

УДК 616.12—616.45—001.1/3—616—003.96—576.8.097.1

Ф. З. Меерсон, Ю. Н. Копылов, Г. Н. Балденков

α_1 -Десенситизация сердца при адаптации к стрессорным воздействиям

Известно, что адаптация к повторным стрессорным воздействиям закономерно предотвращает нарушения электрической стабильности сердца при стрессе и инфаркте миокарда [11], а также ограничивает аритмии при острой локальной ишемии и реперфузии [4]. Доказано также увеличение резистентности изолированного сердца адаптированных животных к токсическим концентрациям адреналина [1], реперфузионным повреждениям после тотальной ишемии [2], избытку Ca^{2+} [3], который является конечным звеном патогенетической цепи всех этих повреждающих факторов. При изучении механизма кардиопротекторного эффекта адаптации к стрессу в качестве одного из его звеньев рассматривается десенситизация адренергической системы сердца [4]. Однако вопрос о том, десенситизация каких именно адренорецепторов играет роль в механизме кардиопротекторного действия, до последнего времени оставался открытым.

Цель представленной работы состояла в том, чтобы сопоставить динамику количества и сродства к лиганду β -адренорецепторов и Ca^{2+} -мобилизующих α_1 -адренорецепторов сердца при адаптации к повторным стрессорным воздействиям.

Методика

Опыты были проведены на крысах-самцах линии Вистар. Адаптация к кратковременным стрессорным воздействиям производилась с помощью иммобилизации животных на спине через сутки с увеличением продолжительности иммобилизации от 15 мин (1-е сутки) до 1 ч (4-е сутки). Общая продолжительность адаптации составляла 8 или 15 сеансов иммобилизации. Животных забивали на следующие сутки после завершения курса адаптации.

Выделение плазматических мембран из ткани сердца крыс проводили по методу Ткачука и Балденкова [5] в некоторой модификации. Для изучения связывания лиганда с рецепторами дигидропиридинов потенциалозависимых Ca^{2+} -каналов плазматические мембраны из миокарда крыс выделяли по методу Fawsi и McNeill [6]: Измерения связывания [^3H]-дигидроалprenолола с β -адренергическими рецепторами проводили по методу Lefkowitz и соавт. [9] в некоторой модификации, связывания [^3H]-празозина с α_1 -адренорецепторами — по методу Lynch и соавт. [10], связывания [^3H]-хинуклидинилбензилата с М-холинергическими рецепторами — по методу Sharma и Venetjee [14], связывания [^3H]-Р 200-110 с рецепторами дигидропиридинов потенциалозависимого Ca^{2+} -канала — по методу Fawsi и McNeill [6] в некоторой модификации. Реакцию связывания лигандов с рецепторами останавливали быстрым добавлением 15 мл холодного буфера, затем пропускали через фильтры GF/C фирмы «Whatman» (Англия). Фильтры помещали во

© Ф. З. МЕЕРСОН, Ю. Н. КОПЫЛОВ, Г. Н. БАЛДЕНКОВ, 1991.

флаконы с диоксановым сцинтиллятором и определяли радиоактивность на сцинтилляционном счетчике Back Beta «ЛКВ» (Швеция). Расчет количества рецепторов ($V_{\text{макс}}$), а также константы диссоциации лиганда (K_d) — величины, обратной аффинности рецепторов, проводили на персональном компьютере Olivetti M-24 с использованием программы EBDA/Ligand для IBM-PC McFerson, 1984 г. Активность аденилатциклазы [АЦ] определяли по методу, описанному Ткачуком и Балденковым [5]. При определении изменения активности АЦ в ответ на стимуляцию в инкубационную смесь добавляли L-изопротеренол (0,1 ммоль) или фторид натрия (0,1 ммоль). Образовавшийся [^{32}P]-цАМФ отделяли на колонках с оксидом алюминия. Радиоактивность определяли, используя эффект Черенкова. Все эксперименты проводили в трех параллельных пробах. Белок определяли по методу Peterson [13].

Результаты и их обсуждение

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что при адаптации к повторным стрессорным воздействиям количество β -рецепторов в миокарде через 2 нед возросло на 69 %, а затем через 1 мес после начала адаптации вернулось к норме. При этом аффинность этих рецепторов снижалась в середине курса адаптации и возвращалась к контрольному значению в конце. Базальная активность АЦ к концу курса адаптации снизилась почти на 20 %, а ее ответ на стимуляцию β -селективным агонистом L-изопротеренолом не отличался от ответа контроля. Чувствительность АЦ в ответ на действие фторида натрия через 2 нед адаптации было выше почти в 2 раза, но к концу курса соответствовало фторид-стимулированной активности фермента у контрольных животных.

Таким образом, в итоге двигательной адаптации к повторным стрессорным воздействиям десенситизации системы: « β -адренорецепторы — аденилатциклаза» не наблюдалось. Вместе с тем, количество М-холиннергических рецепторов, приходящееся на 1 мг белка, уже через 2 нед возросло примерно на $1/3$ и к концу курса адаптации оставалось достоверно увеличенным (табл. 1). Это небольшое преобладание количества М-холиннергических рецепторов над количеством β -адренорецепторов, возникшее в конце периода адаптации, может тем не менее иметь защитное значение двоякого смысла: во-первых, изменяя состояние рецепторзависимых K^+ -каналов, можно тем самым оказывать антиаритми-

Таблица 1. Влияние адаптации к кратковременным стрессорным воздействиям на количество β -адренергических и М-холиннергических рецепторов и активность аденилатциклазы в миокарде

Исследуемый показатель	Условие эксперимента		
	Контроль	Адаптация к стрессу	
		8 сеансов	15 сеансов
Максимальное количество рецепторов в 1 мг белка, фмоль:			
β -адренергических	$51,3 \pm 2,7(12)$	$86,9 \pm 2,7(12)$	$61,5 \pm 5,1(12)$
М-холиннергических	$413 \pm 18(12)$	$542 \pm 30^*(9)$	$512 \pm 31^*(6)$
Константа диссоциации лиганда, нмоль:			
для β -адренергических рецепторов	$1,55 \pm 0,10(12)$	$2,18 \pm 0,10^*(12)$	$1,49 \pm 0,13(12)$
для М-холиннергических рецепторов	$136 \pm 10(12)$	$178 \pm 22(9)$	$165 \pm 19(6)$
Активность аденилатциклазы, пмоль/мг·мин:			
базальная	$1,64 \pm 0,10(8)$	$1,70 \pm 0,09(9)$	$1,33 \pm 0,05^*(6)$
в ответ на L-изопротеренол	$4,05 \pm 0,18(8)$	$5,59 \pm 0,27^*(9)$	$3,51 \pm 0,08(6)$
в ответ на фторид натрия	$9,58 \pm 0,74(8)$	$17,10 \pm 0,98^*(9)$	$10,4 \pm 0,57(6)$

Примечания: * $P < 0,01$; цифры в скобках — число животных в исследуемой группе.

ческое дей
может про
жет ограни
лозависим

Результ
в отличие
ров под в
произошел
ции. Десен
шением ко
жением их
венное кар
инотропный
АЦ, главне
плазматиче
ляция α_1 -р
щийся ино
вызывает в
раздражени
жет привес
вению арит
 α_1 -агониста
эффектом
[15], а введ
ние реперф
 α_1 -рецептор
каторы сни
устранения

Таким
ная нами п
ход Ca^{2+} и
т. е., в коне

Из таб
цепторов и
дение Ca^{2+}
потенциало
цепторов д

Таким
о том, что
ковременн
может спос

Таблица 2.
на содержи
(по количеств

Иссле

Максимально
1 мг белка, ф
 α_1 -адренер
дигидропи
Константа ди
для α_1 -ад
для дигид

Примечани
емой группе.

Физиол. журн

ческое действие [7], во-вторых, увеличение количества М-рецепторов может проявляться в снижении активности АЦ, что в свою очередь может ограничивать активирующее влияние катехоламинов на потенциалозависимые Ca^{2+} -каналы и вхождение Ca^{2+} в кардиомиоциты [8].

Результаты, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что в отличие от системы β -адренорецепторов в системе α_1 -адренорецепторов под влиянием адаптации к повторным стрессорным воздействиям произошел значительный сдвиг — реализовалось явление десенситизации. Десенситизация α_1 -рецепторов выражалась одновременным уменьшением количества рецепторов на 25% и увеличением их Кд, т. е. снижением их аффинности. Сочетание этих сдвигов может иметь существенное кардиопротекторное значение. Известно, что положительный инотропный эффект физиологических α_1 -агонистов реализуется помимо АЦ, главным образом за счет увеличения выхода Ca^{2+} из депо саркоплазматического ретикулума в саркоплазму [17]. Показано, что стимуляция α_1 -рецепторов активирует фосфоинозитидный обмен. Образующийся инозитолтрифосфат, действуя на специальные рецепторы СПР, вызывает выход Ca^{2+} из хранилищ в саркоплазму [17]. При сильном раздражении α_1 -рецепторов, а также при ишемии и реперфузии это может привести к чрезмерному выбросу Ca^{2+} в саркоплазму и возникновению аритмий. В полном соответствии с этим показано, что введение α_1 -агониста метоксамина одновременно с выраженным инотропным эффектом приводит к снижению порога фибрилляции сердца в 2,5 раза [15], а введение различных α -антагонистов предотвращает возникновение реперфузионных аритмий [16]. Известно далее, что раздражение α_1 -рецепторов может влиять на возникновение коронарораспазма, а α -блокаторы снижают тонус коронарных сосудов и успешно используются для устранения коронарораспазма [12].

Таким образом, выраженная α_1 -десенситизация миокарда, выявленная нами при адаптации к стрессорным воздействиям, ограничивая выход Ca^{2+} из СПР, может играть антиаритмическую, антиспастическую, т. е., в конечном итоге, кардиопротекторную роль.

Из табл. 2 видно далее, что помимо десенситизации α_1 -адренорецепторов изучаемая нами адаптация может также ограничивать вхождение Ca^{2+} в кардиомиоциты за счет уменьшения на 20% количества потенциалозависимых Ca^{2+} -каналов, определяемых по количеству рецепторов дигидропиридинов.

Таким образом, результаты наших экспериментов свидетельствуют о том, что реализации кардиопротекторного действия адаптации к кратковременным стрессорным воздействиям помимо других причин [3] может способствовать сочетание трех факторов, ограничивающих повы-

Таблица 2. Влияние адаптации к кратковременным стрессорным воздействиям на содержание α_1 -адренергических рецепторов и потенциалозависимых Ca^{2+} -каналов (по количеству рецепторов дигидропиридинов) в сердце крыс

Исследуемый показатель	Условие эксперимента		
	Контроль	Адаптация к стрессу	
		8 сеансов	15 сеансов
Максимальное количество рецепторов в 1 мг белка, фмоль:			
α_1 -адренергических	134±13(10)	100±4*(10)	100±3*(9)
дигидропиридиновых	259±14(10)	220±5**(10)	206±6**(10)
Константа диссоциации лиганда, пмоль:			
для α_1 -адренергических рецепторов	400±44	640±17**	685±85**
для дигидропиридиновых рецепторов	220±22	124±6**	126±7**

Примечания: * $P < 0,1$; ** $P < 0,01$; цифры в скобках — число животных в исследуемой группе.

шение концентрации ионов Ca^{2+} в миокардиальной клетке: α_1 -десенситизация, увеличение количества М-холинорецепторов и уменьшение количества потенциалозависимых Ca^{2+} -каналов.

F. Z. Meerson, Yu. N. Kopylov, G. N. Baldenkov

ALPHA₁ DESENSITIZATION OF THE HEART IN ADAPTATION TO STRESS EXPOSURE

Results of the experiments evidence that a combination of three factors, limiting the Ca^{2+} concentration increase in myocardial cell, can play a role in the cardioprotective effect of adaptation of rats to short-term immobilization stress (every second day for a month) are presented. Those factors are as follows: desensitization of α_1 -adrenoreceptors, M-cholinoreceptors up-regulation and reduced number of voltage-dependent Ca^{2+} channels in the myocardial membranes.

Institute of General Pathology and Pathological Physiology of the USSR, Academy of Medical Sciences, Moscow

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Малышев И. Ю. Адаптация организма к стрессорным воздействиям повышает резистентность сердца к адренотоксическому повреждению // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1989.— № 4.— С. 411—413.
2. Меерсон Ф. З., Белкина Л. М., Дюсенов С. С. и др. Предупреждение нарушений электрической стабильности сердца при экспериментальном инфаркте миокарда с помощью предварительной адаптации к коротким стрессорным воздействиям и антиоксиданта ионола // Кардиология.— 1986.— № 8.— С. 19—24.
3. Меерсон Ф. З., Малышев И. Ю., Сазонтова Т. Г. Предупреждение с помощью адаптации к стрессорным воздействиям аритмогенного и контрактурного влияния избытка Ca^{2+} на сердце за счет повышения активности саркоплазматического ретикулула // Там же.— 1989.— № 8.— С. 69—75.
4. Меерсон Ф. З., Пшеничкова М. Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам.— М.: Медицина, 1988.— 256 с.
5. Ткачук В. А., Балденков Г. Н. Выделение, очистка и характеристика регуляторных свойств аденилатциклазы сердца кролика // Биохимия.— 1978.— 43.— Вып. 6.
6. Fawzi A. B., McNeill J. H. [³H]-Nitrendipine binding in the guinea pig left ventricles: effect of calcium and lantanium // Eur. J. Pharmacol.— 1984.— 104.— P. 357—362.
7. Heidbüchel H., Vereecke J., Carmeliet E. The electrophysiological effects of acetylcholine in single human atrial cells // Mol. Cell. Cardiol.— 1987.— 19.— P. 1207—1219.
8. Hescheler J., Kameyama M., Trautwein W. On the mechanism of muscarinic inhibition of the cardiac Ca current // Pflügers Arch.— 1986.— 407.— P. 182—189.
9. Lefkowitz R. I., Millikin D., Caron M. Regulation of beta-adrenergic receptor by guanylyl-5-yl-imidodiphosphate and others purine nucleotides // J. Biol. Chem.— 1976.— 251, N 15.— P. 4686—4692.
10. Lynch C. J., Charles R., Blackmore P. F., Exton J. H. Studies on the hepatic α_1 -adrenergic receptor // J. Biol. Chem.— 1985.— 260.— N 3.— P. 1593—1600.
11. Meerson F. Z., Dmitriev A. D., Zayatz V. I., Manukhina E. B. Prevention of disturbances of heart function in experimental infarction by adaptation to stressful activity: the role of opioid peptides in this phenomenon // Myocardial metabolism / Eds Smirnov V. N., Katz A. M.— Harwood: Acad. Publish., 1987.— P. 508—521.
12. Murray P. A., Vather S. F. α -Adrenoreceptor attenuation of the coronary vascular response to severe exercise in the conscious dog // Circ. Res.— 1979.— 45, N 5.
13. Peterson G. L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al with is more generally applicable // Anal. Biochem.— 1977.— 83, N 2.— P. 346—356.
14. Sharma V. K., Banerjee S. P. Muscarinic cholinergic receptors in rat heart // J. Biol. Chem.— 1977.— 252, N 21.— P. 7444—7446.
15. Thandroyen F. T., Flint N. S., Worthington M. G., Opie L. H. Arrhythmogenic action of α_1 -adrenoreceptor stimulation in isolated non-ligated rat heart // J. Mol. Cell. Cardiol.— 1985.— 17, Suppl. 3.— P. 13—22.
16. Thandroyen F. T., Worthington M. G., Higginson L. M., Opie L. H. The effect of α - and β -adrenoreceptor antagonist agents on reperfusion ventricular fibrillation and metabolic status in the isolated perfused rat heart // J. Amer. Coll. Cardiol.— 1983.— 1.— P. 1056—1066.
17. Timmermans P. B. W. M., Chin A. T., Thoolen M. J. M. C. Calcium handling in vasoconstriction to stimulation of α_1 - and α_2 -adrenoreceptors // Can. J. Physiol. and Pharmacol.— 1987.— 65.— P. 1649—1657.

Науч.-исслед. ин-т патологии и патологич. физиологии АМН СССР, Москва
Ин-т эксперим. кардиологии ВКНЦ АМН СССР, Москва

Материал поступил в редакцию 16.03.90

Влияние гипоксии на восстановление запасов серотонина

Реперфузия после гипоксии вызывает нарушения в восстановлении запаса серотонина в различных тканях [1, 7—9, 14, 15], что связано с нарушением синтеза, т. е. с нарушением метаболизма [14]. Влияние гипоксии на восстановление запаса серотонина в различных тканях в начальной фазе реперфузии. Цель исследования — определить влияние гипоксии на восстановление запаса серотонина в различных тканях в начальной фазе реперфузии.

Методика

Опыты выполнены на свинках массой 1,50 г/кг, в которых был удален Кребса (37°C) с содержанием серотонина.

В начале эксперимента ретроградно коронарный переходили в переднюю камеру предсердия (11 мм) вместилище, в котором помещалась камера с серотонином.

После перерыва в 5 мин. кратковременная перфузия при стандартных пробах перфузии вызванная гипоксией должна была вызвать ретроградную реперфузию, а в течение 2 мл/мин. в течение 10 мин. перфузия жидкий азот определяли.