

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.171:577.156.2

Д. Н. Худавердян, академик А. А. Галоян, А. С. Тер-Маркосян, О. В. Мкртчян

**Влияние нового гипоталамического нейропептида галармина
на сократительную активность изолированного сердца лягушки**

(Представлено 8/V 2001)

К настоящему времени накоплен ряд сведений относительно возможности влияния различных гормонов пептидной природы [1–3], и в том числе пептидов, выделенных из гипоталамуса [4], на деятельность сердца. Многолетние исследования А. А. Галояна и сотрудников установили множество нейрогуморальных механизмов интеграции нейросекреторного гипоталамуса с нейросекреторными ганглионарными клетками предсердий [5,6].

Открытие множественных форм коронарорасширяющих и коронаросуживающих нейрогормонов, продуцируемых в нейросекреторных ядрах гипоталамуса животных, находящихся на различных этапах эволюционного развития, а также обнаружение гормонов предсердий, регулирующих высвобождение кардиоактивных гормонов гипоталамуса, свидетельствуют о наличии очень старой (первичной) формы нейрогормональной интеграции между двумя возбудимыми органами – мозгом и сердцем.

За последние годы из нейросекреторных гранул гипоталамо-нейрогипофизарной системы животных была выделена группа полипептидов, являющихся иммуномодуляторами и нейропротекторами [4,7]. Иммуногистохимическими методами с использованием моно- и поликлональных антител против одного из них – пролин-богатого полипептида галармина – было установлено его наличие не только в микроструктурах мозга и в лимфатических узлах крыс, но и в супраоптическом ядре лягушек. Это дало основание изучить влияние гипоталамического нейропептида галармина на функциональную активность изолированного сердца лягушки.

Эксперименты были проведены на изолированном сердце лягушки с применением метода исследования деятельности изолированных органов по Волленбергеру, основанного на фотоэлектрическом принципе, в модификации Карапетяна [8] и нашей [3]. Энергетически стабильный поток света от источника освещения, проходя через конденсор микроскопа и камеру с питательной средой (раствор Рингера следующего состава: $NaCl$ – 0,65%, KCl – 0,018%,

$CaCl_2$ – 0,02%, NaH_2PO_4 – 0,01%, Na_2HPO_4 – 0,03%) и изолированным сердцем, модулировался с частотой его сокращений. Модулированное излучение, проходя через оптику микроскопа, диафрагму, проецируясь на фотокатод ФЭУ, приводило к пропорциональному изменению анодного тока, который в свою очередь усиливался при помощи усилителя. Модификация метода заключалась в применении интерференционного фильтра с длиной волны 546 нм с целью более четкой локализации границ сокращающегося сердца, а также в применении поляризационных фильтров (поляризатор и анализатор), установленных перед конденсором микроскопа и торцевой плоскостью фотокатода-умножителя, соответственно. Кроме того, спектральные характеристики примененного фотоумножителя ФЭУ-89 позволяют регистрировать не только огибающее объект исследования модулированное облучение, но и сокращения ткани объекта. Сигнал с выхода усилителя поступал на вход самописца и осциллографа. Для записи сокращающегося изолированного сердца фиксировалось в камере таким образом, чтобы оно находилось в центре диафрагмы. Четкость записи регулировалась изменением величины световой щели между краем сокращающегося сердца и отверстием диафрагмы. В опытах был использован галармин в концентрациях 10^{-13} , 10^{-11} , 10^{-9} и 10^{-7} М. Деятельность сердца регистрировалась в течение 40 мин. Анализ и сопоставление полученных данных проводили ежеминутно до 5-й мин и с интервалом в 5 мин с 5-й до 40-й мин регистрации.

В контрольной серии опытов было установлено, что амплитуда и частота сокращений изолированного сердца лягушки, независимо от каких-либо воздействий на него, уменьшаются во времени (рис. 1а,2). Причем изменение амплитуды более выражено и к концу исследуемого временного периода составляет в среднем 40%, а для частоты - 20-25% от их исходных величин, зарегистрированных в самом начале эксперимента (после помещения сердца в камеру с питательной средой и стабилизации его деятельности). Подобное временное изменение параметров сокращения в контроле, очевидно, связано с метаболическими сдвигами в миокарде в условиях *in vitro*.

Для выяснения возможности влияния галармина на функциональную активность сердца и определения его наиболее эффективной концентрации было проведено исследование дозой зависимости (от 10^{-13} до 10^{-7} М) влияния нейропептида (количество опытов для каждой концентрации составляло 8-16). Причем на первом этапе исследования оценка степени изменений амплитуды и частоты сокращений изолированного сердца в различные интервалы времени после добавления в среду каждой из доз галармина производилась по сравнению с исходными значениями параметров сокращений, регистрируемыми до добавления нейропептида, а на втором проводилась сравнительная оценка временного изменения частоты и амплитуды сокращений сердец лягушек контрольной серии с опытной серией (рис. 1, 2).

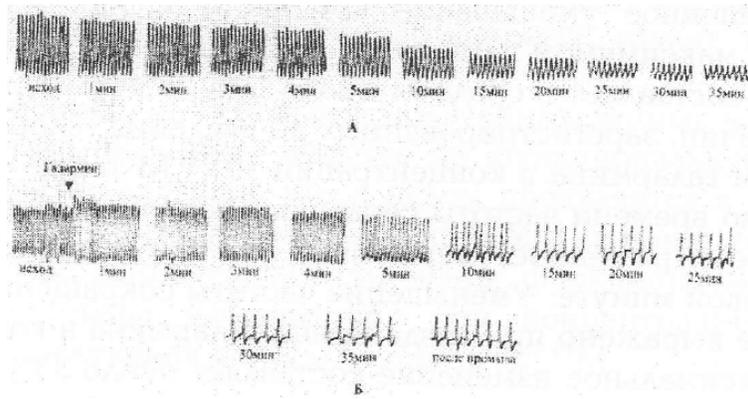


Рис.1. Изменения во времени амплитуды и частоты сокращений изолированного сердца лягушки в норме (А) и после добавления в среду галармина в концентрации 10^{-11} М(Б).

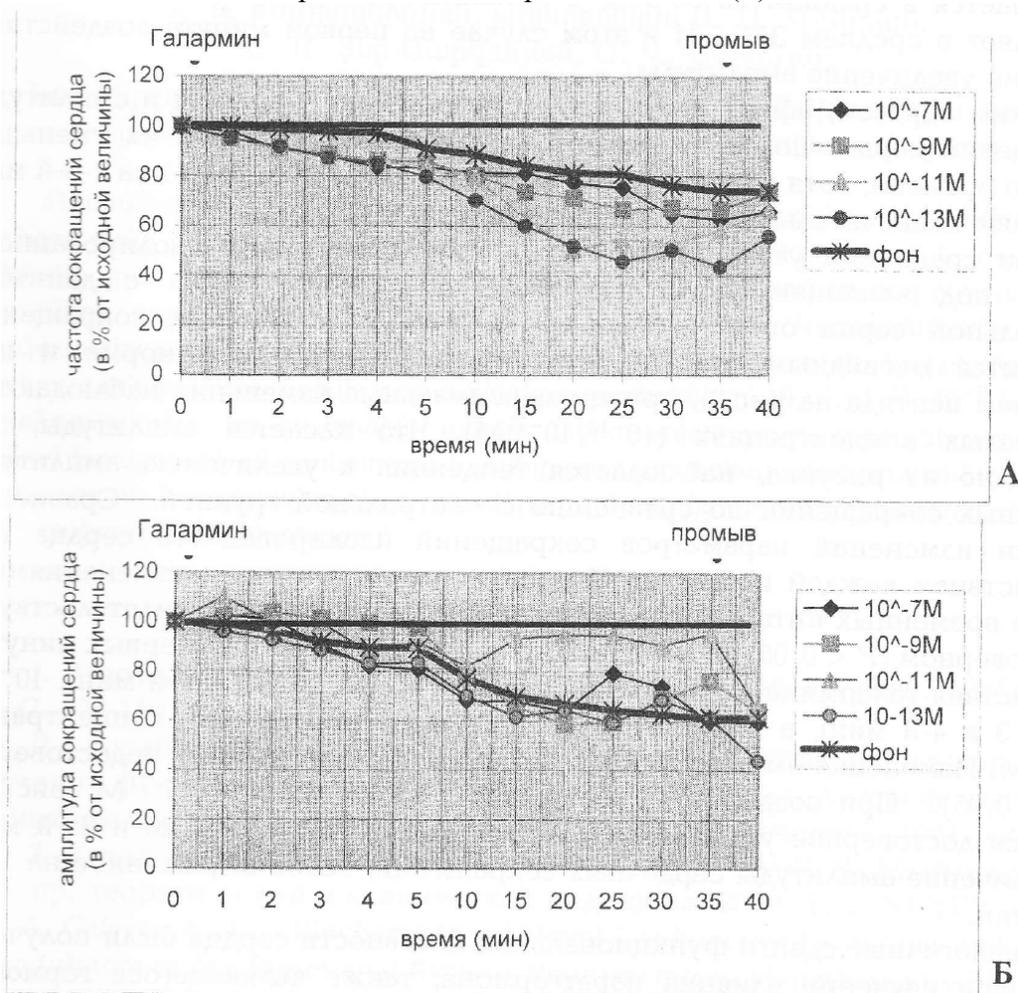


Рис.2. Усредненные показатели (в % к исходным величинам) временных изменений частоты (А) и амплитуды (Б) сокращений изолированного сердца лягушки до (фон) и после добавления в питательную среду различных концентраций галармина.

Как видно из рис.2, под влиянием галармина в концентрации 10^{-13} М происходит постепенное уменьшение как частоты, так и амплитуды сокращений сердца с максимумом изменений на 20-35-й мин. Максимальное уменьшение частоты составляет в среднем около 60%, а амплитуды — около 40% от исходных величин, зарегистрированных до введения галармина.

Под воздействием галармина в концентрации 10^{-11} М также зарегистрировано уменьшение во времени частоты сердечных сокращений (около 50%), и относительно менее выраженное уменьшение амплитуды (около 20%) при ее увеличении на первой минуте. Уменьшение частоты сокращений изолированного сердца менее выражено при воздействии галармина в концентрации 10^{-9} М (в среднем максимальное изменение составляет около 35%). При этом отмечено увеличение амплитуды на первых минутах воздействия пептида и уменьшение в среднем на 40% в поздние сроки исследования. И наконец, под влиянием галармина в концентрации 10^{-7} М частота сокращений сердца уменьшается в среднем на 30-35%, а максимальное уменьшение амплитуды составляет в среднем 35%. И в этом случае на первой минуте воздействия отмечено увеличение амплитуды.

Таким образом, общая направленность изменений частоты и амплитуды сокращений сердца под влиянием галармина характеризуется их уменьшением во времени, хотя концентрации пептида 10^{-11} , 10^{-9} и 10^{-7} на 1-3-й мин вызывают незначительное увеличение амплитуды сокращений.

При сравнении усредненных параметров сокращений изолированного сердца под влиянием различных концентраций галармина с данными контрольной серии опытов уменьшение частоты сердечных сокращений становится очевидным (см. результирующие кривые в норме и под влиянием пептида на рис.2), причем максимальные изменения наблюдаются при малых концентрациях (10^{-13} , 10^{-11} М). Что касается амплитуды, то, как видно из рисунка, наблюдается тенденция к увеличению амплитуды сердечных сокращений по сравнению с контрольной группой. Сравнение степени изменений параметров сокращений изолированного сердца под воздействием каждой исследуемой концентрации пептида с изменениями в тех же временных интервалах в контрольной серии опытов свидетельствуют о достоверном ($P < 0,05$) уменьшении частоты сокращений на первых минутах воздействия галармина в концентрациях 10^{-9} М (на 1, 2, 3 и 4-й мин), 10^{-7} М (на 2, 3 и 4-й мин), а также во все сроки исследования при концентрации 10^{-13} М. Изменения амплитуды при указанных концентрациях недостоверны ($P > 0,05$). При воздействии галармина в концентрации 10^{-11} М (рис.1,Б) имеется достоверное уменьшение частоты (на 1, 2, 3, 4, 15, 20 и 25-й мин) и увеличение амплитуды сердечных сокращений, особо выраженное на 15–35-й мин.

Аналогичные сдвиги функциональной активности сердца были получены нами при изучении влияния паратгормона, также являющегося гормоном пептидной природы, что, как было установлено, связано с изменением функциональной активности кальциевых каналов *T*- и *L*-типа [3,9].

Учитывая ключевую роль ионов кальция и некоторых мембранозависимых процессов в функционировании сердечной мышцы, а также установленные факты воздействия гормонов пептидной природы на различные звенья клеточного метаболизма в сердечной мышце [3,4,9,10], можно допустить, что галармин также может действовать аналогичным образом. Молекулярный механизм влияния галармина может послужить объектом дальнейших исследований.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить:

1) галармин оказывает влияние на функциональную активность изолированного сердца лягушки, что в целом проявляется в виде отрицательного хронотропного и менее выраженного положительного инотропного эффектов.

2) наиболее выраженные изменения функциональной активности изолированного сердца наблюдаются при концентрации галармина 10^{-11} М (наиболее эффективная концентрация) и 10^{-13} М.

Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци
Институт биохимии им. Г. Х. Бунятына НАН РА

**Դ. Ն. Խոլովերդյան, ակադեմիկոս Ա. Ա. Գալոյան,
Ա. Ա. Տեր-Մարկոսյան, Օ. Վ. Մկրտչյան**

**Նոր ենթատեսաթմբային նյարդապեպտիդի՝ գալարմինի ազդեցությունը
գորտի մեկուսացված սրտի կծկողական ակտիվության վրա**

Ուսումնասիրված է ենթատեսաթմբային նոր նյարդապեպտիդի՝ գալարմինի ազդեցությունը գորտի մեկուսացված սրտի կծկումների հաճախության և տատանասահմանի վրա: Օգտագործվել է ֆոտոէլեկտրական սկզբունքով գործող մեկուսացված օրգանների ուսումնասիրման մեթոդը ըստ Վոլենբերգերի (Կարապետյանի և մեր մոդիֆիկացիայով): Գալարմինի չափաբաժնային ազդեցության կախվածությունը որոշելու համար օգտագործվել է դրա հետևյալ քանակները՝ 10^{-13} , 10^{-11} , 10^{-9} և 10^{-7} Մ: Հայտնաբերված է, որ գալարմինը գորտի մեկուսացված սրտի գործունեության վրա թողնում է բացասական քրոնոտրոպ և ավելի թույլ արտահայտված դրական ինոտրոպ ազդեցություն: Նյարդապեպտիդի առավելագույն ազդեցությունը դրսևորվում է 10^{-11} , 10^{-13} չափաբաժինների դեպքում:

Литература

1. Мерзон К. А., Баринов Э. Ф., Гринь В. К. - Кардиология. 1985. Т. 25. N5. С. 108-110.
2. Барабанова В. В. Роль кальцитонина и паратиреоидного гормона в регуляции функциональной активности клеток миокарда. Автореф. докт. дис. Л. Ин-т эволюционной физиологии и биохимии им. Сеченова. 1981. 48 с.

3. *Худавердян Д. Н., Тер-Маркосян А. С., Мкртчян О. В., Налбандян С. Г.* - *Вопр. теоретической и клинической медицины*. 2000. Т. 2. N10(17). С. 3-6.
4. *Galoyan A. A.* - *Biochemistry of Novel Cardioactive Hormones and Immunomodulators of the Functional System Neurosecretory Hypothalamus-Endocrine Heart*, Nauka Publishers. М. 1997. P. 234.
5. *Галоян А. А.* *Некоторые проблемы биохимии гипоталамической регуляции*. Ереван. Айастан, 1965. 242 с.
6. *Галоян А. А., Ростомян М. А.* - *Биол. ж. Армении*. 1967. Т.20. N9. С.3-7.
7. *Galoyan A. A.* - *Neurochemical Research*, 2000. V. 25. N. 9/10. P. 1343-1355.
8. *Каранетян А. Е., Геворкян Р. А., Манукян Г. А., Львов М. В.* - *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 1969. N9. С. 124-125.
9. *Мкртчян О. В., Тер-Маркосян А. С., Сахакян Е. А., Худавердян Д. Н.* - *Third conference of the Armenian International Brain Research Organization (IBRO) association*. Yerevan. 2000. P. 54-55.
10. *Galoyan A. A., Kevorkian G., Voskanian L., Alexanian S., Muradian M.* - *Neurochemical Research*. 1988. V, 13. N5. P. 493-498.