

БИОХИМИЯ

УДК 577

М. Ш. Мурадян, А. К. Едигарян, Л. А. Сехян, академик А. А. Галоян

Влияние кардиоактивного гексапептида на захват [^{35}S] таурина срезами сердца крысы при блокаде адрено-, холино- и опиоидных рецепторов

(Представлено 27/IV 2007)

Ключевые слова: таурин, захват, сердце, гексапептид, нейромедиатор, рецептор

В гипоталамо-нейрогипофизарной системе животных кроме кардиоактивных нейрогормонов [1] существуют и некоторые гипофизарные пептиды и нейрсмедиаторные аминокислоты, которые могут оказывать органотропное влияние на организм. Среди них кардиоактивным является гексапептид (ГП) Гли-Тир-Лей-Арг-Про-Гли- NH_2 , являющийся фрагментом люлиберина и имеющий важное значение не только для синаптических процессов мозга, но и для регуляции висцеральных функций различных органов, в частности сердца.

ГП, наряду с коронарорасширяющими свойствами, характеризуется также гипергликемическим эффектом, усиливает секрецию инсулина β -клеток поджелудочной железы и обладает некоторыми инсулиноподобными свойствами [2], играя, вероятно, также важную роль в центральной нейрогуморальной регуляции углеводного обмена.

К числу соединений, влияющих на деятельность сердечной мышцы, относится нейромедиаторная сульфаминокислота - таурин, содержащийся в сердце млекопитающих в больших количествах [3] и являющийся неспецифическим регулятором чувствительности миокардиальных клеток к биологически активным веществам [4]. Дефицит этой аминокислоты может отрицательно влиять на некоторые функции организма, особенно сердца. Миокард сердца способен активно накапливать таурин с помощью механизма активного транспорта против градиента концентрации, который зависит от образования энергии в клетках сердца [5]. Таурин действует, главным

образом, как ингибиторный нейромедиатор гладкой и сердечной мышцы и может включаться в некоторые воспроизводительные и эндокринные функции организма [6].

Таурин обладает инсулинподобным эффектом, в 2 раза повышая содержание гликогена печени, снимает гликемию [7]. Мацудо и др. установлено, что глюкокортикоиды могут влиять на транспорт таурина в сердце [8]. Показано, что в сердце таурин имеет специфическую транспортную систему, которая модифицируется уровнем β -адренергической активации и метаболизирующей системой [9,10]. Сердце крыс может синтезировать таурин. Фермент для синтеза таурина, цистеинсульфат декарбоксилаза, сосредоточен в участках нервных окончаний [11].

Таурин изменяет реакцию сердечной мышцы на адреналин и ацетилхолин и оказывает влияние на рецепторы этих веществ. Возможно, существует конкурентное отношение между холинэргическими агентами и таурином [12].

В настоящей работе представлены результаты изучения влияния ГП и веществ, специфически блокирующих α - и β -адренорецепторы, холинорецепторы и рецепторы морфина, на скорость захвата таурина [^{35}S] изолированными срезами сердца.

Опыты проводили на белых крысах, самцах и самках, породы Вистар массой 180-200 г. Крыс оглушали электрическим током и декапитировали. Навески срезов правого и левого частей предсердий и желудочков сердца инкубировали в растворе Тироде, содержащем (в mM): NaCl - 153.9, KCl - 41.5, CaCl_2 - 2.5, MgCl_2 - 1.0, NaHCO_3 - 11.9, NaH_2PO_4 - 1.0, глюкозы - 5.5, аскорбиновой кислоты - 2.8. Инкубацию проводили в течение 30 мин при 37°C в камере объемом 10 мл, насыщенной кислородом. Затем раствор заменяли и проводили преинкубацию ингибиторами адрено-, холино- и опиоидных рецепторов в течение 20 мин, после чего срезы по 30 мин инкубировали в свежем растворе Тироде в присутствии ГП (3×10^{-5} М) и [^{35}S] таурина в концентрации 0.25 мк кюри/мл (3×10^{-9} М). По окончании инкубации проводили пятикратную промывку препаратов раствором Тироде, затем препараты помещали в сцинтилляционные кюветы, заливали 1 мл этилового спирта и оставляли на 16-18 ч, после чего добавляли в кюветы 10 мл сцинтилляционной жидкости, содержащей 4 г ППО (2.5 дифенилоксазол) и 100 мг ПОПОП (1.4 ди-5фенил-2-оксазолил бензол) на 1 мл толуола [13]. Радиоактивность измеряли на жидкостном сцинтилляционном счетчике СЛ-30 "Интертехник" (Франция) с внешним стандартом, что позволило выразить захват [^{35}S] таурина в распадах 1 мин на 1 г ткани. В опытах был использован [^{35}S] таурин фирмы "Амершам" (Англия) с удельной активностью 8.2 кюри/ммоль. Обработку полученных результатов проводили методом

вариационной статистики Стьюдента. Инкубационная среда содержала [^{35}S] таурина (10^{-9}M) и немеченую аминокислоту таурина в концентрации 10^{-5}M . Степень захвата аминокислот выражали отношением числа распадов осадка фракции (мин/мг) к числу распадов среды поглощения (мин/мкл).

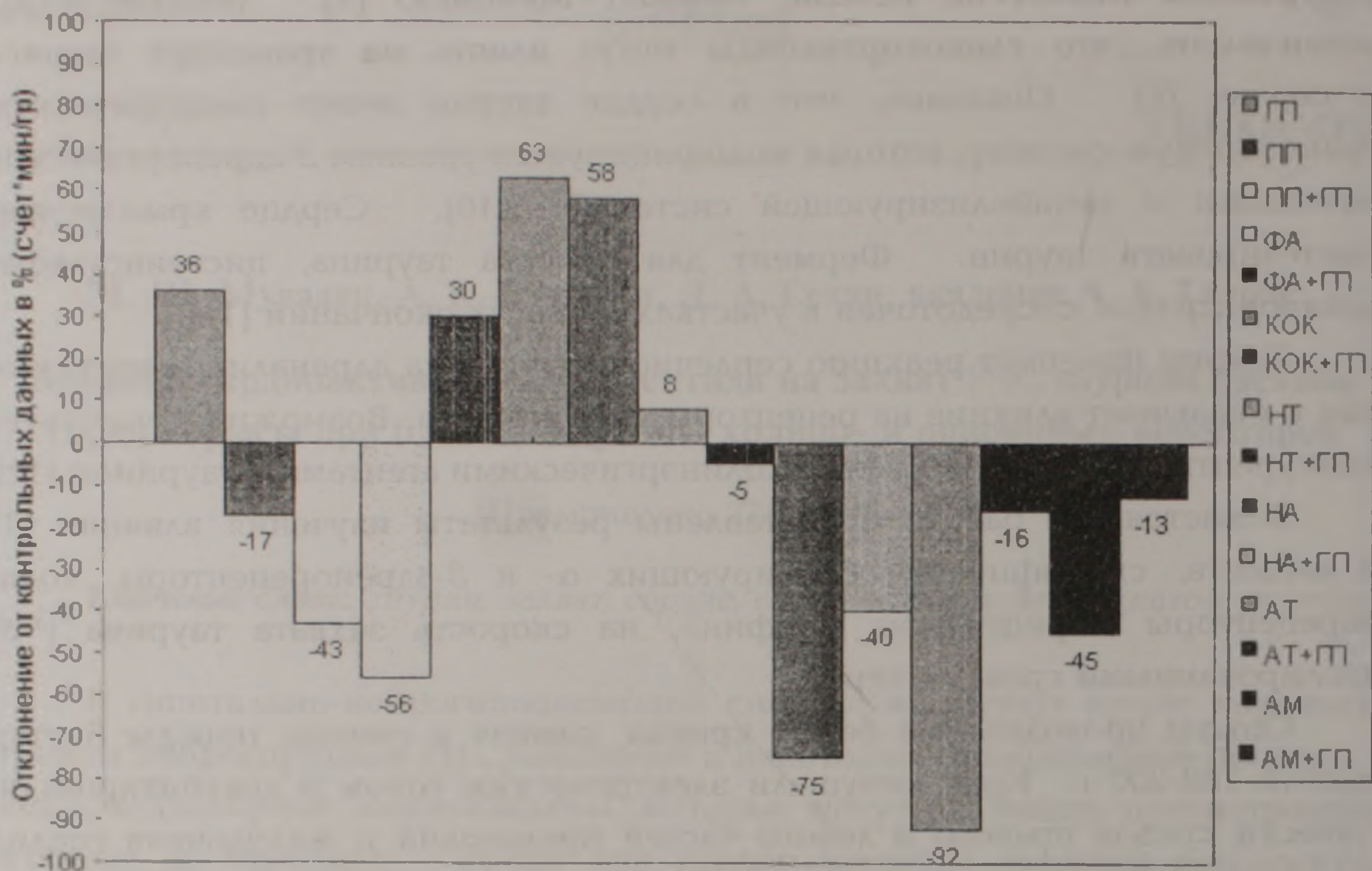


Рис. 1. Захват таурина [^{35}S] срезами правого предсердия под влиянием ГП и в сочетании с ингибиторами адрено-, морфино- и холинорецепторов. По оси ординат отклонение от контрольных данных в %. Вероятность ингибиторов и НС приведена в сравнении с контролем, а сочетания ингибиторов + ГП - с результатами соответствующих ингибиторов. Средние данные 6-12 опытов. Принятые сокращения: ГП - гексапептид, ФА - фентоламин, КОК - кокаин, ПП - пропранолол, НА - налтрексон, НА - налоксан, АМ - амизил, АТ - атропин.

Как нами [14], так другими авторами [15] было показано, что интенсивность захвата таурина в различных участках сердца разная. Предсердия, как и большинство органов, иннервируются длинными постганглионарными адренэргическими нейронами и имеют достаточно плотную синаптическую иннервацию при небольшом объеме мышечной ткани.

Для определения звена, на которое действует ГП, была поставлена серия опытов со срезами предсердий и желудочками сердца с использованием разных блокаторов и [^{35}S] таурина.

Как видно из рис. 1-4, ГП в дозе $3 \times 10^{-6}\text{M}$ вызывает усиление захвата таурина срезами сердца в правом предсердии на 36%, в правом желудочке

- на 69%, а в других изучаемых участках сердца достоверного изменения не происходит.

Блокада β -адренорецепторов пропранололом в концентрации $5 \times 10^{-7} \text{M}$ приводит к угнетению захвата таурина в правом предсердии на 17%, в правом и левом желудочке - на 31 и 35%, соответственно. В сочетании ГП с пропранололом наблюдается угнетение захвата, в правом предсердии составляющее 43, в левом - 20%, тогда как в желудочках сердца наблюдается усиление захвата: в правом - на 31, левом - на 24%.

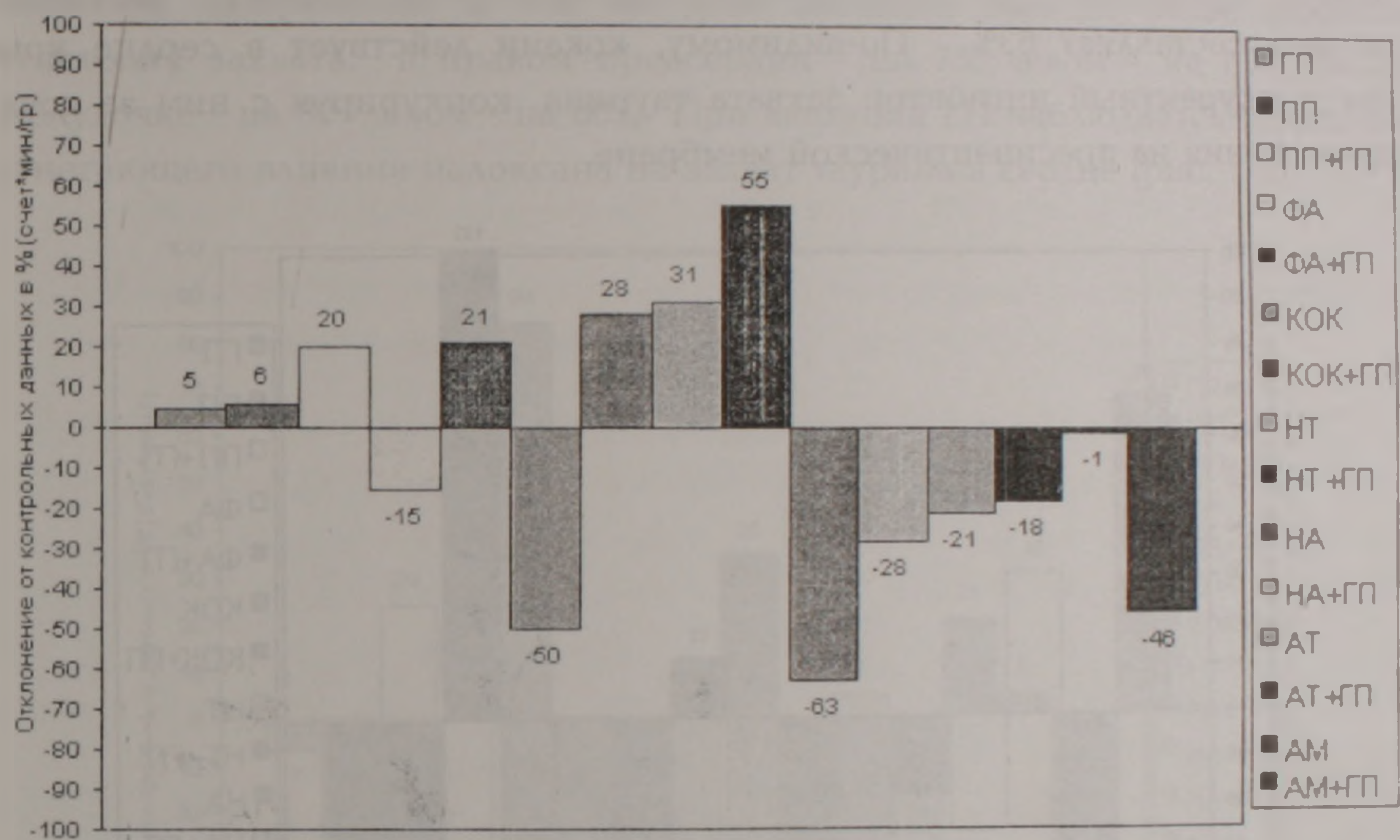


Рис. 2. Захват таурина [^{35}S] срезами левого предсердия под влиянием ГП и его сочетаний с ингибиторами рецепторов. Обозначения те же, что на рис.1.

Блокатор L-адренорецепторов фентоламин в дозе $5 \times 10^{-7} \text{M}$ приводит к снижению захвата таурина во всех исследуемых участках сердца: в правом предсердии - на 56, левом - на 15, правом желудочке - на 25, левом желудочке - на 60%. Сочетание с ГП снимает угнетающий эффект фентоламина и приводит к активации захвата таурина почти во всех участках сердца, кроме правого желудочка, - в правом предсердии на 30, левом - на 21, левом желудочке - на 84%.

Из данных рисунков видно, что нет какой-либо зависимости между эффектом фентоламина и особенностями в распределении α - и β -адренорецепторов сердца. Органы преимущественно с α - и β -адренорецепторами реагируют на введение блокаторов одновременным снижением содержания захвата таурина. Приведенные данные позволяют предположить,

что адренорецепторы не могут принимать участия в регуляции обмена таурина адренергическими нейронами.

Для определения степени нейронального связывания таурина [^{35}S] в сердце было исследовано влияние специфических ингибиторов нейронального захвата кокаина в концентрации $5 \times 10^{-5}\text{M}$ на скорость захвата таурина в условиях эксперимента. Установлено, что кокаин приводит к выраженному угнетению захвата срезами сердца: в левом предсердии - на 50, правом желудочке - на 63, левом желудочке - на 55%. Исключение составляет правое предсердие, где наблюдается положительный эффект - активация захвата составляет 63%. По-видимому, кокаин действует в сердце крыс как конкурентный ингибитор захвата таурина, конкурируя с ним за точку приложения на пресинаптической мембране.

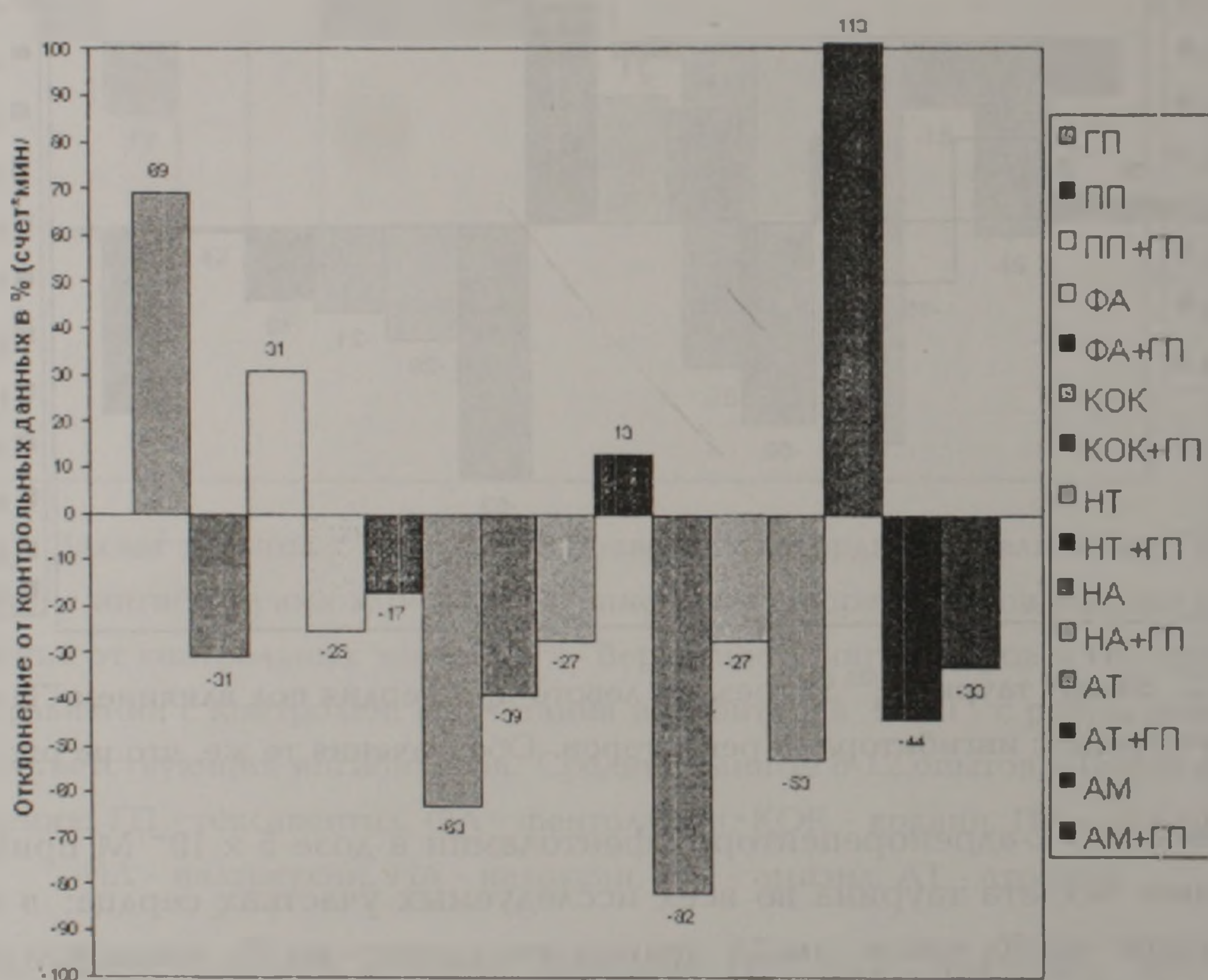


Рис. 3. Захват таурина [^{35}S] срезами правого желудочка сердца под влиянием ГП и его сочетаний с ингибиторами рецепторов. Обозначения те же, что на рис.1.

Под влиянием ГП при предварительной блокаде нейронального захвата кокаином активируется захват в правом и левом предсердиях на 58 и 28%, соответственно. В желудочках подобного эффекта не наблюдается.

При введении кокаина в сочетании с ГП адренергическая реакция сердца крыс усиливается, что, возможно, обусловлено не блокадой захвата таурина, а повышением чувствительности адренорецепторов.

Характер действия блокаторов опиоидных рецепторов морфина налтрексона (НТ) в дозе $0.3 \times 10^{-8} \text{М}$ и налоксона в дозе $0.39 \times 10^{-8} \text{М}$ на разные части сердца неодинаков. В случае НТ в предсердиях заметных изменений не происходит, а в левом и правом желудочках наблюдается угнетение захвата: в правом желудочке - на 27, левом - на 52%. В сочетании НТ и ГП наблюдается усиление захвата: в левом предсердии - на 55, левом желудочке - на 35%, в то время как в других частях сердца ГП заметного влияния не оказывает.

Другой ингибитор опиоидных рецепторов - налоксан, являющийся аналогом налтрексона, в той же дозе вызывает гораздо более глубокое угнетение захвата: в правом предсердии - на 75, левом - на 63, правом желудочке - на 82, левом - на 80%. При введении ГП наблюдается тенденция угнетающего влияния налоксана на захват таурина в сердце (рис. 1-4).

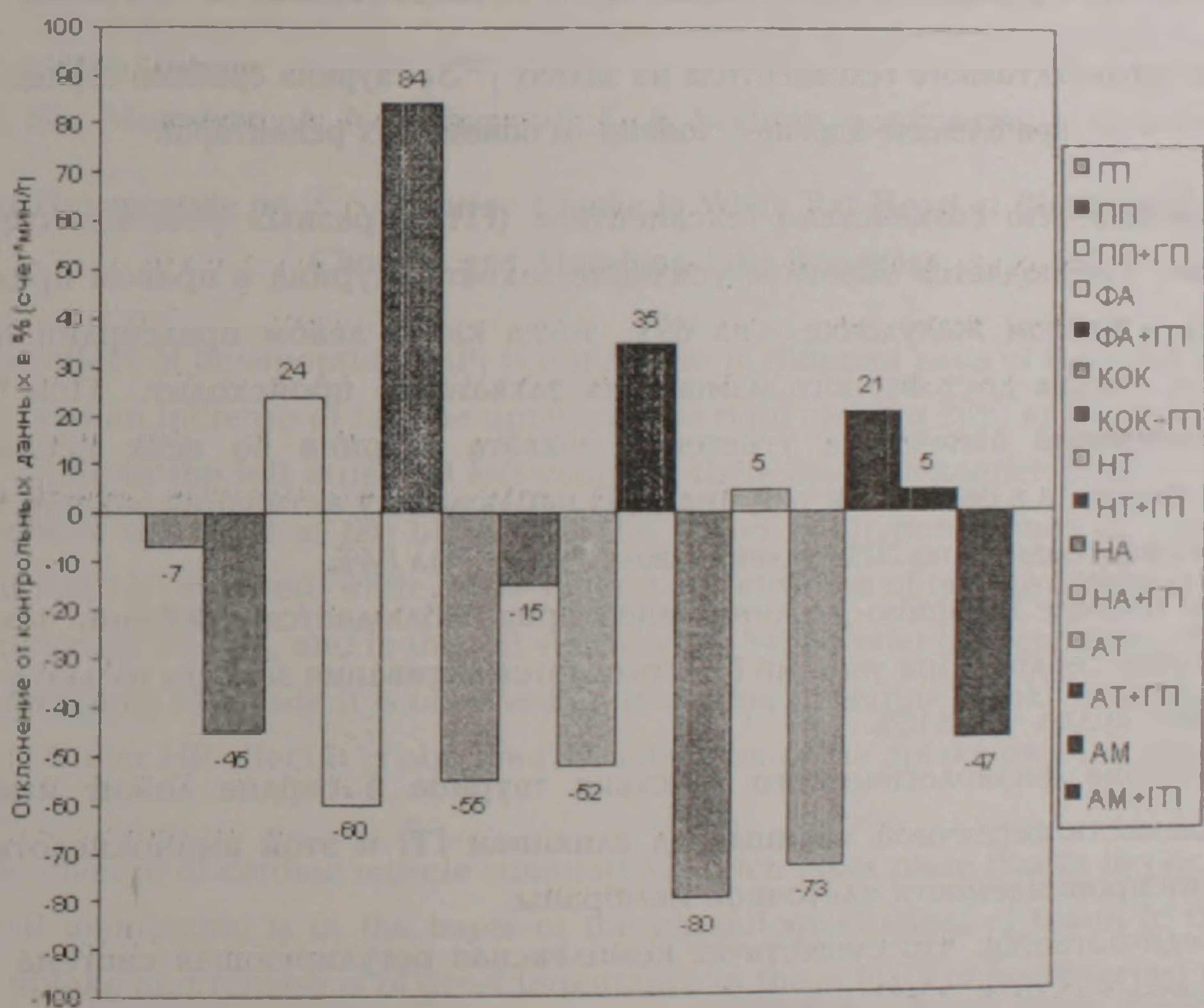


Рис.4. Захват таурина [^{35}S] срезами левого желудочка сердца под влиянием ГП и его сочетаний с ингибиторами рецепторов. Обозначения те же, что на рис.1.

Особый интерес представляют данные, полученные в экспериментах с литиками холинорецепторов, амизилом ($0.29 \times 10^{-8} \text{М}$) и атропином ($0.15 \times 10^{-8} \text{М}$). Оба блокатора снижают захват таурина во всех исследуемых участках сердца. Под влиянием атропина наступает глубокое угнетение захвата: в правом предсердии оно составляет 92, левом - 21%, правом желудочке - 53, левом - 73%. При сочетании атропина с гексапептидом наблюдается тенденция

усиления захвата таурина, особенно в правом желудочке сердца - на 113%, в левом желудочке оно составляет 21% (рис.1-4).

Полученные результаты позволяют считать, что накопление таурина в сердце при введении ГП, вероятно, обусловлено их влиянием на клеточную мембрану, с активацией транспортной системой клеточной мембраны.

Влияние ГП на накопление таурина в сердце можно рассматривать и на уровне рецепторов таурина.

Институт молекулярной биологии НАН РА

М. Ш. Мурадян, А. Н. Едигарян, Л. А. Сехян, академик А. А. Галоян

Влияние кардиоактивного гексапептида на захват [^{35}S] таурина срезами сердца крысы при блокаде адрено-, холино- и опиоидных рецепторов

Показано, что воздействие гексапептида (ГП) в разных участках сердца не одинаково. Наблюдается заметное усиление захвата таурина в правом предсердии - на 33%, в правом желудочке - на 69%, тогда как в левом предсердии и левом желудочке сердца достоверного изменения захвата не происходит. При блокаде адренорецепторов отмечается угнетение захвата таурина во всех исследуемых участках сердца, а в сочетании таурина с ГП наблюдается активация захвата таурина в правом предсердии - на 30%, в левом желудочке - на 84%.

При блокаде морфино-, холино-рецепторов наблюдается снижение захвата во всех участках сердца. При участии ГП отмечается активация захвата только в правом желудочке сердца - на 113%.

В основе физиологического действия таурина в сердце лежит изменение возбудимости сердечной мышцы под влиянием ГП и этой аминокислоты через изменение проницаемости клеточной мембраны.

Предполагается, что существует комплексная регулирующая система сердца, включающая cAMP, K, Ca^{2+} и таурин.

Մ. Շ. Մուրադյան, Ա. Ն. Եդիգարյան, Լ. Ա. Սեհյան, ակադեմիկոս Ա. Ա. Գալոյան

Կարդիոակտիվ հեքսապեպտիդի ազդեցությունը [^{35}S] փաուրինի կլանման վրա՝ առնեփնների սրտի կորվածքներում ադրենա-, խոլինա- և մորֆինանման ռեցեպտորների բլոկադայի դեպքում

Հեքսապեպտիդը (ՀՊ) սրտի փարբեր հարվածներում ազդում է ոչ միապեսակ: Նկատվում է փաուրինի կլանման ուժեղացում աջ նախասրտում 36%, աջ փորորում 69%, այն դեպքում,

ևրբ ձախ նախասրտում և ձախ փորոքում կլանման էական փեղաշարժեր չեն նկատվում: α և β ադրենաոնեցեպտորների բլոկադայի ժամանակ սրտի բոլոր հատվածներում նկատվում է տաուրինի կլանման ճնշում, իսկ ՆՊ-ի համակցության դեպքում նկատվում է տաուրինի կլանման ինսուսիվացում, աջ նախասրտում 30%, ձախ փորոքում 84%: Մորֆինա-, խոլինա-ոնեցեպտորների բլոկադայի պայմաններում նկատվում է տաուրինի կլանման ճնշում սրտի բոլոր հատվածներում: ՆՊ-ի համակցության պայմաններում նկատվում է կլանման ինսուսիվացում միայն սրտի աջ փորոքում 113%:

Մտնում տաուրինի ֆիզիոլոգիական ազդեցության հիմքում ընկած է սրտամկանի աշխատանքի փոփոխությունը ՆՊ-ի ազդեցության ներքո, որը կարարվում է բջջային մեմբրանի թափանցելիության փոփոխության շնորհիվ: Տաուրինի կլանումը և անջատումը ունի էական նշանակություն սրտի նորմալ գործունեության համար, քանզի ենթադրվում է, որ գոյություն ունի սրտի գործունեության կոմպլեքս կարգավորիչ մեխանիզմ, ներառյալ cAMP, K, Ca^{2+} և տաուրին:

M. Sh. Muradyan, A. N. Yedigaryan, L. A. Sekhyan, academician A. A. Galoyan

Effect of Hexapeptide on [^{35}S] Taurine Uptake in White Rat Heart at Blockade of Adreno-, Choline- and Morphine-Like Receptors

The effect of hexapeptide (HP) is not similar in different parts of the heart of the rat. It is observed an increase of taurine uptake in the right atria for 36%, in the right ventricle for 69%, while in the left atria and left ventricle there are no essential changes observed. In all parts of the heart at the blockade of the α and β adrenoreceptors an inhibition of taurine uptake is observed, while at HP joining an activation of taurine uptake is observed in the right atria for 30%, and in the left ventricle for 84%. Under the conditions of morpho-choline receptors blockade it is observed an inhibition of taurine uptake in all the parts of the heart. Under HP effect it is observed an activation of the uptake only in right ventricle for 113%.

The change of cardiac muscle stimulation, which takes place thanks to permeability of the cell membrane, is in the bases of the physiological effect of taurine in the heart. Taurine uptake and release is of great importance in the activity of heart normal function, as it is supposed the existence of a regulatory mechanism complex including cAMP, K, Ca^{2+} and taurine.

Литература

1. Галоян А.А. - ДАН АрмССР. 1962. Т. 34. N 3.
2. Галоян А.А., Хумарян Н.Г., Ханзадян А.Х. - ДАН АрмССР. 1977. Т. 65. N5.
3. Мурадян М.Ш., Едигарян А.Н., Галоян А.А. - Биол. ж. Армении. 1971. Т. 34. N9. С. 968-972.

4. Мальчикова Л.С., Сперанская Н.В., Елизарова Е.Р. - Бюл. эксп. биологии. 1979. N12. С.135-138.
5. Мальчикова Л.С., Смирнов В.Н., Елизарова Е.А. В: Матер. 3-го сов.-амер. симп. Вильямсбург. 1979. 172. 80.
6. Yasuo N., Yokio N., Walter.L. - Biochem. Pharmacol. 1978. V. 27. N23. P. 2689.
7. Nara Y., Yemori Y., Lovenberg W. - Biochem. Pharmacol. 1978. V. 27. N23. P. 2689.
8. Matsuda T., Yamagani S., Mizui T., Iwata H. - Biochem. Pharmacol. 1978. V. 27. N24. P. 2973-2975.
9. Henn F.A. In: Metabolic Compartmeentation and Neurotransmission (Berl S., Clarke D., Schneider D. eds.). 1975. P. 97-99.
10. Schriez B.K., Thompson F.J. - J. Biol. Chem. 1974. V. 249. P. 1769.
11. Durpe S., Mario C.D., Holl I. - Biol. Chem. 1964. V. 13. P. 386.
12. Fujiomoto S., Iwata H., Yonada Y. - J. Pharmacol. 1976. V. 26. P. 105.
13. Coule J., Axelrod J. - J. Neurochem. 1971. V. 18. P. 2061.
14. Мурадян М.Ш., Едигарян А.Н., Карапетян Р.О., Галоян А.А. - ДАН АрмССР. 1983. Т. 76. N5. С. 225-230.
15. Карапетян Р.О., Попова Т.В., Мурадян М.Ш., Галоян А.А. - Биол. ж. Армении. 1990. Т. 43. N 6. С. 43.