УДК 612.172

Казьмін С.Г., Дудка С.Б.

Взаємодія інотропного впливу норадреналіну та ацетилхоліну на міокард морської свинки

В опытах на препаратах миокарда морской свинки исследовано взаимодействие инотропных эффектов различных доз норадреналина (НА, от 10^{-7} до 10^{-5} моль/л) и ацетилхолина (АХ, от 10^{-8} до 10^{-6} моль/л). С увеличением концентрации НА отрицательное влияние АХ на инотропное действие НА сменяется положительным. Показано существование оптимальных концентраций НА и АХ для проявления отрицательного влияния АХ на адренергический инотропный эффект (в данных экспериментах — 3×10^{-7} моль/л для обоих воздействий). Снижение частоты сокращений способствует проявлению отрицательного влияния АХ на эффект НА и, соответственно, положительного влияния адренергической стимуляции миокарда на инотропный эффект АХ. Такой тип взаимозависимости кардинальных эффектов холин- и адренергических воздействий предложено обозначать термином «отрицательно акцентуированный антагонизм» в отличие от противоположного ему типа холиноадренергического взаимодействия, «положительно акцентуированного антагонизма», при котором АХ повышает инотропный эффект адренергической стимуляции миокарда, а адренергические положительные инотропные воздействия снижают эффект АХ.

Вступ

В дослідах на ізольованому серці морської свинки вперше Vincent та Ellis у 1959 р. виявили, що ацетилхолін (АХ) блокує інотропну дію адреноліну. В наступних дослідженнях головним чином на собаках одержані свідоцтва того, що стимуляція блукаючих нервів зменшує інотропний ефект стимуляції симпатичних нервів, а адренергічні впливи збільшують інотропну дію АХ та блукаючих нервів [3, 8, 16 та ін.]. Такий взаємозв'язок ефектів стимуляції вегетативних нервів, холін- та адренергічних впливів був названий Levi [6] акцентованим антагонізмом, і до тепер не скінчається потік робіт, присвячених з'ясуванню молекулярних механізмів цього явища [1, 4, 17 та ін.]. Разом з тим аналіз експериментальних даних, наведених у цих роботах, показує, що феноменологія взаємодії холін- та адренергічних впливів на міокард не вичерпується акцентованим антагонізмом, можна спостерігати і прямо протилежний характер взаємодії двох основних механізмів регуляції функції міокарда, коли ефективність холінергічних впливів зменшується на фоні адренергічної стимуляції міокарда, а адренергічні інотропні ефекти посилюються на фоні дії холінергічних [9, 10, 11, 15]. Аналіз ефектів фізіологічної рефлекторної коактивації симпатичного та парасимпатичного механізмів регуляції серцевої діяльності [5] вказує на те, що приріст насосної функції серця за умов сумісної стимуляції обох регуляторних механізмів може значно перевищувати ефект самої симпатичної регуляції. А це означає, що взаємодія холін- та адренергічних впливів на серце, протилежна описаній Levi [6], може приймати участь у фізіологічній регуляції серцевої діяльності.

Однією з причин зникнення і навіть інверсії акцентованого антагонізму холін- та адренергічних впливів на міокард, судячи з даних деяких робіт

© КАЗЬМІН С.Г., ДУДКА С.Б., 1992

[9, 10, 11], може бути залежність характеру взаємодії цих впливів від їх дози, у зв'язку з чим ми досліджували залежність взаємозв'язку інотропної дії на ізольовані препарати міокарда морської свинки норадреналіну (НА) та АХ від їх концентрації у суперфузаті.

Методика

У дорослих морських свинок масою 350-400 г під уретановим (140-160 мг/100 г, внутрішньочеревино) наркозом виймали серце, промивали його оксигенованим розчином Кребса — Хензелейта, відсікали вентральні ділянки вушок правого та лівого передсердь або папілярного м'яза правого та лівого шлуночків. Препарати міокарда фіксували шовковими лігатурами між мікрогвинтами та датчиками сили (механотрони типу 6МХІС з послідовною пружиною, що забезпечувала ізометричний режим скорочення препаратів) у термостатованій при 25 °С проточній (20 мл/хв) камері. Після попереднього розтягування препаратів, 1,5 - 2-годинної стимуляції частотою 0,5 Гц і напругою на платинових електродах 1,5 порогової, додатково розтягували препарати до 93-95 % оптимальної довжини. Ефекти НА та АХ оцінювали за відносними (%) змінами сили, що розвивали препарати міокарда. Залежність «доза—ефект» для НА та АХ одержували при їх суперфузії у зростаючих концентраціях: від 10^{-7} до 10^{-5} моль/л та від 10^{-8} до 10^{-6} моль/л відповідно. Для оцінки ефектів їх сумісної дії АХ у зростаючих концентраціях суперфузували на фоні стійкої реакції на НА. В деяких дослідах змінювали також і міжімпульсний інтервал електростимуляції від 2,0 до 0,66 с на фоні стійкої дії АХ та НА. Вимірювання провадили при досягненні стійкої реакції. Статистичній обробці були піддані результати 6 та 8 дослідів на папілярних м'язах лівого та правого шлуночків та по 8 дослідів на полосках лівого та правого передсердь. Відміну від контрольних значень за критерієм t Стьюдента приймали достовірною при $P<0,05$.

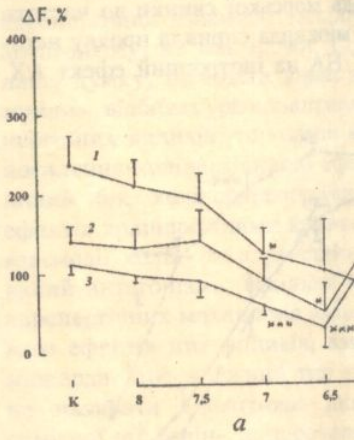
Результати

На мал. 1 представлені залежності ефектів малої (*а*) та великої (*б*) концентрації НА ($3*10^{-7}$ та 10^{-5} моль/л відповідно) від концентрації АХ. Щоб одержати ефекти НА, представлені -7 та 10^{-5} моль/л відповідно) від концентрації АХ. Щоб одержати ефекти НА, представлені на цих графіках, порівнювали значення скоротливої активності міокарда при сумісній дії даної концентрації НА і різних — АХ, та при дії на міокард тільки АХ. Різницю між першими та другими значеннями скоротливої активності міокарда виражали у відсотках приросту сили. Три графіка на кожному з малюнків одержані при різних періодах електростимуляції препаратів міокарда — 2,1 та 0,66 с. Якщо ефекти малої концентрації НА знижувалися на фоні дії АХ (див. мал. 1, *а*), то ефекти великої — зростали (див. мал. 1, *б*). Якщо графіки на мал. 1, *а* мають особливу точку (мінімум) при $3*10^{-7}$ моль/л АХ (для періодів 1 та 0,66 с), то залежності на мал. 1, *б* — монотонно зростаючі.

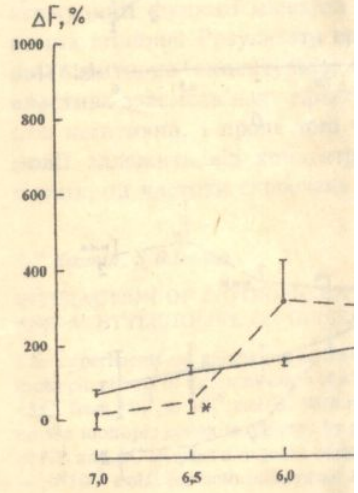
Принципово різну залежність ефектів різнщі концентрації НА від АХ ілюструє і мал. 2. На ньому порівнюються залежності «доза — ефект» НА, що відбивають інотропну дію НА перед та на фоні дії АХ в концентрації $3*10^{-7}$ моль/л. Видно, що за мірою зростання концентрації НА його ефект під впливом АХ спочатку знижується, а потім підвищується. Ці та наступні (мал. 3) залежності одержані при стимуляції препаратів через 0,8 с.

На мал. 3 представлені залежності «доза — ефект» АХ перед та на фоні дії НА у двох концентраціях — $3*10^{-7}$ та 10^{-5} моль/л. Реакція препаратів

міокарда усіх відділів серця —
ночків (*в* та *г*) — однотипова:
дія АХ зменшується (аж до і
правого шлуночка). Мала ко
збільшення ефекту АХ.



а

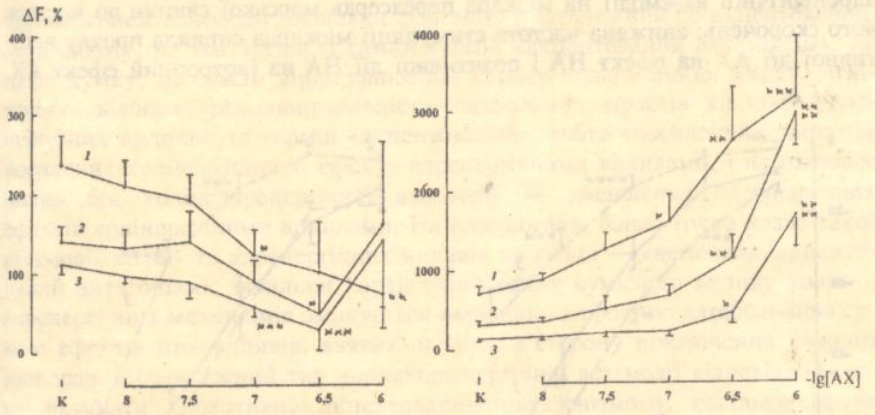


На мал. 3, *б* цей ефект не сп
ляції він добре виявляється
імпульсному інтервалі 2 с еф
моль/л на фоні $3*10^{-7}$ моль/л
-45±8, -70±4 та -84 %±4 % ко
і НА від частоти стимуляції
мал. 1,*а*: тільки при стимуляц
НА під впливом 10^{-6} моль/л

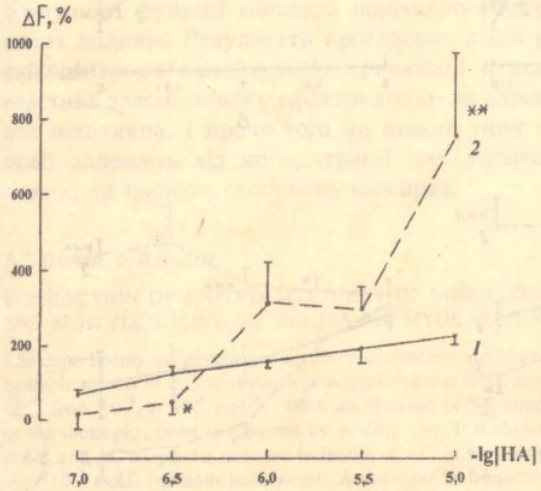
Обговорення

Одержані результати демонс
холінергічних інотропних ефе
центрації адреноміметика: з
гативний вплив АХ на його е
чином, існує оптимальна

міокарда усіх відділів серця — правого та лівого передсердь (*а* та *б*) і шлуночків (*в* та *г*) — однотипова: на фоні 10^{-5} моль/л НА негативна інотропна дія АХ зменшується (аж до інверсії у досліджуваних папілярних м'язах правого шлуночка). Мала концентрація НА ($3*10^{-7}$ моль/л) викликає збільшення ефекту АХ.



Мал. 1. Відносний (%) приріст (*) сили (*F*), що розвивають препарати міокарда правого передсердя, під впливом суперфузії $3*10^{-7}$ моль/л (*а*) та 10^{-5} моль/л (*б*) норадреналіну перед (К) та на фоні дії ацетилхоліну (-lg[АХ]) за умов електростимуляції, період якої складає 2,0 с (*1*), 1,0 с (*2*) та 0,66 с (*3*). *Зірочки* вказують на зміни ефектів НА зі значенням Р меншим, ніж 0,05; 0,02; 0,01 та 0,001 відповідно числу зірочок.



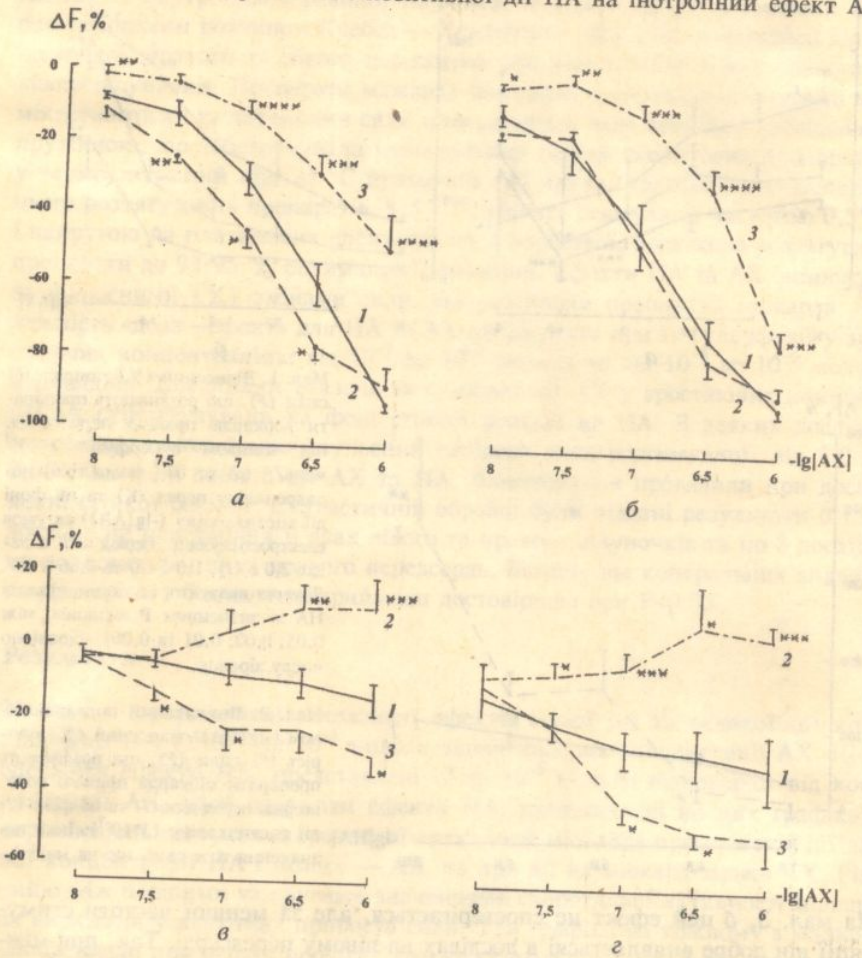
Мал. 2. Викликаний норадреналіном (-lg[НА]) відносний (%) приріст (*) сили (*F*), що розвивають препарати міокарда правого передсердя, перед дією (*1*) та на фоні (*2*) дії ацетилхоліну ($3*10^{-7}$). Інші позначення ті ж самі, що на мал. 1.

На мал. 3, *б* цей ефект не спостерігається, але за меншої частоти стимуляції він добре виявляєтьсяі в дослідах на лівому передсерді. Так, при міжімпульсному інтервалі 2 с ефекти АХ в концентраціях 10^{-7}, $3*10^{-7}$ та 10^{-6} моль/л на фоні $3*10^{-7}$ моль/л НА складали -64±5, -91±2 та -97 %±1 % при -45±8, -70±4 та -84 %±4 % контрольних (без НА). Залежність взаємодії АХ і НА від частоти стимуляції препаратів міокарда можна побачити і на мал. 1,*а*: тільки при стимуляції з періодом 2 с спостерігається зниження дії НА під впливом 10^{-6} моль/л АХ.

Обговорення

Одержані результати демонструють те, що взаємна залежність адрен- і холінергічних інотропних ефектів може змінювати свій знак при зміні концентрації адреноміметика: з підвищенням концентрації НА з'являється негативний вплив АХ на його ефект, який змінюється на позитивний. Таким чином, існує оптимальна концентрація НА для холіноадренергічної

взаємодії першого типу, в наших дослідах вона складала $3*10^{-7}$ моль/л (див. мал. 2). Залежності характеру холіноадренергічної взаємодії від АХ не спостерігалося за винятком існування оптимальної концентрації АХ для його негативної дії на ефект малої концентрації НА. За умов наших дослідів вона складала $3*10^{-7}$ моль/л. Виявлена чутливість характеру холіноадренергічної взаємодії на міокард передсердь морської свинки до частоти його скорочень: знижена частота стимуляції міокарда сприяла прояву негативної дії АХ на ефект НА і позитивної дії НА на інотропний ефект АХ.



Мал. 3. Відносні (%) зміни сили (*F*), що розвивають препарати міокарда правого і лівого передсердь (*а, б* відповідно) та правого і лівого шлуночків (відповідно) за умов дії ацетилхоліну (-lg[AX]) перед дією (*1*) та на фоні дії $3*10^{-7}$ моль/л (*3*) норадреналіну. Решта позначень, як на мал. 1.

Таким чином, при підвищенні частоти скорочень серця та рівня адренергічних впливів на міокард, тобто при ситуаціях стресу, недостатності кровообігу, артеріальній гіпотензії, створюються умови для позитивної дії парасимпатичної нервової системи на адренергічну стимуляцію міокарда. При цьому сам інотропний ефект блукаючих нервів може стати позитивним, що може, на нашу думку, деякою мірою обумовлювати виражений кардіостимулюючий ефект фізіологічної коактивації симпатичних та парасимпатичнних механізмів регуляції серцевої діяльності [5].

Появу позитивного інотропного ефекту АХ (в дослідах на папілярних м'язах правого шлуночка на фоні 10^{-5} НА при суперфузії $3*10^{-7}$ — 10^{-6}

моль/л АХ він досягав +15-17
фосфатиділінозитолу, оскільк
но більших концентраціях М
холін- та адренергічних впли
про її молекулярні механізм
гічної дії АХ [1, 4, 17 та ін.
адренергічної взаємодії, оскіл
антагонізму, не має назви, і
нашу думку, не зовсім вірно
гонізм» відбиває різнонапра
нергічних впливів, то термін
посилення холінергічногоо еф
інший бік холіноадренергічн
ефектів холінергічними впли
взаємодії холін- та адренергіч
ваний антагонізм», оскільки
адренергічних механізмів змі
мою ефектів цих впливів, вз
міокарда. Протилежний тип
на називати «позитивно ак
сумісної дії холін- та адренер
стимуляції функції міокарда
ремих впливів. Результати п
що позитивна акцентуація,
властива взаємозв'язку ефект
ніж негативна, і прояв того
модії залежить від концентр
гічних, та частоти скорочень

S.T.Kazmin, S.B.Dudka

INTERACTION OF INOTROPIC EFF
AND ACETYLCHOLINE ON GUINEA

The experiments on guinea pig myocar
inotropic effects of different doses of no
(AC, from 10^{-8} to 10^{-6} mol/l). With a
on the inotropic action is replaced by p
of NE and AC to exert a negative influe
— $3*10^{-7}$ mol/l for both influences). A
and positive influence of adrenergic my
Such a type of relation of cardial effe
designated by term «negatively accentu
nergic interaction — «positive accentua
of adrenergic myocardium stimulation,
effect.

A.A.Bogomoletz Institute of Physiology
Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Fleming G.W., Watanabe A.M.* Bioc
function // The Heart Cardiovascu
1986. — P. 1679-1688.
2. *Hawthorne J.N., Simmonds S.H.*
heart: the role of the phosphoinosi
№2. — P. 187-189.
3. *Hollenberg M., Carriere S., Ba*
myocardium // Circ. Res. — 1965

моль/л АХ він досягав +15-17 %) можна пояснити активацією метаболізму фосфатиділінозитолу, оскільки така активація виявляється тільки при значно більших концентраціях М-холіноміметиків [2]. Такий ефект взаємодії холін- та адренергічних впливів на серце не вкладається в сучасні уявлення про її молекулярні механізми, які орієнтовані на пояснення антиадренергічної дії АХ [1, 4, 17 та ін.]. Перегляду потребує і термінологія холіноадренергічної взаємодії, оскільки феномен, протилежний до акцентованого антагонізму, не має назви, і самий термін «акцентований антагонізм», на нашу думку, не зовсім вірно відповідає своєму призначенню. Якщо «антагонізм» відбиває різнонаправленість кардіальних ефектів холін- і адренергічних впливів, то термін «акцентований», тобто «посилений», виражає посилення холінергічногоо ефекту адренергічними впливами, і не охоплює інший бік холіноадренергічної взаємодії — зменшення адренергічних ефектів холінергічними впливами. На наш погляд, більш точна назва такої взаємодії холін- та адренергічних впливів на серце — «негативно акцентований антагонізм», оскільки кардіальний ефект сумісного впливу холін- і адренергічних механізмів змішується порівняно з простою алгебраічною сумою ефектів цих впливів, взятих окремо, в сторону пригнічення функції міокарда. Протилежний тип холіноадренергічної взаємодії відповідно можна називати «позитивно акцентованим антагонізмом», оскільки ефект сумісної дії холін- та адренергічних впливів на серце зміщується в сторону стимуляції функції міокарда порівняно з алгебраічною сумою ефектів окремих впливів. Результати проведених в цій роботі досліджень показують, що позитивна акцентуація, принаймні в експерименті, може бути більш властива взаємозв'язку ефектів холін- та адренергічних впливів на міокард, ніж негативна, і прояв того чи іншого типу холін- та адренергічної взаємодії залежить від концентрації цих впливів, головним чином адренергічних, та частоти скорочень міокарда.

S.T.Kazmin, S.B.Dudka

INTERACTION OF INOTROPIC EFFECT OF NOREPINEPHRINE AND ACETYLCHOLINE ON GUINEA PIG MYOCARDIUM

The experiments on guinea pig myocardium slices have been carried out to study the interaction of inotropic effects of different doses of norepinephrine (NE, from 10^{-7} to 10^{-5} mol/l) and acetylcholine (AC, from 10^{-8} to 10^{-6} mol/l). With an increase of NE concentration the negative influence of AC on the inotropic action is replaced by positive one. It is shown that there are optimal concentrations of NE and AC to exert a negative influence of AC on adrenergic inotropic effect (in these experiments — $3*10^{-7}$ mol/l for both influences). A decrease in frequency of conntractions of AC on NE effect and positive influence of adrenergic myocardium stimulation on inotropic effect of AC, respectively. Such a type of relation of cardial effects of choline- and andrenergic influenves is suggested to be designated by term «negatively accentuative antagonism» unlike the opposite type of choline-adrenergic interaction — «positive accentuative antagonism», under which AC increases inotropic effect of adrenergic myocardium stimulation, while adrenergic positive inotropic influences decrease AC effect.

A.A.Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Fleming G.W., Watanabe A.M.* Biochemical mechanisms of parasympathetic regulation of cardiac function // The Heart Cardiovascular System / Ed. H.A. Fozzard. — New York: Raven press, 1986. — P. 1679-1688.
2. *Hawthorne J.N., Simmonds S.H.* Second messenger involved in the muscarinic control of the heart: the role of the phosphoinositide response // Mol. and Cell. Biochemistry. — 1989. —89, №2. — P. 187-189.
3. *Hollenberg M., Carriere S., Barger A.C.* Biphasic astion of acetilcholine on ventricular myocardium // Circ. Res. — 1965. —16, № 6. — P. 527-536.

4. *Kim D.* **-Adrenergetic regulation via cyclic AMP-dependent protein kinase in atrial cells // Ibid. — 1990. —69, № 5. — P. 1292-1298..
5. *Koizumi K., Terui N., Kallai M., McC. Brooks Ch.* Functional significance of coactivation of vagal and sympathetic cardiac nerves // Proc. Natl. Acad. Sci. USA — 1982. —79, № 6. — P. 2116-2120.
6. *Levy M.N.* Sympathetic and parasympathet ic interactions in the heart // Circ. Res. — 1971. —29, № 5. — P. 437-445.
7. *Levy M.N., Martin M., Zieske H.* Sympathetic and parasympathetic interactions upon the left ventricle of the dog // Ibid. — 1966. — 19, № 1. — P. 5-10.
8. *Levy M.N., Zieske H.* Effect of enchanced contractility on the left ventricular response to vagus nerve stimulation in dogs // Ibid. — 1969. — 24, № 3. — P. 303-311.
9. *Linden J., Hollen C.E., Patel A.* The mechanism by which adensine and cholinergic agents reduce contractility in rat myocardium. Correlation with cyclic adenosine monophosphate and receptor densities // Ibid. — 1985. — 56, — P. 728-735.
10. *MacLeod K.M.* Adrenergic-cholinergic interactions in left atria: Interaction of carbachol with alpha- and beta-adrenoreceptor agonists // Can. J. Physiol. and Pharmacol. — 1986. — 64, № 5. — P. 597-601.
11. *MacLeod K.M.* Adrenergic-cholinergic interactions in left atria II. Comparison of the antagonism of inotropic responses to alpha- and beta-adrenoreceptor stimulation and BAY K 8644 by carbachole, D-600 and nifedipine // Ibid. — 1987. — 65, № 10. — P. 2059-2064.
12. *Pfaffendorf M.* The sensitivity of guinea-pig atria to oxotremorine at different states of contractility // Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. — 1989. — 339, Suppl. — P. 84.
13. *Stanton H.C., Vick R.L.* Cholinergic and adrenergic influences on right ventricular myocardial contractilily in the dog // Arch. Int. pharmacodyn. et ther. — 1968. — 176, № 1. — P. 233-248.
14. *Watson J.M., Vegel S.M., Cotterell D.J.,, Dubocovich M.L.* Cholinergic antagonism of **-adrenergic stimulated action potentials and adenilate cyclase activity in rabbit ventricular cardiomyocytes // Eur. J. Pharmacol. — 1988. — 155, № 1/2. — P. 101-108.

Ін-т фізіології ім. О.О.Богомольця
АН України, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 10.04.92

УДК 612.015.12:616.152.2.1

М.М.Середенко, І.І.Антонова, С.Б.Коваль

Стан лізосомального апарату деяких тканин організму за умов гіпоксії, викликаної крововтратою

В опытах на 40 крысах-самцах линии Вистар при острой циркуляторно-гемической гипоксии, вызванной кровопотерей, составляющей 15-20 % объема циркулирующей крови, изучали состояние лизосомального аппарата тканей печени и легких по изменению активности маркерного фермента лизосом — кислой фосфатазы. Установлено, что при такой кровопотере общая активность кислой фосфатазы уменьшалась в ткани печени на 37 %, а в ткани легких — на 41 %, свободная — увеличивалась на 30 и 25 %, связанная — уменьшалась на 84 и 70 % в гомогенатах соответствующих тканей. При этом активность данного лизосомального фермента возрастала в плазме крови в 5 раз по сравнению с контролем. Сделан вывод о влиянии гипоксии, возникающей при кровопотере, на мембранные структуры лизосомального апарата клеток органов и тканей (как можно судить по примеру печени и легких), выражающемся в повышении проницаемости мембран лизосом и приводящем к резкому возрастанию ферментемии кислой фосфатазы в плазме крови.

© М.М.СЕРЕДЕНКО, І.І.АНТОНОВА, С.Б.КОВАЛЬ 1992

Вступ

На сьогодні вважається експ
тованим феноменом активног
клітин організму у компенса
різних ієрархічних рівнях ці
та тривалості діючого факто
ферментного складу, тобто
ших реагують на різного ви
сальною і носить неспецифіч
ряд із неспецифічним компо
відна реакція лізосомального
тільки для даного типу дію
значною мірою обумовлює
чить, і зовнішнє їх проявле
шається для ряду дослідників

Виходячи з цього, можна
стану організму одним із на
лярних змін, які відбуваютьс
проникності мембран лізосом
у цитоплазму та наступний
різного походження були в
ферментів [6, 17], однак за
лізосо́м і стан їх мембранни
вміст ферментів у плазмі кр

У зв'язку з цим метою на
ного стану мембранних стру
легень як найбільш реактивн
гіпоксії, викликаної експери

Методика

Експерименти проведені на 4
Тварин наркотизували хлора
50 мг уретану на 100 г маси
торно-гемічну гіпоксію викли
катетеризовану загальну сон
від об'єму циркулюючої кр
кисневої недостатності органі
нинна гіпоксія [11]. Після де
легені і промивали охолодже
0,25 моль/л; pH 7,4). Гомог
тканину у розчині (0,25 моль
фері (0,01 моль/л; pH 7,4), в
KCl [19], у співвідношенні 1

Функціональний стан мем
нювали так, як і інші автор
(КФ 3.1.3.2) — лізосомально
ваним методом Боданського
фосфат фірми «Merck», з яки
із другими субстратами [1, 2
начали у гомогенатах ткани
інкубації з тритоном X-100
0,2 % на протязі 30 хв при 4