

УДК 591.553

БИОХИМИЯ

Р. М. Срапионян, член-корреспондент АН Армянской ССР А. А. Галоян

О наличии в сердце соединений, принимающих участие в  
нейрогуморальной регуляции коронарного кровообращения

(Представлено 16/VI 1972)

В предыдущих работах одним из нас была показана значительная роль нейrogормонов гипоталамо-нейрогипофизарной системы в регуляции коронарного кровообращения и были обсуждены вопросы, касающиеся возможных путей выделения и транспорта этих веществ из мозга к сердцу (<sup>1,2</sup>).

Было высказано предположение о том, что выделению вышеотмеченных гормонов способствуют биологически активные соединения, выделенные из сердечной мышцы. Поступление этих веществ в общую циркуляцию, по-видимому, может изменяться при различных функциональных состояниях сердца.

Нами было показано также, что выходу коронарорасширяющих гормонов *K* и *C* из мозга в кровь способствуют низкомолекулярные соединения, выделенные из инсулярного аппарата поджелудочной железы (<sup>3</sup>).

Следовательно, в организме существует ряд механизмов, принимающих участие в нейрогуморальной регуляции выделения коронарорасширяющих нейrogормонов из мозга в кровь.

Целью настоящего исследования было выявление и идентификация из сердечной мышцы веществ, принимающих участие в образовании и выделении вышеотмеченных гормонов мозга как в норме, так и при различных провокациях, способствующих выходу этих нейrogормонов из мозга в кровь.

Исследования проводились на различных животных (крысы, кошки, крупный рогатый скот). Подопытным животным вводили гистамин внутривенно из расчета 2 мкг на 100 г веса, а внутрибрюшинно—160 мкг на тот же вес. После убоя животных быстро декапитировали, изолировали сердце, освобождали его от крови и окружающей сосудистой ткани, гомогенизировали обычным способом (<sup>4</sup>). Затем центрифугировали при 6000 об./мин в течение 10 мин и надосадочную жидкость лиофилизировали.

Низкомолекулярные соединения разделяли нисходящей хроматографией на бумаге FN-11. Растворителем служила смесь: бутанол-ледяная уксусная кислота-вода (4 : 1 : 5).

Активные фракции доочищали рехроматографией и электрофорезом на бумаге. Последний осуществляли при силе тока 2—3 ма на бумажную полосу (размерами 4×40 см), при градиенте напряжения 40 в/см, в цитратном буфере, рН которого был равен 3,8, в течение трех часов.

Спектры поглощения элюатов фракций были сняты на регистрирующем спектрофотометре (фирма Unicam, SP—800). Элюаты отдельных фракций испытывали на оттоке крови из коронарных синусов по методу Моравитца и Цана (5).

Хроматограмма низкомолекулярных соединений, выделенных из сердечной мышцы показана на рис. 1. Как видно из рисунка в норме выявлено 12 нингидринположительных и два УФ-поглощающих соединения. В зоне одного из них имеются 4 нингидринположительные соединения, одно из которых оказалось коронароактивным с  $R_f$ , равным 0,33.

После введения этой фракции уже через 10 мин отмечалось увеличение объемной емкости крови, отекающей из венозных сосудов сердца, которое достигало своего максимума на сороковой минуте. Действие этого активного начала продолжалось более двух часов, при этом увеличивалась объемная емкость крови на  $214 \pm 4,2\%$  по сравнению с нормой. При этом не отмечалось особенных изменений в кровяном давлении.

После введения гистамина у крыс и кошек обнаруживалось второе коронарорасширяющее начало с  $R_f$  0,05, которое в норме у тех же животных отсутствовало.

В дальнейшем, коронароактивная фракция ( $R_f$  0,33) была дополнительно очищена рехроматографией (рис. 1,б). Как видно из рисунка, в этом случае было выявлено три соединения с  $R_f$  0,20; 0,23; 0,32; соответственно. Из них пятно с  $R_f$  0,23 было нингидринположительным, а остальные два—УФ-поглощающими. Активностью обладала только фракция с  $R_f$  0,32.

На рис. 2 изображены кривые спектрального анализа этой фракции при различных рН. Как видно из рисунка максимум поглощения коронароактивной фракции находится при нейтральном рН в зоне 248 мк, а минимум—232 мк ( $4^{-1}$ ). При изменении рН в щелочную сторону максимум поглощения сдвигается до 254 мк, но минимум не изменяется ( $4^{-3}$ ). При сдвиге рН в кислую сторону никаких изменений не отмечалось ( $4^{-2}$ ).

При сравнении полученных нами данных спектрофотометрии—общие очертания кривых поглощения в кислой и щелочной средах, расположение максимума, отношение экстинкций при разных длинах волн—с данными, приведенными в атласе Т. В. Венкстерна и А. А. Баева, оказалось, что коронароактивная фракция похожа по характеру кривой поглощения на гуанино-производные соединения.

Результаты бромирования этого соединения по методу А. А. Баева и др. (6) приведены на рис. 3. Как видно из рисунка, характерная для

гуанинопроизводных соединений полоса поглощения с максимумом при 248 мк смещается, и появляется небольшой пик при 251 мк.

Для выяснения степени гомогенности, а также некоторых физико-химических свойств, активная фракция после рехроматографии была очищена электрофоретически; результаты показаны на рис. 4. В этом случае выявилось пять нингидринположительных и три УФ-поглощающие подфракции. Две нингидринположительные подфракции двигались к аноду, а три—к катоду. Все УФ-поглощающие подфракции направлялись к аноду.

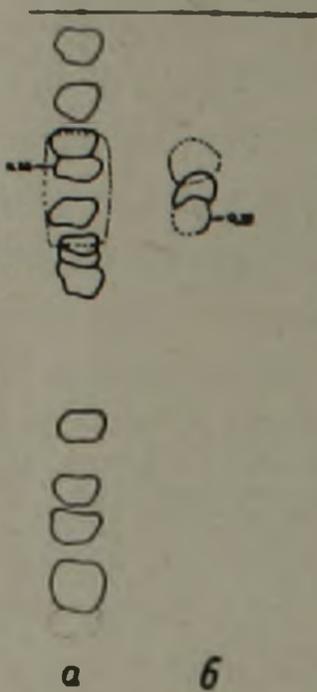


Рис. 1а—Хроматограмма общего уксуснокислого экстракта сердечной мышцы в норме; б—рехроматограмма активной фракции. Сплошной линией отмечены нингидринположительные соединения, пунктиром—УФ-поглощающие

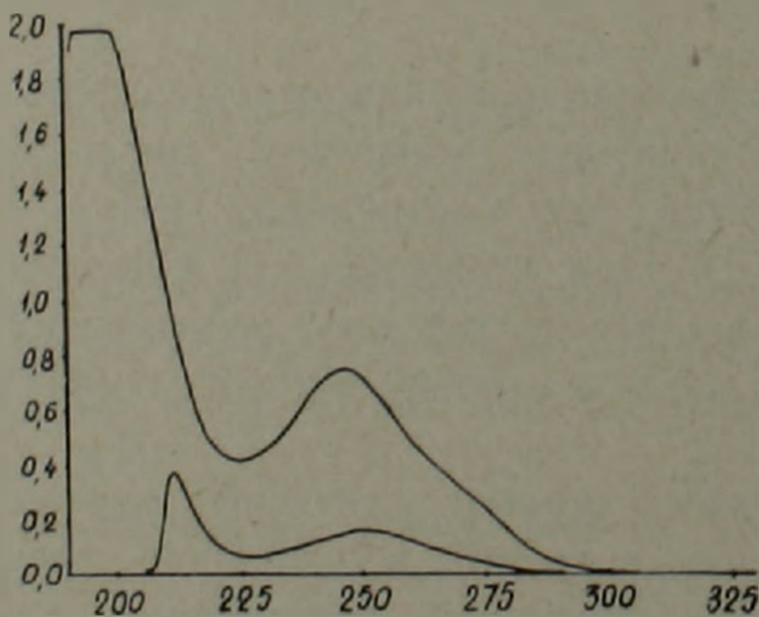


Рис. 3. Кривая поглощения элюата активной фракции до и после бромирования

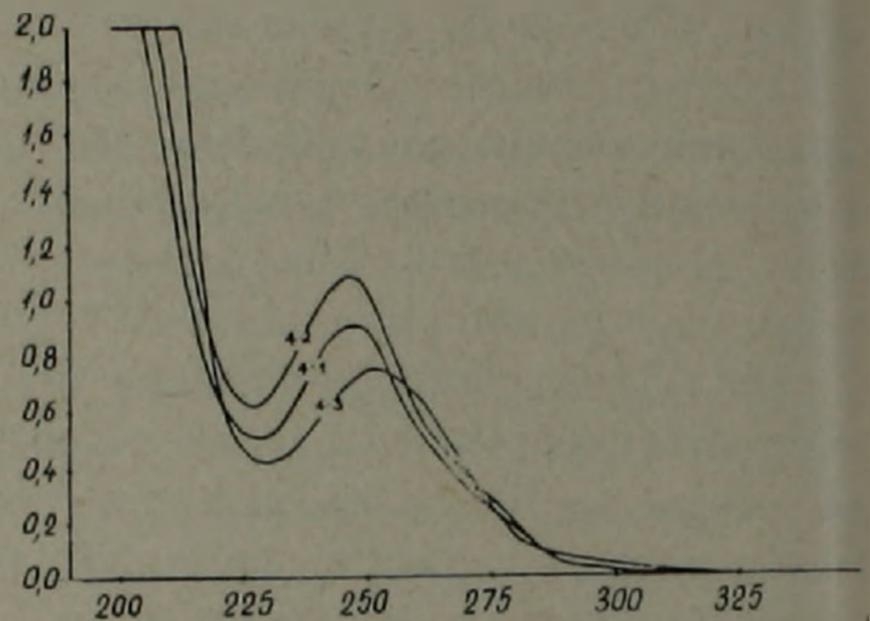


Рис. 2. Кривая спектрофотометрического анализа рехроматографического элюата активной фракции. 4<sup>-1</sup>—кривая поглощения в кислой среде, 4<sup>-2</sup>—при нейтральном рН, 4<sup>-3</sup>—кривая поглощения в щелочной среде

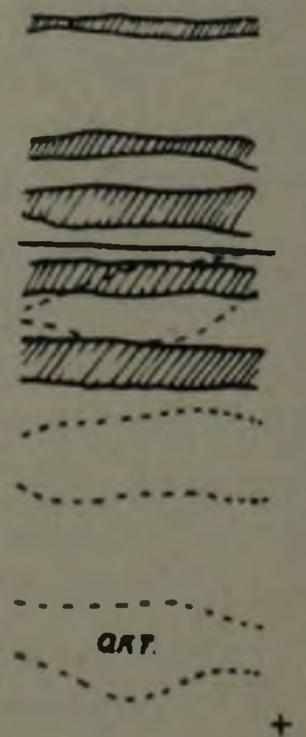


Рис. 4. Электрофореграмма активной фракции: сплошной линией отмечены нингидринположительные соединения, пунктиром — УФ-поглощающие

Крайняя анодная подфракция оказалась коронароактивной; она была УФ-поглощающей, ниигидринотрицательной и электрофоретически наиболее подвижной.

При внутривенном введении этого начала полностью был воспроизведен коронарорасширяющий эффект.

Как уже говорилось выше, в задачу нашего исследования входило кроме обнаружения и идентификации биологически активного соединения в сердце, выяснение его роли в выделении коронарорасширяющих нейрогормонов из гипоталамуса.

С этой целью, на фоне блокады нерва Геринга 2%-ным раствором новокаина, или, в другой серии опытов, перерезки его, вводили коронароактивные соединения, выделенные из сердца, предварительно уже испытанные. В течение трех часов после введения этих веществ не наблюдались какие-либо изменения в оттоке крови из венозных сосудов сердца; коронарорасширяющий эффект не был воспроизведен.

Этот факт свидетельствует о том, что вещество выделенное из сердечной мышцы влияет на коронарное кровообращение нейрогуморальным механизмом, способствующим, по-видимому, выходу из мозга в кровь коронарорасширяющих нейрогормонов гипоталамуса.

Институт биохимии  
Академии наук Армянской ССР

Թ. Մ. ՍՐԱՊԻՈՆՅԱՆ, Հայկական ՍՍՀ ԳԱ րդրակից-անդամ Ա. Ա. ԳԱԼՈՅԱՆ

Սրտից անջատված նյութերի մասին, որոնք մասնակցում են պսակաձև շրջանառության նեյրոհումորալ կարգավորման մեխանիզմներում

Մեր նախքին աշխատանքներում ցույց է տրվել հիպոթալամա-նեյրոհումորալ նեյրոհումորալ շրջանառության կարգավորման մեջ:

Ընթացիկ է, որ վերահիշյալ հումորալ նյութերի անջատմանը նպաստում են սրտի մկանի բիոլոգիական ակտիվ նյութերը: Մեր նպատակն է եղել սրտի մկանից անջատել այդ տիպի միացություններն ինչպես նորմալում, այնպես էլ տարբեր ազդակների ներքո: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ երկու դեպքում էլ  $R_i$  հավասար  $0,33$  ֆրակցիան կորոնարոակտիվ է: Այդ ֆրակցիայի ներերակային ներարկումից հետո սրտի պսակաձև անոթներից հոսող արյան քանակը նորմալի հետ համեմատած ավելանում է  $214\%$ :

Ակտիվ ֆրակցիան լրացուցիչ մաքրվել է ռեքրոմոտոգրաֆիկ և էլեկտրաֆորետիկ եղանակներով: Հետազոտություններից պարզվեց, որ սրտի մկանում գտնվող նյութը նեյրոհումորալ ճանապարհով լայնացնում է սրտի պսակաձև անոթները:

#### ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- <sup>1</sup> А. А. Галоян, в кн. Некоторые проблемы биохимии гипоталамической регуляции, Ереван, 1965. <sup>2</sup> А. А. Галоян, Тезисы докладов Всесоюз. конф., посвященной 70-летию со дня рожд. Х. С. Коштоянца, Ереван, 1971. <sup>3</sup> А. А. Галоян, Р. А. Алексанян, М. В. Оганян, ДАН Арм. ССР, т. 53, № 5 (1971). <sup>4</sup> А. А. Галоян, Р. М. Срапионян, Вопросы биохимии мозга, 1, 1964. <sup>5</sup> P. Morawitz, A. Lahn, Dt. Arch. klin. med., 116, 364(1914). <sup>6</sup> А. А. Баев и др., ДАН СССР, 158, 2, 1963.