

А. А. ГАЛОЯН, Н. Г. ХУМАРЯН, Л. В. ШАГИНЯН

СДВИГИ В СОДЕРЖАНИИ БЕЛКА, ОБЩЕГО И ИОНИЗИРОВАННОГО КАЛЬЦИЯ В КРОВИ ПОД ВЛИЯНИЕМ НЕЙРОГОРМОНА С

Изучали действие нейрогормона С на содержание белка, общего и ионизированного кальция в сыворотке крови крыс и кошек.

Исследования показали, что у крыс как в опытах *in vivo*, так и в опытах с обезглавливанием нейрогормон С вызывает повышение в венозной крови содержания Ca^{++} и снижение белка. В содержании общего Са, по средним данным, отмечается тенденция к увеличению. У кошек в крови, оттекающей из венозных сосудов сердца, отмечается нарастание выхода Ca^{++} и снижение количества белка.

Одним из авторов настоящей статьи [1] в составе гипоталамического нейросекрета обнаружены соединения низкомолекулярной природы, обладающие выраженным действием на сердечную деятельность, и установлен их гормональный характер. При внутривенном введении одного из этих веществ, условно названного нейрогормоном С, в дозах 600 мкЕ на кг веса животного количество крови, оттекающей из венозных сосудов сердца, сильно нарастает, достигая 200 и более процентов по сравнению с нормой [2]. Было показано, что нейрогормон С усиливает гликолиз, утилизацию пирувата и увеличивает содержание лактата в органах, и особенно в сердечной мышце [3].

Другие данные, полученные в лаборатории, показали, что в механизме действия нейрогормона С определенная роль принадлежит системе образования циклического нуклеотида (цАМФ). В связи с тем, что активность ферментов образования и распада цАМФ в большой мере обуславливается участием ионов кальция, которые в то же время играют ключевую роль в осуществлении цикла сокращение-релаксация в мышечных элементах сердца, а феномен релаксации обнаруживается и в физиологическом эффекте нейрогормона С, возникла необходимость изучить сдвиги в содержании ионов кальция в различных объектах под влиянием этого вещества.

В настоящей работе мы задались целью изучить сдвиги в содержании общего и ионизированного кальция (Ca^{++}), а также общего белка в сыворотке крови при введении нейрогормона С. Применяли нейрогормон С, отщепленный от белка-носителя.

Материал и методика. Исследования проводили на интактных крысах обоего пола весом 120—180 г и наркотизированных уретаном с хлоралозой кошках (1 г уретана и 0,1 г хлоралозы на 1 кг веса животного внутривенно). За 20 час. до опыта животных изолировали и давали только воду. Нейрогормон С крысам вводили в подключичную вену в количестве 600 мкЕ на целое животное. За единицу нейрогормона С принимаем то количество гормона, которое необходимо для ингибирования 1 МЕ фосфо-

диэстеразы ПАМФ из гомогената мозга крыс в течение 1 мин. В первой серии опытов кровь для исследований брали из той же вены до введения нейрогормона С и через 50 мин после введения. О сдвигах судили по разнице между показателями исходной пробы и пробы, взятой после введения нейрогормона. Во второй серии опытов через 50 мин после введения нейрогормона С животных обезглавливали и в течение нескольких секунд собирали кровь для анализа. Контрольной группе животных вместо нейрогормона С вводили растворитель.

В опытах на кошках (опыты ставили Р. Карапетян и Т. Попова) нейрогормон С вводили в в. femoralis в количестве 1 мЕ на животное. Для изучения артерио-сердечно-синусной разницы по содержанию кальция и белка создавали кровообращение между венозным синусом и яремной веной по методу Моравитца и Цана. Кровь брали одновременно из а. Carotis и в. Sogopagia до введения нейрогормона С и через 5 и 30 мин после его введения.

Содержание общего кальция в сыворотке крови определяли методом комплексометрического титрования по Вичеву и Каракашеву [4], содержание общего белка — по Лоурис с сотр. [5]. Количество Ca^{++} рассчитывали по формуле:

$$\text{Ca}^{++} \text{ мг\%} = \frac{6\text{Ca} - \frac{\text{Б}}{3}}{\text{Б} + 6},$$

где Б — содержание общего белка.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований, представленные на рисунке и в таблице, показали, что в большинстве опытов содержание общего Са у крыс при введении нейрогормона С, отщепленного от белка, заметно не изменяется. Отчетливое уменьшение его или уве-

Таблица 1
Влияние нейрогормона С на содержание белка, общего и ионизированного кальция в сыворотке крови крыс

Статистический показатель	В опытах in vivo n = 19			В опытах с обезглавливанием n = 20		
	Са, мэкв/л		Белок общий, %	Са, мэкв/л		Белок общий, %
	общий	ионизированный		общий	ионизированный	
M_1	6,05	2,04	10,79	5,73	2,11	9,53
$\pm m$	0,214	0,079	0,207	0,062	0,037	0,174
M_2	6,28	2,38	9,2	5,92	2,25	9,05
$\pm m$	0,262	0,104	0,265	0,108	0,037	0,139
M_{2-1}	0,23	0,34	1,59	0,19	0,14	0,48
P	>0,2	>0,01	<0,001	>0,1	>0,01	>0,02

M_1 — среднее значение до введения нейрогормона С.

M_2 — через 50 мин после введения 600 мкЕ гормона.

M_{2-1} — средняя разность.

личение по сравнению с исходным уровнем наблюдалось лишь в единичных случаях. Средние данные всех опытов выявили некоторую тенденцию к увеличению общего Са в сыворотке крови при введении нейрогормона С. Средняя разность по опытам первой серии равна 0,23 мэкв/л, она статистически недостоверна — $P > 0,2$.

По данным многих авторов, физиологически активным является Ca^{++} . Он составляет около половины общего Са, поэтому особый интерес представляло выяснение сдвигов в его уровне.

Представленные на рисунке данные показывают, что через 50 мин после введения нейрого르몬а С содержание Ca^{++} в крови крыс заметно увеличивается в пределах 10,1—42,5% по сравнению с контролем. Средняя разность равна 0,34 мэкв/л, она статистически достоверна — $P > 0,01$ (таблица).

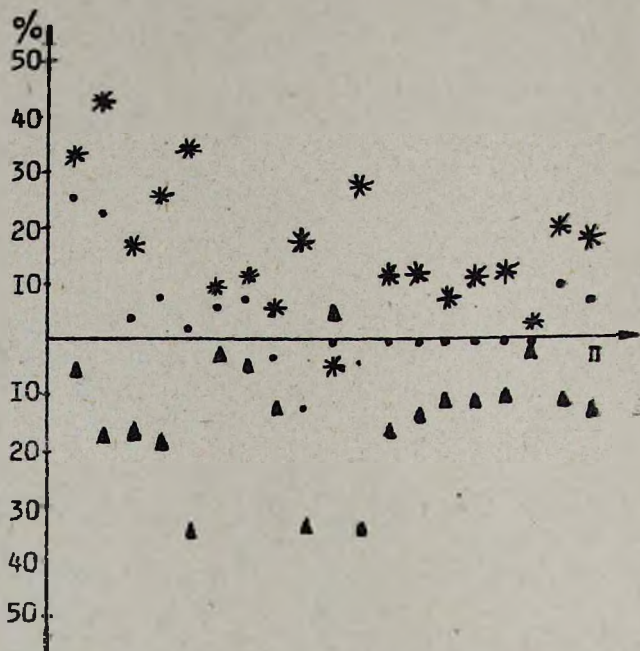


Рис. Влияние нейрого르몬а С на содержание белка, общего и ионизированного Са в сыворотке крови крыс в опытах *in vivo*. ▲—Б, ●—Са, *— Ca^{++} . Сдвиги выражены в % по отношению к исходным величинам.

Чрезвычайно интересно, что наряду с увеличением Ca^{++} в крови наблюдается отчетливое уменьшение количества общего белка на 10,9—35,0%. Средняя разность равна 1,59, $P < 0,001$. Нетрудно заметить, что сдвиги в содержании общего белка количественно более выражены, чем в содержании Ca^{++} .

Белки играют большую роль в поддержании уровня Са в крови путем образования с ним недиализирующих комплексов. Около 40—50% Са сыворотки связано с плазменными белками.

Данные табл. 1 показывают, что в серии опытов с обезглавливанием, где исключено влияние колебаний количества циркулирующей крови на содержание Са и белка в нем, введение нейрого르몬а С также приводит к достоверному увеличению Ca^{++} ($P > 0,01$) и уменьшению белка ($P > 0,02$), хотя несколько менее интенсивному, чем это наблюдалось в первой серии опытов. И в этих опытах в содержании общего Са

достоверных сдвигов не наблюдалось. Средняя разность равна 0,19 мэкв/л, $P > 0,1$.

Таким образом, установлено, что нейрогормон С оказывает влияние на содержание в крови Ca^{++} и общего белка.

Интересно было изучить влияние нейрогормона на выход Ca^{++} и белка с кровью, оттекающей от сердца.

Результаты исследований показали, что при введении нейрогормона С наступают определенные изменения в количестве Ca^{++} и белка по артерио-сердечно-синусной разнице. Наиболее отчетливым среди отмеченных сдвигов оказалось уменьшение белка в крови, оттекающей от сердца. Это наблюдалось у 4-х кошек из 5-и к 30-й мин после введения нейрогормона. Другой факт — это увеличение выделения с венозной кровью ионизированного кальция, наблюдаемое обычно уже в первые минуты действия нейрогормона и в ряде случаев продолжающееся до 30-й мин. Определенные индивидуальные различия в реакции на введение нейрогормона, по-видимому, обусловлены разным исходным уровнем состояния обмена веществ, витаминным и, в частности, электролитным балансом и многими другими причинами.

Достоин внимания, что в артериальной крови большинства животных к 30-й мин после введения нейрогормона обнаруживалось большее содержание белка, чем до его введения. Как уже указывалось выше, в опытах на крысах через 50 мин в венозной крови отчетливо уменьшалось содержание белка по сравнению с контролем, а у кошек такое же явление наблюдалось через 30 мин в крови венозных сосудов сердца.

На основании приведенного материала считаем возможным допустить, что нейрогормон С, неизвестно пока еще каким механизмом, оказывает влияние на синтез белка в органах и тканях, в результате чего к сердцу притекает большее количество белка, которое более интенсивно используется для покрытия возросших энергетических нужд его клетками; следствием этого является уменьшение белка в венозной крови подопытных животных.

В свете изучаемых вопросов представляют интерес исследования, свидетельствующие о том, что при увеличении частоты сердечных сокращений количество Ca^{++} , проникающего в мышечные клетки, возрастает [6]. Причем существует достоверная зависимость между величиной напряжения сокращающегося миокарда и степенью поглощения клетками Ca^{++} [7, 8]. Естественно думать, что увеличенное вхождение в клетку Са на каком-то этапе функционирования клетки должно обернуться увеличенным выделением его из клетки. Это справедливо в отношении Са, так как Са вызывает только однонаправленную реакцию — сокращение. Циклическая смена сокращение-расслабление в сердце обеспечивается не самим кальцием, а его быстрым транспортом из одних элементов в другие внутри клетки и из клетки во внеклеточную среду.

Считается установленным, что Са, вошедший в клетку, во время данного потенциала действия частично поступает в миофибриллы и вместе с кальцием, поступившим из цистерн саркоплазматического ретикулума (СПР), путем снятия тропониновой репрессии включает мы-

шечное сокращение, влияя на его силу. Основная часть вошедшего в клетку кальция транспортируется в цистерны СПР и вместе с кальцием, вернувшимся из миофибрилл от предыдущего сокращения, готовит стартовую площадку для следующего сокращения [9]. Значительная же часть Ca^{++} удаляется через внешнюю мембрану обратно во внеклеточную среду. В этом процессе огромная роль принадлежит СПР.

Не останавливаясь на сложных механизмах процесса сокращения-расслабления, в которых кальцию принадлежит огромная роль, укажем лишь, что немаловажное значение в транспорте Ca^{++} в сердечной мышце придается системе митохондрий [10]. В условиях интенсификации сердечной деятельности, когда количество Са, входящего в миоплазму и связавшегося с тропонином миофибрилл, увеличено, последующее удаление его в СПР и во внеклеточную среду может произойти не полностью. В этом случае митохондрии поглощают оставшийся Са, и расслабление оказывается обеспеченным. Однако увеличение Са в митохондриях приводит к снижению сопряжения окисления с фосфорилированием, т. е. образованию АТФ на единицу поглощенного O_2 , следовательно, происходит снижение эффективности работы митохондрий и сердца в целом. В наших же опытах наблюдалась интенсификация окислительного фосфорилирования под действием нейрогормона С. Можно, следовательно, думать, что определенная часть увеличенного количества Ca^{++} удаляется из клетки во внеклеточную среду при участии нейрогормона С, обеспечивая усиленную сердечную деятельность.

В отношении сдвигов в содержании белка представляют интерес исследования, свидетельствующие о том, что при увеличении сократительной функции сердца наблюдается активация синтеза белка, РНК и, по многим данным, ДНК [11]. Некоторые авторы наблюдали активацию синтеза белка и нуклеиновых кислот при увеличении сократительной функции изолированного сердца [12]. В наших опытах наблюдалось увеличение коронарного кровотока и некоторое учащение сердечных сокращений в первые 30 мин действия нейрогормона С.

Считается установленным, что процессы, совершающиеся в миокардиальной клетке, обуславливаются двусторонними связями между функцией и энергообразованием. Возросшая сократительная функция мышечной клетки влечет за собой не только интенсификацию процессов образования или использования энергии, но также активацию генетического аппарата клетки [13]. Эта активация в зависимости от степени и длительности повышения уровня физиологической функции проявляется в соответственном увеличении синтеза белка, РНК и, по многим данным, ДНК. Процесс синтеза белка в свою очередь является поставщиком структурных белков митохондрий и ферментов, обеспечивающих осуществление всех этапов преобразования энергии, необходимой для функционирования клетки сердечной мышцы.

Все сказанное дает право, пока в целом, отнести уменьшение содержания белка в венозной крови сосудов, оттекающих от сердца, и увеличение Ca^{++} за счет кардиотонического эффекта нейрогормона С.

Изучение деталей данной проблемы, как в опытах *in vivo*, так и на молекулярном уровне, наряду со сдвигами других ионов послужит методом наших дальнейших исследований.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 26.IV 1977

Ա. Ա. ԳԱԼՈՅԱՆ, Ն. Հ. ԽՈՒՄԱՐՅԱՆ, Լ. Վ. ՇԱՀԻՆՅԱՆ

ՍՊԵՏԱԿՈՒՑԻ, ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ԵՎ ԻՈՆԻԶԱՑՎԱԾ ԿԱԼՑԻՈՒՄԻ
ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԱՐՅԱՆ ՄԵՋ ՆԵՅՐՈՀՈՐՄՈՆ Շ-Ի
ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՆԵՐՔՈՒ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է Շ նեյրոհորմոնի ազդեցությունը արյան սիճուկում սպիտակուցի, ընդհանուր և իոնիզացված կալցիումի (Ca^{++}) քանակի վրա: Հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ գլխատված առնետների վեներգ արյան մեջ, ինչպես նաև *in vivo* պայմաններում, նեյրոհորմոն Շ-ն առաջացնում է Ca^{++} -ի ավելացում և սպիտակուցի քանակի նվազում: Նկատվում է ընդհանուր կալցիումի քանակի ավելացման տենդենց:

Կատոնների մոտ սրտից արտահոսվող արյան մեջ նկատվում է Ca^{++} քանակի աճ և սպիտակուցի քանակի նվազում:

Կարելի է ենթադրել, որ նեյրոհորմոն Շ-ի ազդեցությամբ Ca^{++} -ի սպիտակուցի քանակի տեղադրությունը մասնակիորեն պայմանավորված են կարդիոտոնիկ ազդիչներով:

Ըստ երևույթին նեյրոհորմոն Շ-ն ազդում է (առաջմ անհայտ մեխանիզմներով) սպիտակուցի սինթեզի վրա:

ЛИТЕРАТУРА

1. Галоян А. А. Некоторые проблемы биохимии гипоталамической регуляции, Ереван, 1965.
2. Галоян А. А. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 8, 107, 1973.
3. Галоян А. А. и Алексанян С. С. ДАН АрмССР, 8, 183, 1974.
4. Вичев Ев. и Каракашев Ат. Вопросы медицинской химии, 6, 435, 1960.
5. Lowry O. H., Rosenrough N., Farr A. and Randell R. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
6. Меерсон Ф. З. Адаптация сердца к большой нагрузке и сердечная недостаточность. М., 1975.
7. Winegrad S. Circulation, 24, 523, 1961.
8. Shanes A. M. and Bianchi R. S. J. Gen. Physiol., 43, 481, 1960.
9. Bassingthwaite G. B. and Reuter H. In: Electrical Phenomena in the Heart. W. C. De Mello (Ed.) N. Y. Acad. Press, 203, 1972.
10. Lehtinger A. L. and Carafoli E. Arch. Biochem. and Biophys., 143, 506, 1971.
11. Posner B. I., Mierzwinski L. and Fallen E. L. J. Mol. and Cell. Cardiol., 5, 221, 1973.
12. Hjalmarson A. S., Isakson O. and Kållfelt B. In: Colloque Europeen sur les surcharges cardiaques., 313, Paris, 1972.
13. Sandritter W. and Scomazzoni G. Nature, 202, 5, 1963.