и., 1986.— Т. 2.— С. 67—68.
7. Шахламов В. А. Капилляры.— М.: Медицина, 1971.— 200 с.
8. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. М.: Мир, 1975.— 324 с.
9. Drinker C. K. The clinical physiology of the lung.— Springfield: Ch. Thomas, 1954.— 84 p.
10. Havill A. M., Gee M. H. Role of interstitium in clearance of alveolar fluid in normal and injured lungs // J. Appl. Physiol.: Respir. Environ. and Exercise Physiol.—1984.— 57, N 1.— P. 1—6.
11. Sobin S. S., Tremmer H. M., Hardy S. D. et al. Changes in arteriole in acute and chronic pulmonary hypertension and recovery in rat // Ibid.—1983.— 55, N 5.— P. 1445—1455.
12. Unruh H. W., Goldberg H. S., Oppenheimer L. Pulmonary interstitial compartments and tissue resistance to fluid flux // Ibid.—1984.— 57, N 5.— P. 1512—1519.
13. Weibel E. R., Knight B. W. A morphometric study on the thickness of the pulmonary air blood barrier // J. Cell Biol.—1964.— 21, N 3.— P. 367—384.

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

Материал поступил
в редакцию 23.01.89

УДК 612.17+517.15/17

А. Г. Козлов, Н. Ф. Радченко, С. Н. Марченко

Изменение кинетических свойств адренорецепторов
сердечной мышцы при действии катехоламинов

Развитие адренергической реакции связано с активацией мембранного аденилатциклазного комплекса, включающего в себя бета-адренорецептор (бета-АР), ГТФ-сопрягающий белок, каталитическую субъединицу аденилатциклазы [1, 2, 4, 6]. Учитывая принципиальное значение для данного процесса состояния липидных компонентов мембраны, а также то, что катехоламины (КА) сами могут влиять на них, изменяя активность фосфолипаз [9], метилтрансфераз [5], организацию элементов

цитоскелета [1] и другие показатели, авторы высказали предположение о саморегуляции адренореактивности сердечной мышцы в ходе развития КА-реакции на уровне плазматической мембраны. Эта работа посвящена проверке сделанного предположения.

Методика

В качестве показателя функционирования адренореактивной системы папиллярной мышцы (ПМ) левого желудочка сердца крысы измеряли прирост изометрического напряжения (T) с помощью механотрона 6MX1C. Чтобы оценить характер указанной срочной саморегуляции адренореактивности в зависимости от исходного состояния адренергического аппарата, опыты проводили на препаратах ПМ, взятой у специально подготовленных крыс: интактных (ПМ_I); резерпинизированных (рауседил, 3,0 мкг/кг массы, внутривенно, за 24 ч до опыта, ПМ_{II}); получавших в течение двух недель бета-адреноблокатор анаприлин (обзидан, 10,0 мкг/кг массы, внутривенно, ежедневно) и взятых в опыт через 1 сут (ПМ_{III}) и 6 сут (ПМ_{IV}) после отмены инъекций препарата, а также крыс, получавших в течение недели смесь норадреналина (НА) и адреналина (А) в соотношении концентраций 2:1 (суммарная концентрация 0,75 мг/кг, внутривенно, ежедневно, ПМ_V). Таким образом, создается возможность учета степени блокады бета-АР (ПМ_{II} и ПМ_{IV}), а также исходного КА-фонда организма (ПМ_I и ПМ_V). Контрольными исследованиями установлено, что резерпинизация животных (ПМ_{II}) проявилась в снижении содержания НА в миокарде на 63 % ($P < 0,001$); в условиях модели V содержание этого амина в плазме крови повысилось на 334,82 % ($P < 0,05$).

Каждый опыт включал в себя два этапа: переперфузию ПМ смесью НА и А в соотношении концентраций 2:1 при суммарных концентрациях $1,77 \cdot 10^{-6}$ и $1,77 \times 10^{-5}$ моль/дм³ в течение 10 и 30 мин; введение тестирующего раствора анаприлина ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/дм³), который готовили на смеси НА и А, использовавшейся на первом этапе.

Такая форма опытов позволяла судить сугубо о рецепторном уровне изменений адреноактивности сердечной мышцы при действии катехоламинов с учетом точки приложения бета-адреноблокатора. Оценивали константу диссоциации комплекса «адреноблокатор—бета-АР» (K_d), а также константы скоростей прямой (k_+) и обратной (k_-) реакций.

Последние рассчитывали по формулам, учитывающим значение K_d , а также постоянную времени развития адреноблокирующего эффекта K [3].

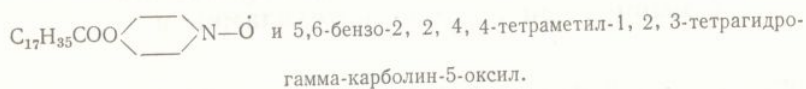
$$K = k_+ [B] + k_- \quad (1)$$

В таком случае искомые константы k_+ и k_- имели вид

$$k_+ = \frac{k_-}{K_d}, \text{ с}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{дм}^3, \quad (2)$$

$$k_- = \frac{K}{1 + [B]/K_d}, \text{ с}^{-1}. \quad (3)$$

Данные о характере изменения кинетических свойств бета-АР при действии КА сопоставляли с результатами измерения микровязкости плазматической мембраны кардиомиоцитов. Микровязкость измеряли методом ЭПР-спектроскопии на спектрометре «Varian E-9» (фирма «Varian», США). В качестве спиновых зондов использовали стабильные иминоксильные радикалы.



Первый зонд локализуется преимущественно в гидрофобной области липидного бислоя мембраны, а второй — в приоболочных липидных областях. Микровязкость оценивали по времени вращательной корреляции τ_c , имеющей смысл периода переориентации радикала на угол $\pi/2$. В данных опытах использовали сарколеммальные везикулы сердца свиньи, выделенные по методу, описанному Jones и соавт. [10].

Результаты и их обсуж

Опыты на препаратах троля, до начала преп к анаприлину в услови таковым в условиях ПМ_{II} (превышение K 13,6 раза) и ПМ_V (на монстрирует конкурен агент) и лигандами, странстве.

С началом введен и ПМ_V изменяются т только не снижается, 1 шении значения K_d (т.

Изменение кинетических с реакции на анаприлин) в катехоламинов ($n=6-8$)

Мо- дель	Концентрация катехолами- нов, $\times 10^{-8}$ моль/дм ³	Продол- житель- ность перфузи мин
ПМ _I	—	30
	1,77	10
	17,7	30
	—	10
ПМ _{II}	—	30
	1,77	10
	1,77	30
	—	10
ПМ _{III}	1,77	30
	17,7	10
	—	30
	1,77	10
ПМ _{IV}	—	30
	—	10
	1,77	30
	—	10
ПМ _V	17,7	30
	—	10

Примечание. Выделен контроля; * достоверное с меньшей концентрацией K_d тельностью перфузии КА.

Особенно заметен ного показателя средс А ($1,77 \cdot 10^{-5}$ моль/дм³ 96,4 % ($P < 0,05$).

В условиях модел мере продлевания вре и при увеличении конц

Из данного факта, рестройка адренореце длится несколько доль та. Если бы это было

Результаты и их обсуждение

Опыты на препаратах ПМ позволили установить, что в условиях контроля, до начала преперфузии мышц раствором КА, сродство бета-АР к анаприлину в условиях моделей II—V было понижено по сравнению с таковым в условиях модели I. Особенно это заметно в опытах на ПМ_{II} (превышение K_d по сравнению с таковой в опытах на ПМ_I в 13,6 раза) и ПМ_V (на 211,3 %). Это явление достаточно очевидно и демонстрирует конкуренцию между вновь вводимым анаприлином (тест-агент) и лигандами, уже имеющимися в околорецепторном пространстве.

С началом введения КА адренорецепторы препаратов ПМ_{II}, ПМ_{IV} и ПМ_V изменяются таким образом, что сродство их к блокатору не только не снижается, но даже увеличивается, что проявляется в уменьшении значения K_d (таблица).

Изменение кинетических свойств адренорецепторов сердечной мышцы (судя по реакции на анаприлин) в условиях перфузии папиллярной мышцы (ПМ) растворами катехоламинов ($n=6-8$)

Мо- дель	Концентрация катехолами- нов, $\times 10^{-8}$ моль/дм ³	Продол- житель- ность перфузии, мин	$K_d \cdot 10^{-5}$, моль/дм ³	$k_{+} \cdot 10^{-8} \cdot c^{-1} \times$ $\times$ моль/дм ³	$k_{-} \cdot 10^{-3} \cdot c^{-1}$	
PM _I	—	30	$4,33 \pm 0,76$	$0,43 \pm 0,19$	$1,87 \pm 0,77$	
	1,77	10	$3,55 \pm 0,37$	$1,26 \pm 0,47$	$4,47 \pm 1,59$	
	17.7	30	$10,37 \pm 1,37^{*+}$	$0,63 \pm 0,17$	$6,53 \pm 1,51^{*}$	
		10	$3,03 \pm 0,37$	$0,85 \pm 0,25$	$2,59 \pm 0,68$	
		30	$9,03 \pm 1,84^{*+}$	$0,64 \pm 0,20$	$5,76 \pm 1,43^{*}$	
		30	$6,78 \pm 0,73$	$0,30 \pm 0,11$	$2,03 \pm 0,70$	
PM _{II}	—	10	$6,06 \pm 0,95$	$0,26 \pm 0,08$	$1,55 \pm 0,49^{*}$	
	1,77	30	$4,37 \pm 0,69^{*}$	$0,82 \pm 0,47$	$3,59 \pm 1,98$	
	1,77	10	$6,28 \pm 0,50$	$0,20 \pm 0,08$	$1,26 \pm 0,47$	
		30	$5,80 \pm 0,75$	$0,37 \pm 0,10$	$2,16 \pm 0,50$	
		30	$58,98 \pm 15,6$	$0,01 \pm 0,00$	$0,66 \pm 0,32$	
		10	$20,12 \pm 2,64^{*}$	$0,35 \pm 0,14^{*}$	$6,98 \pm 2,68$	
PM _{III}	1,77	30	$7,76 \pm 1,33^{*+}$	$0,39 \pm 0,18$	$3,03 \pm 1,32$	
	17,7	10	$14,68 \pm 1,90^{*}$	$0,12 \pm 0,04^{*}$	$1,73 \pm 0,60$	
		30	$6,21 \pm 1,08^{*+}$	$2,50 \pm 1,80$	$15,16 \pm 10,8$	
		30	$12,35 \pm 2,76$	$0,24 \pm 0,08$	$2,94 \pm 0,78$	
		1,77	10	$5,97 \pm 0,79^{*}$	$6,54 \pm 3,48$	$39,09 \pm 21,8$
	30		$13,47 \pm 2,81$	$0,34 \pm 0,17$	$4,58 \pm 2,06$	
10	$13,78 \pm 1,82$		$0,45 \pm 0,12$	$6,15 \pm 1,46$		
PM _V	1,77	30	$5,22 \pm 1,38^{*+}$	$0,70 \pm 0,39^{+}$	$3,63 \pm 1,81$	
	17.7	10	$1,12 \pm 0,23^{*+}$	$1,10 \pm 0,33^{**}$	$1,23 \pm 0,27^{*}$	
		30	$0,49 \pm 0,19^{*+}$	$3,85 \pm 2,17^{**}$	$1,87 \pm 0,76$	
		30				
		30				
	30					

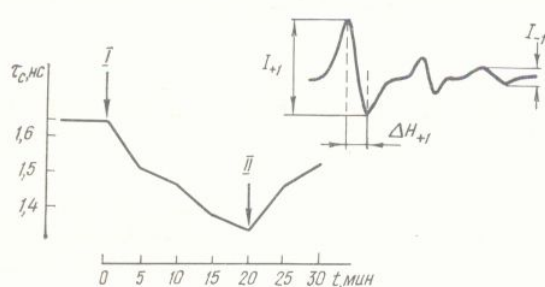
Примечание. Выделенные значения показателей — достоверное отличие от ПМ_I-контроля; * достоверное отличие от контроля; ** достоверное отличие от опыта с меньшей концентрацией КА; + достоверное отличие от опыта с меньшей продолжительностью перфузии КА.

Особенно заметен этот эффект в условиях ПМ_V, где значение данного показателя сродства к лиганду на 10-й минуте введения смеси НА и А ($1,77 \cdot 10^{-5}$ моль/дм³) уменьшается на 91,7 %, а к 30-й минуте — на 96,4 % ($P < 0,05$).

В условиях моделей III и V этот эффект биоаминов усиливался по мере продлевания времени перфузии от 10 до 30 мин, а в модели V — и при увеличении концентрации КА в перфузате.

Из данного факта, по-видимому, следует, что конформационная перестройка адренорецепторного аппарата, вызванная действием КА, длится несколько дольше, чем на них задерживаются молекулы агониста. Если бы это было иначе, вступала бы в силу обычная конкуренция

Несмотря на отсутствие полной изостеричности связывания адreno-блокатора и агониста на рецепторе [7], что обобщено в концепции «рецепторного дуализма» [8], опыты с анаприлином позволяют оценить такие тонкие характеристики взаимодействия лиганда с бета-АР, как K_+ и K_- . Установлено, что в исходном состоянии лишь в условиях ПМ₁₁


$$\tau_c = 6,65 \cdot \Delta H_{+1} \times$$

$$\times \{(I_{+1}/I_{-1})^{1/2} - 1\} \cdot 10^{-10} \text{c},$$

имелось достоверное уменьшение k_+ по сравнению с таковой в условиях ПМ₁. Здесь из-за остаточной блокады бета-АР константа скорости образования комплекса «бета-адреноблокатор — адренорецептор» была снижена на 97,4 % ($P < 0,05$). Достоверных различий значений k_- в исходном состоянии, до начала действия смеси НА и А, не отмечено.

Представляется вероятным, что указанная перестройка рецепторного аппарата при развитии КА-реакции сердечной мышцы связана с модификацией фазового состояния липидного бислоя сарколеммы. Это предположение было проверено в специальных опытах на сарколеммальных везикулах. Используя спинной зонд



Как видно из рис. 1, триплетный сигнал с соответствующей молекулой

Установлено, что время вращательной микровязкости. Отсюда мембраны важны для рецепторов с аденилатциклазами. Действие реноблокатора не связывают с белком и т. д. повышает микровязкость и взаимодружественность как способ за

Опыты со вторым
прибелковых областях
денции, т. е. изменени
НА затрагивает поляри

A. G. Kozlov, N. F. Radchenko
CATECHOLAMINE-INDUCED
OF CARDIAC MUSCLE AD

The pattern of changes in ki
to anapriline adrenoblocker
been estimated on papillary
A priority increase of the re
result of changes in microvis

A. A. Bogomoletz Medical Institute
of Public Health of the Ukraine

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бужурина И. М., Панов В. П. Внешнее воздействие // Итоги химической биологии.—
2. Воейков В. Л. Сопрежение циклазой // Итоги науки и техники. ВИНТИ, 1984.— Т. 2.—
3. Галактионов С. Г. Году теорию рецепторов.— М.
4. Кац М. М., Лаврецкая А. М. Механизмы функционирования рецепторов // Итоги науки и техники. ВИНТИ, 1986.— Т. 8.— 226 с.
5. Крепс Е. М., Перцева М. П. Роль рецепторов в развитии плазматических мембран. № 4.— С. 1005—1009.
6. Ткачук В. А. Введение в физиологию рецепторов. М., 1983.— 256 с.
7. Ткачук В. А., Северин С. П. Рецепторы и аденилатциклаза. М., 1981.— С. 176—181.
8. Ariens E. J. Receptor — ligand interaction. — P. 11—15.
9. Cohen R. M., McLellan C. P. Phospholipase — A2 — molecular biology. — P. 25—32.
10. Jones L. R., Besch H. R., Jr. Sarcoplasmic reticulum vesicles: a biochemical analysis of composition and function. — P. 1—10.
11. Levitzki A., Helmreich E. L. The role of the receptor in the regulation of the phospholipase C — P. 1—10.

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

Как видно из рисунка, зонд хорошо сольюбилизировался, давая триплетный сигнал с четко разрешенной сверхтонкой структурой, соответствующей молекулярно-дисперсному состоянию.

Установлено, что НА в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ моль/дм³ уменьшает время вращательной корреляции τ_c , что свидетельствует о снижении микровязкости. Отсюда можно заключить, что фактор фазового состояния мембраны важен не только для эффективности сопряжения адренорецепторов с аденилатциклазой [2, 11], но и для их взаимодействия с лигандами. Действие использованного нами в качестве тест-агента адреноблокатора не связано с взаимодействием рецептора с ГТФ-связывающим белком и т. д. Увеличение концентрации медиатора, напротив, повышает микровязкость и тем самым ограничивает возможности указанного взаимодействия. Этот механизм, по-видимому, может рассматриваться как способ защиты сердца в условиях катехоламинемии.

Опыты со вторым зондом, локализующимся преимущественно в прибелковых областях плазматической мембраны, выявили те же тенденции, т. е. изменение фазового состояния сарколеммы при действии НА затрагивает полярные и неполярные области липидного бислоя.

A. G. Kozlov, N. F. Radchenko, S. N. Marchenko

CATECHOLAMINE-INDUCED CHANGES IN THE KINETIC PROPERTIES OF CARDIAC MUSCLE ADRENORECEPTORS

The pattern of changes in kinetic properties of β -adrenoreceptor (C_d , c_+ and c_-) relative to anapriline adrenoblocker under conditions of muscle perfusion by catecholamines has been estimated on papillary cardiac muscles of the rat as based on the isometric voltage. A priority increase of the receptors' affinity to the blocker is determined, that may be a result of changes in microviscosity of the lipid sarcolemma bilayer.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бужурина И. М., Панов М. А. Механизмы формирования клеточного ответа на внешнее воздействие // Итоги науки и техники. Серия «Общие проблемы физико-химической биологии». — М.: ВИНТИ, 1986. — Т. 3. — 258 с.
2. Воейков В. Л. Сопряжение рецепторов гормонов и нейромедиаторов с аденилатциклазой // Итоги науки и техники. Серия «Биоорганическая химия». — М.: ВИНТИ, 1984. — Т. 2. — 172 с.
3. Галактионов С. Г., Голубович В. П., Шендерович М. Д., Ахрем А. А. Введение в теорию рецепторов. — Минск: Наука и техника. — 1986. — 199 с.
4. Кац М. М., Лаврецкая Э. Ф. Рецепторы биогенных аминов мозга: структура, механизмы функционирования и взаимодействие с физиологически активными веществами // Итоги науки и техники. Серия «Биоорганическая химия». — М.: ВИНТИ, 1986. — Т. 8. — 226 с.
5. Крепс Е. М., Перцева М. Н., Тюрин В. А., Горбунов Н. В. Роль липидов в функциональном развитии катехоламинчувствительной аденилатциклазной системы плазматических мембран скелетных мышц // Докл. АН СССР. — 1983. — 273, № 4. — С. 1005—1009.
6. Ткачук В. А. Введение в молекулярную эндокринологию. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983. — 256 с.
7. Ткачук В. А., Северин С. Е. Взаимодействие между бета-адренергическими рецепторами и аденилатциклазой системы сердца // Метаболизм миокарда. — М.: Медицина. — 1981. — С. 176—186.
8. Ariens E. J. Receptor — from fiction to fact // Trends Pharm. Sci. — 1979. — 1, N 1. — P. 11—15.
9. Cohen R. M., McLellan C., Dauphin M., Hirata F. Glutaraldehyde pretreatment blocks phospholipase — A2 — modulation of adrenergic receptors // Life Sci. — 1985. — 36, N 1. — P. 25—32.
10. Jones L. R., Besch H. R., Jr., Fleming J. W. et al. Separation of vesicles of cardiac sarcolemma from vesicles of cardiac sarcoplasmic reticulum. Comparative biochemical analysis of component activities. // J. Biol. Chem. — 1979. — 254, N 2. — P. 530.
11. Levitzki A., Helmreich E. J. M. Hormone-receptor-adenylate cyclase interactions // FEBS Lett. — 1979. — 101, N 2. — P. 213—219.

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

Материал поступил
в редакцию 23.01.89