

Р. А. ГЕВОРКЯН, С. Б. БАРИНЯН, Л. И. КАЗАК, И. С. ЧЕКМАН,
С. С. ОГАНЕСЯН

О МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМАХ ДЕЙСТВИЯ ВАЗОДИЛЯТАТОРОВ

Ведущее место в терапии гипертонической болезни и коронарной недостаточности принадлежит нейротропным и миотропным гипотензивным и антиангинальным средствам. Ранее нами показаны особенности влияния вазодилататоров на энергетический и электролитный обмен миокарда, на деятельность сердца и центральную гемодинамику без и в условиях блокады адренорецепторов [3, 4]. Роль адренорецепторов в механизме действия этих соединений на миокард остается невыясненной.

В настоящей работе была использована культура клеток эмбрионального миокарда, позволяющая выяснить непосредственное действие указанных препаратов на функцию клеток и клеточных структур [1, 2, 11], а также Ca^{2+} -связывающий белковый комплекс мышц тропонин-тропомиозин (ТН-ТМ) в качестве модели адренорецептора [15, 16].

Материал и методика. Опыты проведены *in vitro* на 100 спонтанно сокращающихся клеточных кластерах, полученных из миокарда 5—8-дневных куриных эмбрионов [12] с записью параметров сокращений клеток методом фотоэлектрической регистрации [1, 6]. Было изучено влияние дибазола, но-шпы, папаверина гидрохлорида, нитроглицерина на сократимость клеток миокарда как в условиях блокады β -адренорецепторов анаприлином, так и без нее.

Тропонин-тропомиозиновый комплекс выделяли из скелетных мышц 30 крыс [10]. Исследуемые вещества (дибазол в концентрации $2 \cdot 10^{-8}$ — $2 \cdot 10^{-6}$ М, нитроглицерин— $4,4 \cdot 10^{-6}$ М, но-шпа— $5 \cdot 10^{-6}$ М, папаверин гидрохлорид— $5 \cdot 10^{-6}$ М) инкубировали в течение 20 мин. при комнатной температуре с белком, растворенным в буфере, содержащем 0,6 М КСl, 1 мМ NaHCO_3 и β -меркаптоэтанол, рН 7,4. На спектрофлуорографе «Фарранд» регистрировали люминесценцию проб, содержащих белок с испытуемым веществом, а также проб, содержащих только вазодилататоры.

Результаты и обсуждение. Было установлено, что дибазол в концентрации $2 \cdot 10^{-6}$ М, но-шпа— $5 \cdot 10^{-6}$ М, папаверин гидрохлорид— $5 \cdot 10^{-6}$ М в течение 1—5 мин. вызывали отрицательно инотропный эффект,

снижая амплитуду сокращения клеток миокарда на $27 \pm 3,7$; $28 \pm 2,3$ и $26 \pm 2,0\%$ соответственно. Дибазол не изменял ритма сокращений клеток, в то же время но-шпа и папаверин на 5-й мин. снижали частоту сокращения на 29 ± 5 и $30,0 \pm 5\%$ соответственно. Отрицательно инотропное действие папаверина оказывал и на изолированные желудочки сердца морской свинки, что, по-видимому, объясняется блокадой кальциевых токов [17] и нарушением электромеханического сопряжения [7]. Однако в этом отношении литературные сведения противоречивы. Согласно [18], папаверин, ингибируя фосфодиэстеразу и повышая тем самым уровень цАМФ [14], оказывает положительно инотропное действие. В то же время папаверин в высоких концентрациях, блокируя трансмембранный Ca^{+2} ток, проявляет отрицательно инотропный эффект [17].

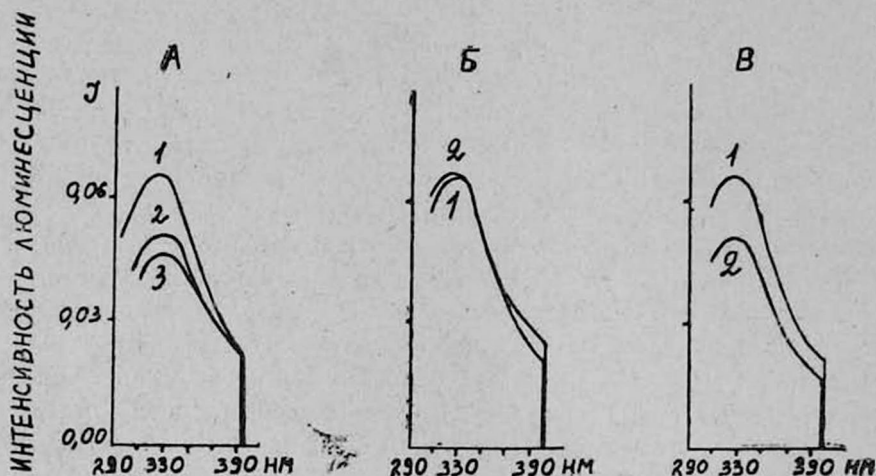


Рис. 1. Спектр люминесценции комплекса ТН-ТМ при его инкубировании с вазодилаторами. А 1—ТН-ТМ; 2—ТН-ТМ+папаверин; 3—ТН-ТМ+но-шпа. Б 1—ТН-ТМ; 2—ТН-ТМ+дибазол. В 1—ТН-ТМ; 2—ТН-ТМ+нитроглицерин.

Нитроглицерин в отличие от остальных препаратов почти не изменяя амплитуду сокращений миоцитов в культуре, уже на 1-й минуте вызывал учащение ритма на $24 \pm 3,4$ и замедление фазы расслабления на $10,5 \pm 0,9\%$. Наличие у нитроглицерина кардиостимулирующих свойств не вызывает сомнений [8, 13]. Однако при изучении механизма кардиостимулирующего действия были получены неоднозначные результаты. Показано [8], что нитроглицерин усиливает сократительную функцию сразу после его внутривенного введения животным. Кардиостимулирующий эффект в этом случае объясняют способностью нитроглицерина угнетать активность фосфодиэстеразы, а также его непрямым симпатомиметическим свойством [5]. Согласно [13], нитроглицерин *in vitro* в зависимости от концентрации может оказывать как стимулирующее, так и угнетающее действие на сокращения миокарда. Стимулирующее влияние нитроглицерина на сократительную функцию сердца некоторые авторы объясняют повышением активности β -адренерги-

ческих структур и угнетением фосфодиэстеразы, причем положительно хронотропный эффект в основном связывают со стимуляцией β -адренергических структур сердца. В наших опытах вазодилататоры (но-шпа, нитроглицерин, дибазол и папаверин) на фоне блокады β -адренорецепторов анаприлином ($4 \cdot 10^{-6}$ М) *in vitro* в культуре миоцитов, полученных от 6-дневных эмбрионов, не изменяют характер своего действия. Хотя необходимо отметить, что анаприлин в концентрации $4 \cdot 10^{-6}$ М оказывает отрицательное хроно-инотропное действие на функцию миоцитов.

Таким образом, в реализации кардиотропного действия вазодилататоров β -адренергические структуры в этих условиях существенной роли не играют. Отметим, что в предыдущих работах [15, 16] показано, что Ca^{2+} — связывающие модуляторные белки мышц способны взаимодействовать с α - и β -адренергическими соединениями. Эти белки сходны с Ca^{2+} — регуляторными некаталитическими субъединицами цАМФ-аденилатциклазы и фосфодиэстеразы. Учитывая, что вазодилататоры могут оказывать эффект через изменение активности этих ферментов, важно было определить их действие на Ca^{2+} — связывающие белки мышц, которые могут участвовать в процессе регулирования количества внутриклеточного свободного кальция.

Таблица 1

Интенсивность люминесценции и максимума квантовой эмиссии комплекса тропонин-тропомозин при взаимодействии с вазодилататорами

Показатели	Вазодилататоры с белком				
	ТН—ТМ	ТН—ТМ+ дибазол	ТН—ТМ+ но-шпа	ТН—ТМ+ нитроглицер.	ТН—ТМ+ папаверин
Концентрации	0,26 мг/мл	$2 \cdot 10^{-8}$ М	$5 \cdot 10^{-6}$ М	$4 \cdot 10^{-6}$ М	$5 \cdot 10^{-6}$ М
Интенсивность люминесценции, отн. ед.	0,066	0,066 0,037*	0,047 0,012*	0,051 —	0,052 —
Положение максимума квантовой эмиссии, нм	323	323 287*	390 390*	323 —	330 —

* Показатели интенсивности люминесценции и максимума квантовой эмиссии вазодилататоров без белка.

Из табл. 1 видно, что из исследуемых соединений только дибазол и но-шпа обладают собственной люминесценцией: дибазол с максимумом квантовой эмиссии при 287 нм, а но-шпа — при 390 нм, что не перекрывается с максимумом квантовой эмиссии белка (323 нм). При инкубировании с белком дибазол не изменяет интенсивность и спектр люминесценции белка, а но-шпа уменьшает интенсивность люминесценции, вызывая также сдвиг максимума УФ-эмиссии в длинноволновую область с 323 до 330 нм (рис. 1).

Папаверин и нитроглицерин не обладают собственной люминесценцией. В их присутствии наблюдается снижение интенсивности люмине-

сценции белка, а папаверин, как и но-шпа, вызывает также сдвиг максимума эмиссии в длинноволновую область с 323 до 330 нм.

Можно предположить, что папаверин, но-шпа и нитроглицерин взаимодействуют с Ca^{2+} -связывающим белковым комплексом, вызывая изменение интенсивности и спектра УФ-люминесценции, вероятно, обусловленных конформационными перестройками макромолекулы белка.

Полученные результаты указывают на влияние исследуемых веществ на состояние также и других Ca^{2+} -связывающих белков, находящихся в сократительном аппарате мышц и сосудов. Это предположение подтверждается исследованиями [15, 16], в которых установлено, что папаверин и дибазол снижают АТФ-азную активность актомиозина, как нативного, так и десенситизированного (т. е. лишённого тропонин-тропомиозинового комплекса). Следовательно, по своему действию на Ca^{2+} -регулируемую Mg^{2+} -зависимую АТФ-азу, эти соединения отличаются от β -адренергических агентов, которые активируют АТФ-азу нативного актомиозина, не действуя на десенситизированный актомиозин [15].

На основании этих данных можно допустить, что исследованные нами сосудорасширяющие средства обладают прямым кардиоактивным действием, сходным с их эффектом на целом животном. Ни в целостном организме, ни в условиях культуры миоцитов *in vitro* в реализации эффекта вазодилаторов функциональное изменение состояния β -адренорецепторов, по-видимому, роли не играет.

Институт кардиологии МЗ Арм. ССР,
им. Л. А. Оганесяна

Поступила 24/VI 1981 г.

Ռ. Ա. ԳԵՎՈՐԿՅԱՆ, Ս. Բ. ԲԱՐԻՆԻԱՆ, Լ. Ի. ԿԱԶԱԿ,
Ի. Ս. ՉԵԿՄԱՆ, Ս. Ս. ՀՈՎԱՆԵՍԻԱՆ

ՎԱԶՈԴԻԼԱՏՈՐԱՏՈՐՆԵՐԻ ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՐ-ԲԶՋԱՅԻՆ ՄԵԽԱՆԻԶՄՆԵՐԻ ԳՈՐԾՈՒՆԵՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ ն փ ն լ մ

Վազոդիլատորները ուղիղ կարդիոտրոպ ազդեցություն են գործում սրտի բջիջների վրա: Նրանց գործունեության մեխանիզմում բնառ-ադրեներգիկ կառուցվածքները էական դեր չեն խաղում: Նշված միացությունները առաջացնում են մկանների տրոպոմիոզին-տրոպոնինի Ca^{2+} -կապակցող սպիտակուցային կոմպլեքսի կոնֆորմացիոն փոփոխություններ:

R. A. Gevorkian, S. B. Barinian, L. I. Kazak, I. S. Chekman,
S. S. Hovanessian

On the Molecular—Cellular Mechanisms of the Effect of Vasodilators

S u m m a r y

Vasodilators have direct cardiotropic effect on myocytes. In the mechanism of their influence β -adrenergic structures do not have a significant role. These compounds induce conformational changes of the Ca^{2+} connecting albuminous complex of the muscles' tropomyosin-troponine.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Геворкян Р. А. Автореф. канд. дисс. Ереван, 1970. 2. Геворкян Р. А. Тезисы Всесоюзного симпозиума «Теоретические и практические проблемы молекулярной кардиологии». М., 1978, 46. 3. Казак Л. И. В сб.: «Фармакология и токсикология», Киев, «Здоровье», 1980, 15, 31—34. 4. Казак Л. И., Рубинская К. И. Фармакол. и токсикол., 1980, 4, 386—389. 5. Каверина Н. В., Бендигов Э. А., Розонов Ю. Б. В кн.: «Фармакология моноаминэргических процессов», М., 1971, 195—206. 6. Карапетян А. Е., Геворкян Р. А., Манукян Г. А., Львов М. В. Бюлл. эксперим. биологии и медицины, 1969, 9, 124—125. 7. Розенштраух Л. В., Сакс В. А., Фрявичус Н. А. и др. Физiol. ж. СССР, 1979, 3, 405—413. 8. Розонов Ю. Б. Фармакол. и токсикол., 1981, 2, 174—178. 9. Andersson R. *Acta Pharmacol. (KBH)* 1973, 32, 321—336. 10. Greasser M. Gergely L. *Biol. Chem.*, 1971, 246, 4226—4233. 11. Halle W., Wollenberger A. In Book: *Methods in Pharmacology*. 1971, 1, 191—246. 12. Harary Y., Farley B. *Science*, 1960, 131, 1674—1675. 13. Korth M. *Arch. Pharmacol.*, 1975, 287, 329—347. 14. Markward-F., Hoffman F. *Biochem. Pharmacol.*, 1970, 19, 2519—2520. 15. Oganessyan S., Bartnyan S., Qevorkian R. et al. *Molec. Cell. Cardiol.*, 1978, 10, Suppl. 1, 71. 16. Oganessyan S., Garinyan S., Qevorkian R., et al. 1980, 12, Suppl. 1, 115. 17. Schneider A. Brooker L., Sperelakis W. *J. Molec. Cell. Cardiol.* 1975, 7, 11, 867—876. 18. Vaughan Williams E., Szekeres L. *Brit. J. Pharmacol.*, 1961, 17, 424—432.

УДК 612.127.2:616.12—007

Л. Ф. ШЕРДУКАЛОВА, А. С. ВАРТАНЯН, М. С. ОГАНДЖАНИЯ

ОСОБЕННОСТИ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА В УСЛОВИЯХ СРЕДНЕГОРЬЯ У ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ ГИПЕРВОЛЕМИЧЕСКИМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Большинство работ по изучению систем транспорта кислорода у практически здоровых лиц и у больных пороками сердца были проведены в условиях нормального [1, 2, 10—15] и резко пониженного барометрического давления [3, 6—9, 16, 18, 19].

Работ же по изучению закономерностей транспорта кислорода в условиях среднегорья (барометрическое давление—600—650 мм рт. ст.) мало и они носят экспериментальный характер [17, 19].

В связи с этим в настоящей работе было проведено изучение адаптационных механизмов кислородтранспортной системы (гемодыхания) в условиях среднегорья (pO_2 в атмосферном воздухе—130—135 мм рт. ст.) у практически здоровых лиц, а также состояние компенсаторных механизмов этой системы у больных дефектами перегородок сердца.

Материал и методы исследования. Методом зондирования правых отделов сердца обследовано 170 человек. Из них 120 имели гиперволемические пороки сердца: ДМПП (80) или ДМЖП (40). 50 лиц оказались практически здоровыми (контрольная группа).

У всех обследуемых в артериальной и смешанной венозной крови изучены показатели кислотно-щелочного состояния (КЩС), газового состава крови, направление и величина сдвигов кривой диссоциации окси-