



ВЛИЯНИЕ КАРДИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МОЗГОВОГО СЛОЯ НАДПОЧЕЧНИКОВ НА ЗАХВАТ И ВЫСВОБОЖДЕНИЕ $[^3\text{H}]$ НОРАДРЕНАЛИНА В ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ СИНАПСОМАХ

АРМЕНЯН А. Р., АРАКЕЛЯН А. Н., ПАРОНЯН Э. Х.,
АБРАМЯН С. С., СРАПИОНЯН Р. М.

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Из нейросекреторных гранул магнощеллюлярных ядер гипоталамуса ряда животных выделены пептидные нейрогормоны, которые участвуют в нейрогуморальной регуляции сердечной деятельности [1, 2]. При изучении механизма действия этих веществ было установлено важное значение надпочечников, в частности мозгового слоя, в осуществлении кардиотропного действия этих веществ. После удаления надпочечников коронарорасширяющий эффект нейрогормонов исчезает. Поисковые исследования по выяснению наличия неидентифицированных соединений в мозговом слое надпочечников крупного рогатого скота и участия их в осуществлении влияния гипоталамических нейрогормонов обнаружили два активных вещества с R_i —0,13 и 0,48 [3]. В дальнейшем было выделено еще одно кардиоактивное начало с R_i —0,35 [4]. При дополнительной хроматографии этих трех коронароактивных фракций получены 8 соединений с коронарорасширяющей активностью [5]. Неизвестно, вырабатываются эти вещества в мозговом слое надпочечников или транспортируются из гипоталамо-гипофизарной системы. Однако установлено, что эти соединения, подобно гипоталамическим нейрогормонам «С» и «Г», ингибируют активность ФДЭ сАМР [5]. Результаты наших исследований показали, что гипоталамические нейрогормоны влияют на захват и вызванное высвобождение $[^3\text{H}]$ НА в гипоталамических синапсоматах [6], что свидетельствует об участии этих соединений в механизме пресинаптической регуляции НА в гипоталамической области мозга.

В связи с этим нас интересовало влияние кардиоактивных соединений мозгового слоя надпочечников на захват и высвобождение $[^3\text{H}]$ НА в гипоталамических синапсоматах.

Синапсоматы из гипоталамической области мозга крыс получали по-

методу Hajos [7], преникубировали 5 мин при 37° под струей смеси O_2 и CO_2 (95:5), затем инкубировали в присутствии $5 \cdot 10^{-8}$ М $[^3H]HA$. Использовали Кребс-бикарбонатный буфер, pH 7,2—7,4. С целью предотвращения распада HA в буфер добавляли ипразид (0,1 мг/мл) и аскорбиновую кислоту (0,2 мг/мл). Синаптическую суспензию переносили на мембранные миллипоровые фильтры (0,6 мкм, тип DA). Высвобождение $[^3H]HA$ из синапсом изучали суперфузионным методом Raiteri и соавт. [8]. Суперфузию осуществляли со скоростью 1 мл/мин. Подробности методики исследований описаны [9]. При изучении захвата $[^3H]HA$ инкубированную с $[^3H]HA$ и кардиоактивными соединениями синаптическую суспензию ($0,84 \pm 0,073$ мг белка/мл) переносили на миллипоровые фильтры и промывали. Для вычитания неспецифического захвата проводили параллельную инкубацию синапсом при 0°. Радиоактивность суперфузионной среды и синапсом измеряли после добавления 0,5 мл этанола и 10 мл сцинтилляционной среды Брея на сцинтилляционном счетчике «Intertechnique SL-4221» (Франция). Степень высвобождения (i) рассчитывали по отношению радиоактивности суперфузионной среды к оставшейся активности синапсом. Белок определяли по методу Lowry и соавт. [10]. Использовали $[^3H]HA$ с величиной У. А. 35 Ки/мМ.

Препараты кардиоактивных соединений выделяли из состава низкомолекулярных соединений уксуснокислого экстракта мозгового слоя надпочечников крупного рогатого скота. По порядку выхода при ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-ц и гель-фильтрации через сефадекс G-10 они обозначены как I_1 , I_2 , I_3 , II, III₁, III₂, IV₁, IV₂. Мы исследовали соединения I_1 , I_3 , II, III₁ и IV₂.

За единицу активности (Е) кардиоактивных соединений принимали то количество препарата, которое ингибирует 1 мЕ ФДЭ cAMP го-могената мозга крысы за 1 мин.

Синапсомы инкубировали в присутствии $[^3H]HA$, промывали нормальным буфером и стимулировали высокими концентрациями K^+ (40 мМ). Это привело к усилению высвобождения $[^3H]HA$ из синапсом на 186% по сравнению с его базальным уровнем. При изучении влияния кардиоактивных соединений на K^+ -вызванное высвобождение $[^3H]HA$ эти вещества добавляли к синапсомам одновременно с K^+ . Исследования показали, что соединение III₁ в концентрации 5 мЕ/мл подавляет вызванное высвобождение $[^3H]HA$ из синапсом на 86%, а в концентрации 10 мЕ/мл на 46%. При пятикратном увеличении концентрации соединения III₁ (25 мЕ/мл) статистически достоверных изменений K^+ -вызванного высвобождения $[^3H]HA$ больше не наблюдается (рис. 1, а).

В следующей серии опытов синапсомы стимулировали в присутствии разных концентраций соединения II. Установили, что исследуемые концентрации этого вещества K^+ -вызванное высвобождение $[^3H]HA$ из синапсом подавляют, однако статистически достоверным оказалось влияние 10 и 25 мЕ/мл концентрации, при которых вызванное

высвобождение $[^3\text{H}]\text{НА}$ из гипоталамических синапсов блокируется на 46 и 53% соответственно (рис. 1, б).

Полученные результаты способствуют исследованию и других кардиоактивных соединений мозгового слоя надпочечников в отношении их влияния на вызванное высвобождение и захват $[^3\text{H}]\text{НА}$ в гипоталамических синапсах. Однако эксперименты показали, что соединения I_1 , I_3 и IV_2 в концентрациях 5–50 мЕ/мл не оказывают влияния на K^+ -вызванное высвобождение $[^3\text{H}]\text{НА}$ из гипоталамических синапсов. Некоторое (27%) торможение процесса вызванного высвобождения $[^3\text{H}]\text{НА}$ наблюдается в присутствии 5 мЕ/мл соединения I_3 , но эти сдвиги статистически не достоверны (рис. 2). Для ясности в рисунках не приведены все кривые используемых концентраций исследуемых кардиоактивных соединений.

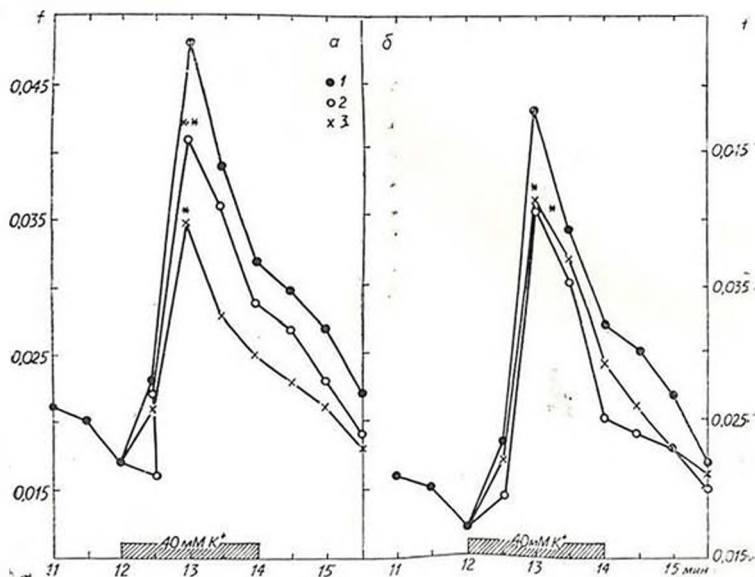


Рис. 1. Влияние кардиоактивных соединений III_1 (а) и II (б) на K^+ -вызванное высвобождение $[^3\text{H}]\text{норэдреналина}$ из гипоталамических синапсов. По оси абсцисс—время суперфузии в мин, по оси ординат—степень высвобождения $[^3\text{H}]\text{норэдреналина}$ (i); 1—контроль, 2—5 и 10 мЕ/мл соединений III_1 и II соответственно, 3—10 и 25 мЕ/мл соединений III_1 и II соответственно. $^*p < 0,005$, $^{**}p < 0,025$. Средние данные 4–6 опытов. Стандартное отклонение не более 10%.

Мы изучали также влияние всех вышеупомянутых кардиоактивных соединений на захват $[^3\text{H}]\text{НА}$ гипоталамическими синапсами. Результаты исследований показали, что все нами используемые концен-

трации кардиоактивных соединений не вызывают достоверных изменений процесса захвата $[^3\text{H}]\text{НА}$.

Таким образом, установлено, что кардиоактивные соединения мозгового слоя надпочечников II и III, в маленьких концентрациях, подобно гипоталамическому нейрогормону «С», подавляют K^+ -вызванное высвобождение $[^3\text{H}]\text{НА}$ и не действуют на его захват в гипоталамических синапсах. Для оценки физиологического значения полученных ре-

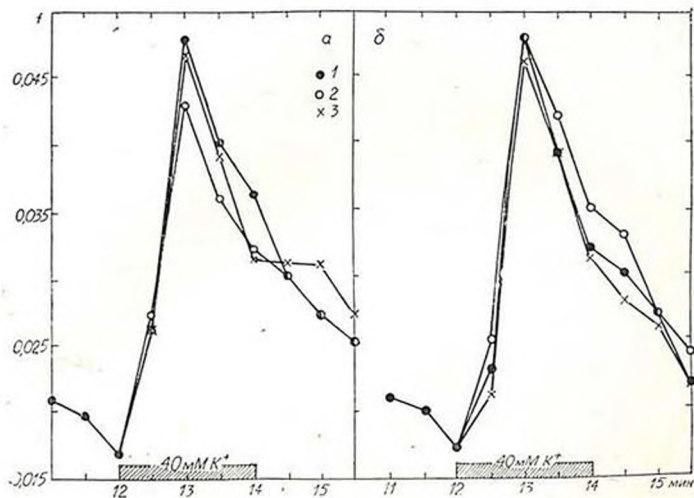


Рис. 2. Влияние кардиоактивных соединений I₃ (а) и IV₂ (б) на K^+ -вызванное высвобождение $[^3\text{H}]\text{норадреналина}$ из гипоталамических синапсов. 2—5 мЕ/мл соединений I₃ и IV₂, 3—25 мЕ/мл соединений I₃ и IV₂. Остальные обозначения те же, что на рис. 1. Средние данные 4—6 опытов. Стандартное отклонение не более 10%

зультатов необходимо изучить влияние этих кардиоактивных соединений на высвобождение и захват катехоламинов в самом мозговом слое надпочечников. Однако полученные результаты дают основание предполагать, что некоторые кардиоактивные фракции, выделенные из мозгового слоя надпочечников, которые эффективны в отношении вызванного высвобождения НА, образуются в гипоталамусе и транспортируются в надпочечник.

EFFECT OF ADRENAL GLAND MEDULLARY CARDIOACTIVE COMPOUNDS ON THE UPTAKE AND RELEASE OF ^3H -NOREPINEPHRINE IN HYPOTHALAMIC SYNAPTOSOMES

ARMENIAN A. R., ARAKELIAN L. N., PARONIAN Z. Ch.,

ABRAMIAN S. S., SRAPIONIAN R. M.

Institute of Biochemistry, Arm. SSR Academy of Sciences, Yerevan

Effect of coronary active compounds (I_1 , I_3 , II , III_1 and IV_2) isolated from the bovine adrenal medulla on the uptake and K^+ -evoked (40 mM) release of [^3H]norepinephrine ([^3H]NE) in rat hypothalamic synaptosomes has been studied. The compound II (10–25 mU/ml) and the compound III_1 (5–10 mU/ml) (added during stimulation) reduced the K^+ -evoked release of [^3H]NE from synaptosomes. Compounds I_2 , I_3 and IV_2 (5–50 mU/ml) had no effect on this process. All of the compounds tested exerted no effect on the uptake of [^3H]NE by hypothalamic synaptosomes.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галоян А. А. Докл. АН АрмССР, т. 34, с. 109–111, 1962.
2. Галоян А. А. Вопр. биохимии мозга, т. 3, с. 291–312. Ереван, Изд-во АН АрмССР, 1967.
3. Галоян А. А., Срапионян Р. М., Саакян С. А. Докл. АН АрмССР, т. 56, с. 102–106, 1973.
4. Паронян Э. Х., Саакян С. А. Тезисы III респ. молодежной конференции по физиол. биологии, Цахкадзор, 1985.
5. Срапионян Р. М., Паронян Э. Х., Абрамян С. С., Григорян Л. А., Карапетян Р. О., Галоян А. А. Нейрохимия, т. 7, № 2, с. 61–68, 1988.
6. Армениян А. Р., Аракелян Л. Н., Срапионян Р. М., Карапетян Р. О., Саакян С. А., Саакян С. А., Галоян А. А. Нейрохимия, т. 6, № 2, с. 193–199, 1987.
7. Hajos F. Brain Res., v. 93, p. 485–489, 1975.
8. Raiteri M., Angelini F., Levi G. Eur. J. Pharmacol., v. 25, p. 411–414, 1974.
9. Армениян А. Р., Чифликян М. Д., Бунятыян Г. Х. Вопр. биохимии мозга, т. 14, с. 135–142, 1980.
10. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., v. 193, p. 265–275, 1951.
11. Галоян А. А. Вопр. биохимии мозга, т. 8, с. 107–126, Ереван, Изд-во АН АрмССР, 1973.

Поступила 4. V 1987