

7. Карпуть И. М. Ветеринария, 1973, 4, с. 44.
8. Карпуть И. М. Антибиотики, 1976, 1, с. 71.
9. Коваленко Я. Р., Сидоров М. А. В кн.: Иммуитет с. х. животных. М., 1973, с. 22.
10. Микаелян Н. П. Антибиотики, 1975, 1, с. 40.
11. Плакшина А. Н., Плаксин А. И. Там же, 1977, 4, с. 340.
12. Покровская М. П., Краснова В. И. и др. ЖМЭИ, 1965, 3, с. 8.

УДК 612.127

К. А. МАРКОСЯН, Н. А. ПАЙТЯН, Р. М. НАЛБАНДЯН

ВЛИЯНИЕ НИТРОПРУССИДА НА РЕАКЦИЮ ВОССТАНОВЛЕНИЯ КИСЛОРОДА ЦИТОХРОМОКСИДАЗОЙ

Изучено влияние нитропрусида натрия на реакцию восстановления молекулярного кислорода цитохромоксидазой из митохондрий сердца. Показано, что препарат вызывает ингибирование цитохромоксидазы. Установлено, что при клиническом применении нитропрусида натрия его концентрация в крови не должна превышать 50 мг/мл.

Нитропруссид натрия ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot \text{H}_2\text{O}$) является одним из наиболее эффективных быстродействующих гипотензивных препаратов, вводимых путем внутривенной инфузии [8, 10]. Фармакологический эффект нитропрусида, основанный на релаксации гладкой мускулатуры артериального участка сосудистого русла, обусловлен железисто-нитрозной группой, Fe-NO , активирующей растворимую форму гуанилатциклазы [4, 9]. Однако взаимодействие нитропрусида с сульфгидрильными группами тканей сопровождается высвобождением цианидных групп, что может приводить при нарушении процесса детоксификации к цианидному отравлению [3, 5]. Имеются данные, что нитропруссид ингибирует поглощение кислорода митохондриями [6]. Известно также, что цианид, NO и NO-содержащие соединения являются сильными ингибиторами терминального фермента дыхательной цепи митохондрий, цитохром *c* оксидазы, катализирующей реакцию восстановления молекулярного кислорода [7, 13]. Ингибирование фермента может вызвать клеточную гипоксию.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния нитропрусида на реакцию восстановления молекулярного кислорода цитохромоксидазой.

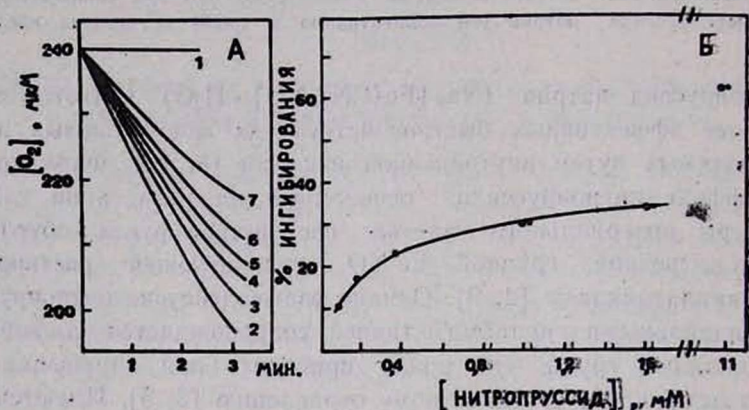
Материал и методы

Исследования выполнены на препаратах цитохромоксидазы, полученных из митохондрий сердца крупного рогатого скота по методу Yu et al. [14]. Концентрацию цитохромоксидазы определяли, исходя из миллимолярного коэффициента экстинкции $\Delta\epsilon$ 605 (восст.-окисл.) — 24,0 [11]. Субстрат цитохромоксидазы (цитохром *c*) получали из сердца крупного рогатого скота, как было описано ранее [1]. Восстановление цитохрома *c* аскорбатом проводили в присутствии 0,1 мМ ЭДТА, избыток восстановителя удаляли гель-фильтрацией через сефадекс G-25. Концентрацию цитохрома *c* определяли из миллимоляр-

ного коэффициента экстинкции $\Delta\epsilon_{550}$ (восст.-окисл.) — 21,0 [12]. Ферментативную активность цитохромоксидазы определяли по поглощению кислорода при 25°С в натрий-фосфатном буфере, pH 7,0, и выражали числом оборотов фермента. Поглощение кислорода определяли при помощи электрода Кларка в термостатированной 2 мл ячейке на кислородном анализаторе фирмы «Beckman», модель 0260 (Австрия), снабженном самописцем «Omniscrite» («Beckman»). В работе использован нитропруссид фирмы «Roch» (Швейцария). Раствор нитропрussa в 50 мМ натрий-фосфатном буфере, pH 7,0, готовили непосредственно перед использованием, предохраняя от попадания света.

Результаты и обсуждение

На рисунке (А) представлены кинетические кривые поглощения кислорода, полученные при окислении восстановленного цитохрома с ци-



Влияние нитропрussa на реакцию восстановления кислорода цитохромоксидазой. А. Кинетические кривые поглощения кислорода, полученные при окислении восстановленного цитохрома с цитохромоксидазой в присутствии разных концентраций нитропрussa. 1—в присутствии цитохромоксидазы и 4 мМ нитропрussa (контроль); 2—в присутствии цитохрома с, цитохромоксидазы и в отсутствие нитропрussa; 3, 4, 5, 6, 7—в присутствии, соответственно, 0,2, 0,4, 1,0, 2,4 и 4,8 мМ нитропрussa. Б. Зависимость ингибирования поглощения кислорода цитохромоксидазой от концентрации нитропрussa. Концентрация цитохрома с и цитохромоксидазы составляла соответственно 280 мкМ и 20 нМ.

тохромоксидазой в присутствии разных концентраций нитропрussa. Как видно из рисунка, добавление нитропрussa в реакционную смесь сопровождается ингибированием реакции. В контрольных экспериментах было получено, что в отсутствие восстановленного цитохрома с при концентрации нитропрussa до 4 мМ поглощения кислорода цитохромоксидазой не происходит. Из рисунка (Б) следует также, что при концентрации нитропрussa 0,16 мМ ингибирование цитохромоксидазной реакции составляет менее 10%, тогда как 50% ингибирование реакции наблюдается при концентрации нитропрussa

сида 8 мМ. Однако зависимость ингибирования от концентрации нитропруссиды имеет сложный характер, величина ингибирования возрастает быстро до концентрации нитропруссиды, составляющей 1,5 мМ. Затем, при дальнейшем увеличении концентрации, наблюдается медленное линейное возрастание ингибирования. Этот факт свидетельствует в пользу того, что нитропруссид, по всей вероятности, взаимодействует с двумя центрами фермента.

Таким образом, на основании полученных результатов можно заключить, что токсический эффект нитропруссиды может проявляться благодаря его непосредственному влиянию на цитохромоксидазу. Согласно литературным данным, допустимые дозы нитропруссиды не должны превышать 800 мкг/мин на 1 кг при внутривенной инфузии и 3,5 мг на 1 кг—при однократном введении [2]. На основании ингибирования нитропруssidом цитохромоксидазной реакции можно заключить, что при использовании нитропруссиды в качестве гипотензивного агента его концентрация в крови не должна превышать 50 мкг/мл (0,16 мМ).

Институт биохимии АН АрмССР

Поступила 2/X 1988 г.

Կ. Ա. ՄԱՐԿՈՍՅԱՆ, Ն. Հ. ՓԱՅՏՅԱՆ, Ռ. Մ. ՆԱԼԲԱՆԴՅԱՆ

ՆԻՏՐՈՊՐՈՍՍԻԴԻ ԱԶԻՆՑՈՒՄԸ ԳԻՏՈՔՐՈՄՈՔՍԻԴԱԶԻ ԿՈՂՄԻՑ ԹԹՎԱՄԵՆ ԳԵՐԱԿԱՆԳՆՄԱՆ ՌԵԱԿՑԻԱՅԻ ՎՐԱ

Ուսումնասիրված է նատրիումի նիտրոպրուսսիդի ազդեցությունը սրտի միտոքոնդրիումներից առաջված ցիտոքրոմօքսիդազի կողմից մոլեկուլյար թթվածնի վերականգնման ռեակցիայի վրա:

Հաստատված է, որ նատրիումի նիտրոպրուսսիդը արգելակում է ցիտոքրոմօքսիդազը: Առաջված տվյալների հիման վրա եզրակացված է, որ նատրիումի նիտրոպրուսսիդի կլինիկական կիրառման դեպքում նրա խտությունը արյան մեջ չպետք է գերազանցի 50 մկգ/մլ (0,16 մՄ):

K. A. MARKOSSIAN, N. A. PAITIAN, R. M. NALBANDYAN

THE EFFECT OF NITROPRUSSIDE ON THE REACTION OF OXYGEN REDUCTION BY CYTOCHROME OXIDASE

The effect of sodium nitroprusside on the reaction of molecular oxygen reduction by cytochrome oxidase from heart mitochondria has been studied. Sodium nitroprusside has been found to inhibit cytochrome oxidase. On the basis of the data obtained it was concluded, that concentration of sodium nitroprusside in blood in the clinical use must not be more than 50 mg/ml (0.16mM).

ЛИТЕРАТУРА

1. Маркосян К. А., Налбандян Р. М. Биохимия, 1978, 43, с. 1143.
2. Gilman A. G., Goodman L. S., Gilman A. In: The Pharmacological Basis of Therapeutics, Ed. L. S. Goodman and Gilman, s. 7-th ed. New York: McMillan Co., 1930, 805.

3. Ikeda S., Frank P. A., Schweiss J. H., Homan S. M. *Anesthesia and Analgesia*, 1988, 67, 360.
4. Leeuwenkamp O. R., Chin N. L. J., Van der Mark E. J., Van Bennekom W. P., Bult A. In: *Physicochemical, Analytical and Pharmacological Aspects of the Pentacyanonitrosylferrate (II) Ion (Nitroprusside)*. Ed. O. R. Leeuwenkamp, s-Gravenhage, 1985, 49.
5. Michenfelder J. D. *Anesthesiology*, 1977, 46, 196.
6. Nakamura S., Shin T., Hirokata Y., Shigematsu A. *Br. J. Anaesth.*, 1977, 49, 1239.
7. Nicholls P., Chance B. In: *Molecular Mechanisms of Oxygen Activation*. Ed. O. Hayashi. Acad. Press. New York-London, 1974, 479.
8. Schlant R. C., Tsagaris T. S., Robertson R. J. *Am. J. Cardiol.*, 1962, 9, 51.
9. Schulz K. D., Schulz K., Schulz G. *Nature (London)* 1977, 265, 750.
10. Tinker J. H., Michenfelder J. D. *Anesthesiology*, 1976, 45, 340.
11. Van Gelder B. F. *Biochem., Biophys. Acta.*, 1966, 118, 36.
12. Van Gelder B. F., Slater E. C. *Biochem.-Biophys. Acta*, 1962, 58, 593.
13. Voshikawa S., Orli Y. *Biochem. J.*, 1972, 71, 859.
14. Yu C., Yu L., King T. E. *J. Biol. Chem.*, 1975, 250, 1383.

УДК 612.42—018

А. В. ЗИЛЬФЯН, Х. С. САДЯН, В. Г. ХАЧАТРЯН, М. С. ПЕТРОСЯН,
М. И. ГЕВОРКЯН, С. Г. АРУТЮНЯН

ВЛИЯНИЕ ПРОДУКТОВ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ НА НЕКОТОРЫЕ СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПУТЕЙ МИКРОГЕМОЦИРКУЛЯЦИИ

Изучено влияние общего пула продуктов жизнедеятельности лимфоцитов (ПЖЛ) тимуса питательных крыс и его отдельных фракций на состояние путей микрогемодинамики. Установлено, что однократное внутривенное введение ПЖЛ и его III фракции сопровождается признаками повышенной сосудистой проницаемости, которая в значительной степени обусловлена дегрануляцией тканевых лаброцитов и усиленным поступлением в периваскулярное пространство гистамина.

Известно, что стимулированные митогенами и антигенами лимфоциты вырабатывают широкий спектр биологически активных веществ (БАВ), благодаря которым, в частности, осуществляются межклеточные взаимоотношения, процессы дифференциации и стимуляции в иммунной системе [10—12]. В настоящее время доминирует точка зрения, согласно которой гормоноподобные вещества и медиаторы, вырабатываемые в самой иммунной системе, рассматриваются в качестве БАВ, предназначенных исключительно для внутривенного пользования [6, 9]. Однако не исключено, что ПЖЛ могут функционировать и в качестве короткодистантных факторов, точкой приложения которых является не только иммунная, но и другие интегративные системы организма. Поскольку стимулированные в условиях *in vivo* и *in vitro* лимфоциты являются источником самых разнообразных по природе и точке приложения БАВ, нам представляется более целесообразным и обоснованным изучение продуктов жизнедеятельности именно «интактных» лимфоцитов. Подобная направленность исследований открывает широкие возможности изучения биологической роли