

## ВЛИЯНИЕ НЕЙРОГОРМОНА «С» И ГЕКСАПЕПТИДА НА СОКРАЩЕНИЕ СЕМЯВЫНОСЯЩЕГО ПРОТОКА КРЫСЫ

Р. О. ҚАРАПЕТЯН, А. А. ГАЛОЯН

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Установлено, что нейрогормон «С» и гексапептид увеличивают сокращение семявыносящего протока, вызванное трансмуральной стимуляцией экзогенными норадреналином и фенилэфрином. Это, по-видимому, можно объяснить высвобождением норадреналина из норадренергических нейронов.

Յույն է պահել, որ նեյրոհորմոն «С»-ն և հեքսապեպտիդը ուժեղացնում են սերմնա-  
արանի կծկողականությունը, առաջացված տրանսմուրալ խթանումով, էկզոգեն  
նորադրենալինի և ֆենիլէֆրինի սպոնջոսթիմուլացիայով: Չափազանց, կարելի է  
ըստարժեք նորադրենալինի նկրտներից նորադրենալինի անջատումով:

It is determined that neurohormone «С» and hexapeptide increase contractility of vas deferens, induced by action of transmural stimulation of exogenous noradrenalin and phenylephrine. It can be probably explained by the release of noradrenalin from noradrenergic neurones.

Семявыносящий проток—нейрогормон «С»—гексапептид.

НС, выделенный нами из гипоталамуса крупного рогатого скота, является гликопептидом с сильно выраженным коронарорасширяющим свойством при внутривенном введении кошкам в опытах *in situ* [1, 2]. Нами был обнаружен также С-концевой фрагмент люлиберина—гексапептид в гипоталамусе, который также обладает коронарорасширяющим свойством [3]. Ацетилированная форма ГП в дозе  $1,5 \cdot 10^{-6}$  М оказывает более эффективное действие на сердечную деятельность [4].

В связи с этим, представляло интерес изучение влияния НС и ГП на свойство извлеченного семявыносящего протока крысы сокращаться под влиянием норадреналина, фенилэфрина и при трансмуральной стимуляции.

**Материал и методика.** Опыты проводили на белых крысах-самцах породы Вистар массой 180–200 г. Животные оглушали электрическим током и декапитировали. Извлеченный семявыносящий проток помещали в инкубационную среду объемом 10 мл, содержащую солевой раствор Тироде следующего состава (в мМ): NaCl—136,8; KCl—4,5; CaCl<sub>2</sub>—2,5; MgCl<sub>2</sub>—1; NaHCO<sub>3</sub>—11,9; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>—1; глюкоза—5,5; раствор эритроцитов—0,1; раствор O<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub> (95:5%) при 35°.

Раздражение постганглионарных симпатических нервных окончаний достигали путем трансмуральной стимуляции семявыносящего протока [5]. Для этого использовали кольцевые электроды [5, 13], импульсы на которые подавали от электрогенератора ИСЭ—0,1 с частотой 15 Гц в течение 5 сек. напряжение субмаксимальное, длительность импульсов 0,08–0,8 мсек.

Сокращения: НС—нейрогормон «С», ГП—гексапептид, НА—норадреналин, ТС—трансмуральная стимуляция, ФЭ—фенилэфрин, ФДЭ—фосфодиэстераза, P<sub>50</sub>—максимальный эффект.

Концентрацию норадреналина и фенилэфрина подбирали таким образом, чтобы величина реакции была приблизительно равна ответу на трансмуральную стимуляцию. Расчеты основных параметров адренергической реакции—константы ( $K$ ) и максимальной реакции ( $P_M$ )—производили согласно описанному методу [6, 7].

Препарат НС, выделенный из состава низкомолекулярных соединений гипоталамуса по методу Галояна [8], подвергали дальнейшей очистке путем диссоциации на глициламинированном сефадексе G-10 [9]. НС применяли в количестве 0,6 Е активности фосфоэстеразы цАМФ, растворенной в 0,1 мл дистиллированной воды. ГП использовали в количестве 0,001 мкг/мл.

**Результаты и обсуждение.** НС и ГП увеличивают чувствительность рецепторов к норадреналину и фенилэфрину в разной степени. Константа адренергической реакции семявыносящего протока после 40 мин инкубации с НС изменяется с  $1,78 \pm 0,1$  до  $1,1 \pm 0,08 \times 10^{-7}$  М г/мл, т. е. на 52,9% (табл. 1). Величина максимальной реакции возрастает с 99 до 109, а ответ трансмуральной стимуляции с 52 до 65 мм. После отмывания параметры изменяются сильнее (рис. 1, 2).

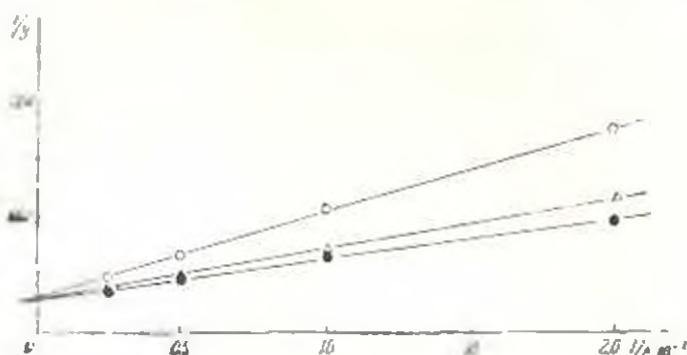


Рис. 1. Кривая зависимости эффективности действия НА от его концентрации в норме (○) на фоне действия НС (Δ) и после отмывания от НС (●). По оси абсцисс—обратное концентрации НА (1/A) по оси ординат—обратное эффективности действия НА (1/N).

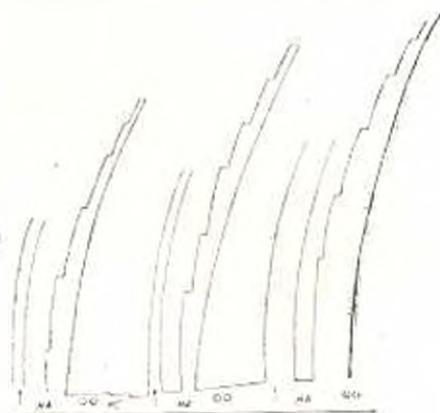


Рис. 2. Сокращения семявыносящего протока крысы на трансмуральную стимуляцию, введение НА и на фоне действия НС. Стимуляции в течение 5—10 с с частотой 15 Гц, при длительности 0,8 мсек. НА—в концентрациях 0,5x, 1,0x, 2,0x, 4,0x, 8,0x, 16,0x  $10^{-6}$  г/мл. oo—отмывка, стрелки—стимуляции.

Реакция на фенилэфрин изменяется в том же направлении, но выражена сильнее. Величина  $K$  на фенилэфрин снижается с  $33,4 \pm 15,2$

Таблица 1. Влияние ИС на сокращения семьявыносящего протока крысы, вызванные НА, ФЭ, Т/С (данные 5 опытов)

Контроль			На фоне ИС			Контроль			На фоне ИС		
Т/С мм	НА К · 10 <sup>-7</sup> г/мл	P <sub>м</sub>	Т/С мм	ИС НА К · 10 <sup>-7</sup> г/мл	P <sub>м</sub>	Т/С мм	ФЭ К · 10 <sup>-7</sup> г/мл	P <sub>м</sub>	Т/С мм	ИС ФЭ К · 10 <sup>-7</sup> г/мл	P <sub>м</sub>
52 ± 10.1	1.78 ± 0.1	99 ± 15.7	55 ± 11.5	1.1 ± 0.08	109 ± 14.2	46 ± 13.7	33.4 ± 15.2	72 ± 27.1	46 ± 14.7	15.1 ± 4.0	83 ± 26.1
			P > 0.2	P < 0.01	P < 0.5				P < 0.5	P > 0.2	P < 0.5

Таблица 2. Влияние ГП на сокращения семьявыносящего протока крысы, вызванные НА, ФЭ, и Т/С (данные 7 опытов)

Контроль			На фоне ИС			Контроль			На фоне ИС		
Т/С мм	НА К · 10 <sup>-7</sup> г/мл	P <sub>м</sub>	Т/С мм	ГП НА К · 10 <sup>-7</sup> г/мл	P <sub>м</sub>	Т/С мм	ФЭ К · 10 <sup>-7</sup> г/мл	P <sub>м</sub>	Т/С мм	ГП ФЭ К · 10 <sup>-7</sup> г/мл	P <sub>м</sub>
36 ± 5.7	9.0 ± 2.2	88 ± 10	53 ± 6.8	6.2 ± 1.9	68 ± 14	42.6 ± 9.2	8.5 ± 2.4	102.8 ± 7.3	61 ± 13	6.7 ± 2.3	106 ± 7.4
			P < 0.05	P < 0.2	P < 0.1				P < 0.1	P < 0.5	P < 0.1

до  $15,1 \pm 4,0 \times 10^{-6}$  мкг/мл, т. е. в 2 раза, а после отмывания до 8,27 мкг/мл. Величина максимальной реакции возрастает с 72 до 83, после отмывания до 105, а ответ трансмуральной стимуляции с 40 до 46 мм, после отмывания параметры изменяются незначительно (табл. 1). ГП по сравнению с НС менее чувствителен к НА и ФЭ. При этом трансмуральная стимуляция с  $36 \pm 5,7$  доходит до  $53 \pm 6,8$ . В присутствии ГП величина К на норадреналин снижается с  $9,0 \pm 2,2$  до  $6,2 \pm 1,9 \times 10^{-6}$  Мг/мл, т. е. чувствительность к НА возрастает на 31%. Величина максимальной реакции снижается с 88 до 68.

Чувствительность к фенитермину соответственно с  $8,5 \pm 2,4$  снижается до  $6,7 \pm 2,3$  мкг/мл (на 21%) (табл. 2). Ответ трансмуральной стимуляции составляет 43%. При этом изменения максимальной реакции не наблюдается.

Опыты показали, что НС и ГП усиливают сокращения семявыносящего протока, вызванные трансмуральной стимуляцией. Вместе с тем они стимулируют также и сокращения, вызванные НА и ФЭ. Это можно объяснить выделением эндогенного НА из адренергических нейронов.

Не исключена возможность действия НС и ГП и на клеточную мембрану. Это влияние приводит к повышению чувствительности построенных в мембрану рецепторов к специфическим воздействиям медиаторов и, возможно, к активации транспортных систем клеточной мембраны.

Интересно отметить, что после отмывания семявыносящего протока от НС и ГП солевым раствором не восстанавливается ни ответ на трансмуральную стимуляцию, ни чувствительность к НА и ФЭ, а, наоборот, наблюдается тенденция к усилению сокращений семявыносящего протока, который, по-видимому, трудно отмывается.

Аналогичные результаты были получены при изучении влияния НС на холин- и адреночувствительность отрезка тонкой кишки крысы [10]. Трудность при отмывании отрезков тонкой кишки и семявыносящего протока можно объяснить высокой концентрацией нейротормона, и для восстановления исходной чувствительности к медиаторам после действия нейротормона необходимо более длительное отмывание.

Одинаковое по степени повышение чувствительности семявыносящего протока и тонкой кишки свидетельствует о действии НС на какое-то общее звено, которым, вероятно, является ФДЭ, активность которой снижается под влиянием НС [11].

Таким образом, НС и ГП в разной степени увеличивают чувствительность медиаторов в отношении сокращения семявыносящего протока. Не исключена возможность, что этот эффект реализуется посредством изменения внутриклеточного уровня ионов кальция, циклических нуклеотидов. НС, по нашим данным, усиливает биосинтез дофамина и норадреналина [12].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Галоян А. А. ДАН АрмССР, 34, 3, 109—151, 1962
2. Галоян А. А., Срипшиля Р. М., Мелактев Ч. А. ДАН АрмССР, 66, 5, 302—306, 1978

3. Галоян А. А. Вопросы биохимии мозга, 13, 9—38, Ереван, 1978.
4. Галоян А. А. ДАН АрмССР, 64, 2, 116—121, 1977.
5. Авакян О. М. Фармакологические регуляция высвобождения и захвата норадреналина, Ереван, 1973.
6. Турпаев Т. М. Меднаторная функция ацетилхолина и природа холинорецепторов М., 1962.
7. Минухин Б. Н. Физиология адренорецепторов. М., 1968.
8. Галоян А. А. Патент № 403214 с приоритетом от 2 января 1968.
9. Галоян А. А., Срапионян Р. М., Карапетян Р. О., Саакян Ф. М., Саакян С. А., Сарибекян Г. А., ДАН АрмССР, 67, 3, 176—179, 1978.
10. Путинцева Т. Г., Карапетян Р. О. ДАН АрмССР, 69, 2, 119—124, 1979.
11. Галоян А. А., Гурвиц Б. Я., Логосян М. А. Вопросы биохимии мозга, 11, 89—96, Ереван, 1976.
12. Галоян А. А., Чифликян М. Д., Мурадян М. Ш., Едигарян А. К., Абрамян С. С. Нейрохимия, 5, 1, 45—48, 1986.
13. Birmingham A. T., Wilson A. B. Br. J. Pharmacol. Chemother., 11, 3, 369—580, 1967.
14. Swedin C. Acta Physiol. scand. suppl. 1, 369—375, 1971.

Поступило 6.V 1988 г.

Биолог. ж. Армении, № 2, (42), 1989

УДК 577.15.

## ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИИ АКТИВНОСТИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ КАРДИОАКТИВНЫХ НЕЙРОГОРМОНОВ «К» И «С»

К. А. ГАЛОЯН, М. А. ДАВТЯН, Р. М. СРАПИОНЯН

Институт биохимии АН АрмССР, Ереванский государственный университет

Выявлен неконкурентный тип ингибирования аргиназы нейрого르몬ами «К» и «С», что свидетельствует о связывании их с аргиназой не в каталитическом центре. Опыты по десенсибилизации аргиназы при помощи тепловой обработки выявили аллостерический механизм взаимодействия с нейрого르몬ами.

Բացակայում է «К» և «С» նեյրոհորմոնների արգինազայի ներքին ոչ մրցակցային կենտրոնի հետ կապումը և արգինազայի հետ նրանց կապակցման ժամանակ կատալիտիկ կենտրոնում ձևավորված արգինազայի դեպենսիթիզացիայի փորձերը ցուցաբերում են նեյրոհորմոնների հետ փոխազդեցության ալոստերիկ ձևակերպումը:

Incompetitive type of arginase inhibition by neurohormones «K» and «C» is revealed, which indicates their connection with arginase not in the catalytic centre. Experiments on arginase desensibilization with the help of thermal treatment show the allosteric mechanism of interaction with neurohormones.

Аргиназа—нейрого르몬ы «К» и «С»—аллостеризм.

Целью данного исследования является изучение влияния нейрого르몬ов «К» и «С» на активность коммерческой лиофилизированной арги-

Сокращения: ДЭАЭ—целлюлоза—диэтиламиноэтил—целлюлоза, ФДЭ—фосфодистетераза, ЭПФ—электронноларамагнитный резонанс.