

А. Г. БАРАНОВ, А. Л. УРАКОВ

ВЛИЯНИЕ НИТРОГЛИЦЕРИНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ МИОКАРДА СОБАК

Прошло более века со времени применения нитроглицерина как одного из эффективных средств в лечении стенокардии, но механизмы его терапевтического действия все еще остаются невыясненными.

В настоящее время положительный эффект нитроглицерина при стенокардии объясняется не его расширяющим действием на коронарные сосуды [1, 3, 7—9], а возможным снижением энергетических потребностей сердца в кислороде [10, 11].

Данное сообщение посвящено изучению влияния нитроглицерина на энергетические процессы, протекающие в митохондриях интактного миокарда.

Методика исследования. Поставлено 26 опытов на беспородных собаках обоих полов весом 10—20 кг. Под морфино-гексеналовым наркозом с управляемым дыханием вскрывалась грудная клетка и перикард. Вырезался кусочек миокарда левого желудочка и помещался в ледяной физиологический раствор на 7 мин. для охлаждения и промывания. Затем ткань весом 3 г измельчалась ножницами, растиралась в фарфоровой ступке и переносилась в гомогенизатор Поттера к среде 0,225 М маннит, 0,075 М сахараза, 50 мМ трис-буфер, 1 мМ ЭДТА, рН 7,45 в соотношении 1:9. Гомогенизация продолжалась 1 мин. при 600 об/мин. Из гомогената выделяли митохондрии методом дифференциального центрифугирования на центрифуге ЦВР-1. Первое центрифугирование проводилось при 600 г в течение 10 мин., второе—при 10000 г в течение 10 мин. Полученные митохондрии суспензировали в среде 0,225 М маннит, 0,075 М сахараза, 5 мМ трис-буфер, рН 7,45 в соотношении 10:1 по отношению к исходному весу ткани. Все манипуляции, связанные с выделением митохондрий, проводились при 0—4°.

Дыхание митохондрий (5—7 мг/мл) определяли в инкубационной смеси (общий объем 1 мл) 0,225 М маннит, 0,075 М сахараза, 5 мМ трис-буфер, 3 мМ K_2HPO_4 , 0,5 мМ ЭДТА, рН 7,45 с помощью полярографа ПА-3. В качестве субстратов окисления применяли 5 мМ сукцинат, 10 мМ глютамат, 10 мМ альфакетоглутарат. АДФ вносили в количестве 200 мкМ. Нитроглицерин добавляли к митохондриям в терапевтической дозе $2 \cdot 10^{-6}$ г/мл.

Исследования проводились при комнатной температуре. Белок митохондрий определяли методом Лоури на ФЭК-М. Статистическая обработка результатов проведена при $P \leq 0,05$, принятом для медицинских и биологических исследований [2].

Результаты исследования. Как следует из табл. 1, окислительное фосфорилирование в митохондриях миокарда собаки наиболее интенсивно при использовании янтарной кислоты по сравнению с окислением глутаминовой и альфакетоглутаровой.

Таблица 1

Влияние нитроглицерина на дыхательную активность митохондрий интактного миокарда

Субстраты окисления	К о н т р о л ь					После введения нитроглицерина в дозе $2 \cdot 10^{-6}$ г/мл			
	V ₄	V ₃	ДК	АДФ/O ₂	АДФ/t	V ₄	V ₃	АДФ/O ₂	АДФ/t
Альфакетоглутарат	1,3574 ±0,139	3,604 ±0,417	2,68 ±0,25	2,461 ±0,319	8,606 ±0,879	1,360 ±0,305	3,4156 ±0,561	2,660 ±0,244	9,000 ±2,064
Сукцинат	3,6222 ±0,263	8,6621 ±0,950	2,377 ±0,24	1,5165 ±0,120	13,533 ±1,496	2,734 ±0,392	6,4210 ±0,367	1,200 ±0,095	8,0240 ±0,8960
Глутамат	1,2938 ±0,132	2,723 ±0,542	2,100 ±0,021	2,460 ±0,260	6,758 ±1,644	1,1181 ±0,115	1,9696 ±0,206	2,1050 ±0,230	3,7010 ±0,861

Примечание: Скорость окисления субстратов выражена в мкм O₂/сек. мл, скорость фосфорилирования— в мкм АДФ/сек. мл (при наличии белка митохондрий в ячейке 5—7 мг/мл).

Под влиянием нитроглицерина обнаружено угнетение окислительно-го фосфорилирования в митохондриях интактного миокарда при окислении глутамата и сукцината. На использование митохондриями альфа-кетоглутаровой кислоты лекарственный препарат в указанной концентрации не влиял.

Нитроглицерин приводит к уменьшению скорости окисления сукцината и глутамата (V_4), уменьшает скорость потребления кислорода в присутствии акцептора фосфата (V_3), уменьшает коэффициент АДФ/ O_2 , скорость фосфорилирования падает на 40 и 46% соответственно субстратам.

Обсуждение полученных результатов. При развитии паталогического процесса наблюдается более или менее сильное угнетение окисления янтарной кислоты и НАД — зависимых субстратов [4, 5]. Оно обладает характерными признаками щавелевоуксусного торможения, в частности, при ишемии миокарда снимается добавкой 1—2 мМ глутаминовой кислоты к среде инкубации. Предполагается, что ингибирование дыхания щавелевоуксусной кислотой является одной из реакций, протекающих при дефиците богатых энергией соединений. Обеспечивая предохранение дыхательной цепи от повреждений, в связи с разобщением дыхания, ингибирование сукцинатдегидрогеназы дает возможность накопления внутримитохондриальных, богатых энергией соединений, что ведет к нормализации митохондрий [6, 12].

Нитроглицерин в терапевтической концентрации угнетает интенсивность окисления сукцината и глутамата в митохондриях здорового сердца собак, переводя окислительное фосфорилирование на более низкий энергетический уровень, что способствует медленному расходованию сукцината и глутамата. В результате этого имеющиеся в миокарде субстраты окисления могут расходоваться в более длительный срок. Следствием снижения интенсивности свободного и фосфорилирующего окислений возможно снижение утилизации сердцем кислорода.

Таким образом, нитроглицерин регулирует окислительное фосфорилирование митохондрий здорового сердца, приводя к более экономному расходованию важнейших энергетических субстратов окисления: янтарной и глутаминовой кислот, «подготавливая», таким образом, митохондрии к патологии.

Можно предположить, что в результате регуляции использования сердцем глутамата и сукцината нитроглицерином до ишемии, а щавелевоуксусной кислотой — после ее наступления создаются условия наиболее экономной работы митохондрий, сказывающиеся на функциональной активности сердца, приводящие к увеличению его выживаемости.

Таким образом, результаты опытов объясняют успешное применение нитроглицерина с профилактической целью для предупреждения приступов стенокардии.

Выводы

1. Нитроглицерин активно вмешивается в окислительное фосфорилирование митохондрий интактного миокарда, что, возможно, является существенным звеном в механизме его действия.

2. Под влиянием нитроглицерина происходит более медленное использование митохондриями здорового сердца собак глютаминовой и янтарной кислот, что может создать некоторый относительный запас этих субстратов окисления и уменьшить потребность сердца в кислороде.

Ижевский государственный медицинский институт

Поступило 20/X 1977 г.

Ա. Գ. ԲԱՐԱՆՈՎ, Ա. Լ. ՈՒՐԱԿՈՎ

ՆԻՏՐՈԳԼԻՑԵՐԻՆԻ ԱՋԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՇՆԵՐԻ ՍՐՏԱՄՎԱՆԻ ՄԻՏՈՆՈՆԵՐԻԱՆԵՐԻ ՕՔՍԻԴԱՑՆՈՂ ՖՈՍՖՈՐԻԼԱՑՄԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ն փ ն ի մ

Յույց է արված նիտրոգլիցերինի ազդեցությունը ինտակտ սրտամկանի միտոխոնդրիաների օքսիդացնող ֆոսֆորիլացման վրա, որը հանգեցնում է սրտի կողմից թթվածնի սպառման նվազեցմանը:

A. G. BARANOV, A. L. URAKOV

INFLUENCE OF NITROGLYCERIN ON OXIDATIVE
PHOSPHORYLATION OF MYOCARDIAL MITOCHONDRIAS
IN DOGS

S u m m a r y

The influence of intact myocardial mitochondrias on oxidative phosphorylation, which leads to the reduction of heart oxygen consumption, is shown.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Андреев С. В., Чечулин Ю. С. Очерки по реактивности сердечно-сосудистой системы. М., «Медицина», 1965.
2. Бельский М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л., 1963.
3. Каверина Н. В. Кардиология, 1973, 12, 5.
4. Кондрашова М. Н. Митохондрии. М., «Наука», 1971, 25.
5. Кондрашова М. Н. Митохондрии. М., «Наука», 1969, 23.
6. Кондрашова М. Н., Ананенко А. А. В кн.: «Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом». М., «Наука», 1973, 106.
7. Незлин В. Е. Нарушение венозного кровообращения. М., 1955.
8. Чекман И. С., Казак Л. И. Врачебное дело, 1976, 5, 23.
9. Шхвацабая И. К. В кн.: «Ишемическая болезнь сердца». М., «Медицина», 1975, 213.
10. Minomidate et al. Jap. Pharmacol., 1973, 23, 126.
11. Rowe G. G., Chelius C. J. et al. J. Clin. Invest., 1961, 40, 1217.
12. Von R. W. Korff. Nature., 1967, 214, 5083.

