

УДК 612.172.4.014.423.018:612.434.14

В. И. Медведь

ВЛИЯНИЕ ВАЗОПРЕССИНА НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ПРЕДСЕРДИЯ *IN VITRO*

Одной из наиболее изученных моделей коронарной недостаточности является вазопрессиновая [1, 5, 6, 9, 13]. Подробно описаны в литературе электрокардиографические изменения, которые наступают при введении питуитрина и вазопрессина [1, 6, 13, 15]. При этом они связываются обычно лишь с возникающим при введении гормона спазмом коронарных сосудов. Действительно, многими авторами [4, 12, 13] прямо показано, что вазопрессин вызывает выраженное сужение сосудов миокарда. Между тем в отдельных работах [7, 14] было высказано мнение о возможности существования прямого, не опосредованного коронарными сосудами пути влияния гормона на миокард. Данные, представленные в этих работах, противоречивы и не дают достаточных оснований для решения вопроса о втором возможном пути действия вазопрессина на сердце.

Обращает на себя внимание также то, что при большом количестве исследований по изучению влияния питуитрина и вазопрессина на деятельность сердца (ритм, сократительная способность, проводимость, общая электрическая активность) до сих пор не были предприняты попытки изучить влияние этого гормона на отдельную миокардиальную клетку. Вместе с тем именно такой подход в опытах *in vitro* позволит выявить основу изменений функционального состояния миокарда. В связи с этим настоящее исследование посвящено изучению влияния вазопрессина на электрическую активность отдельных миокардиальных клеток предсердий в условиях *in vitro*.

Методика исследований

Опыты проводились на крысах линии Вистар в возрасте 6—8 мес. Животных забивали декапитацией, сердце быстро извлекали, и изолированные предсердия (обычно оба предсердия или только правое) помещали в оксигенированный раствор Тироде следующего состава: (ммоль) NaCl 137, KCl 2,6, CaCl₂ 1,8, MgCl₂ 1,05, NaHCO₃ 11,9, NaH₂PO₄ 0,4, глюкоза 5,5. Температура раствора 37°С, pH 7,35—7,40.

Мембранный потенциал (МП) отдельных клеток регистрировали с помощью микроэлектродов, изготовленных из стекла «Пирекс», заполненных 3М KCl с сопротивлением 15—40 МОм и собственным потенциалом кончика не более —5 мВ. МП отводили от одной клетки непрерывно на протяжении опыта и регистрировали с помощью чернильнопишущего прибора ЭПП-09. Усиление производили с помощью усилителя биопотенциалов фирмы «Nichon Kochden». Потенциалы действия (ПД) регистрировали с экрана осциллографа CI-18 с помощью фоторегистратора осциллограммы ФОР-1 при скорости движения пленки 10 см/с. Вазопрессин фирмы Koch Light Lab. Ltd. (Англия) вводили в раствор в дозах, создававших концентрацию 0,05—0,1 ед/мл.

Результаты исследований и их обсуждение

Вазопрессин в наших экспериментах приводил к двухфазному изменению разности потенциалов мышечных клеток предсердий: сначала наступала деполяризация, которая сменялась гиперполяризацией мембраны. При этом выраженность фаз и наличие каждой из них в отдельных опытах было неодинаково.

Наиболее типичная реакция характеризуется тем, что сначала через 0,5—1 мин после введения гормона наступает снижение МП, которое достигает максимума обычно к 3 мин. Деполяризация составляла в среднем $7,71 \pm 1,24$ мВ ($p < 0,01$). Затем МП восстанавливался и наступала вторая фаза его изменения — гиперполяризация. Увели-

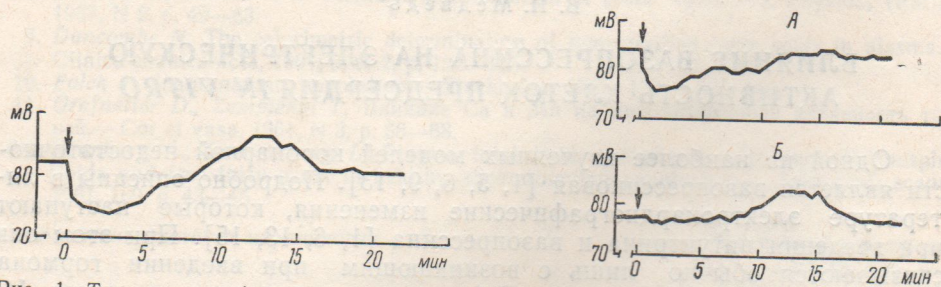


Рис. 1. Типичное двуфазное изменение МП клетки правого предсердия в ответ на введение вазопрессина (0,05 Е/мл).

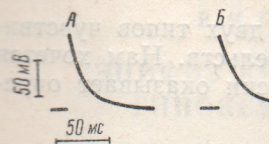
Рис. 2. Примеры однофазного изменения МП миокардиальной клетки в ответ на введение вазопрессина (0,05 Е/мл). А — деполяризация, Б — гиперполяризация.

чение МП составило в среднем $6,36 \pm 0,67$ мВ ($p < 0,01$) по сравнению с исходным ($80,5 \pm 0,9$ мВ). Время наступления максимума гиперполяризации в различных опытах колебалось от 8 до 15 мин, составляя в большинстве экспериментов 12—12,5 мин. Пример описанной реакции приведен на рис. 1 (кривая получена соединением точек, соответствующих величине МП через каждые 30 с в течение опыта; то же на рис. 2). Видно, что в ответ на введение в раствор вазопрессина МП исследуемой клетки стал снижаться и к 2,5 мин достиг 74 мВ (исходная разность потенциалов 82 мВ). Затем, постепенно восстанавливаясь, МП к 9 мин достиг исходного уровня после чего стал повышаться. На 12 мин разность потенциалов данной клетки составляла 86 мВ.

Из 23 опытов, проведенных на препаратах предсердий, подобная двуфазная реакция была отмечена в восьми экспериментах. В шести случаях за ранней деполяризацией не последовало повышения МП выше исходного уровня, и реакция ограничивалась однофазным снижением разности потенциалов. В пяти случаях клетка отвечала только гиперполяризацией, причем она наступала в те же сроки, что и в тех опытах, где ей предшествовала деполяризация, т. е. к 12—12,5 мин после введения. Примеры описанных реакций приведены на рис. 2. В четырех экспериментах МП клетки после введения вазопрессина не изменился. В подавляющем большинстве опытов после помещения в раствор изолированных предсердий, в них сохранялась спонтанная пейсмерная активность, частота которой составляла в среднем $187,8 \pm 8,5$ в мин. Вазопрессин не оказывал отчетливого влияния на частоту импульсной активности. Длительность потенциалов действия не претерпевала существенных изменений. В одном и том же опыте длительность ПД колебалась, несколько увеличиваясь и уменьшаясь. В среднем удлинение ПД составляло $14,05 \pm 3,64$ мс ($p > 0,05$), а укорочение $17,7 \pm 3,97$ мс ($p > 0,05$).

Изменения амплитуды потенциалов действия клеток предсердия под влиянием вазопрессина в определенной мере коррелирует со сдвигами мембранной разности потенциалов. В среднем на 3 мин после введения гормона амплитуда ПД снижалась на $5,04 \pm 1,4$ мВ ($p > 0,05$). МП клеток в этих экспериментах снижался на $5,07 \pm 0,72$ мВ.

В тех опытах, где н в период максимал средним составил 3, Пример зарегистрир вден на рис. 3. И



ности потенциалов в чине, т. е. амплитуда менений потенциала

Таким образом, нием вазопрессина м действия клеток пред

Как известно, ва хронотропным дейст in vitro, этот гормон дителя ритма. Это с на частоту сердечны го организма блужда исследований подтве опытах с ваготомией брадикардию, влияя ганглии в сердце.

Наибольший инт ция мембранного по что в ряде опытов б гиперполяризация поз личными механизмам ризация и гиперполя личные сроки. Как п снижение МП наступ ризация в более по также подтверждает граниченных во врем бранной проницаемос пах действия гормо анализ, не зависит о

Как известно, ме связан с активацией этапах системой цикл осмотического тока в браны. Вазопрессин клеточной мембраны ной АТФ-азы [3, 8]. действия гормона ка системы, специфичес ткани. Особенности м более на миокард до может, в миокарде с

В тех опытах, где нами были проанализированы потенциалы действия в период максимальной гиперполяризации, прирост амплитуды их в среднем составил $3,72 \pm 0,8$ мВ ($p > 0,05$), прирост МП — $4,8 \pm 0,43$ мВ. Пример зарегистрированных в опыте № 11 потенциалов действия приведен на рис. 3. Итак, видно, что сдвиги амплитуды ПД и раз-

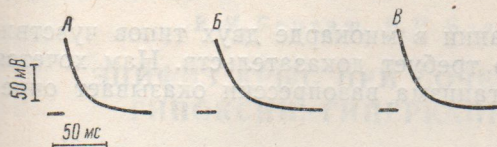


Рис. 3. Потенциал действия клетки изолированного правого предсердия.

А — исходный, Б, В — соответственно 3 и 12 мин после введения вазопрессина (0,05 Е/мл).

ности потенциалов в одних и тех же опытах весьма близки по величине, т. е. амплитуда ПД изменяется вследствие соответствующих изменений потенциала покоя при неизменном овершуте.

Таким образом, наряду с существенными изменениями под влиянием вазопрессина мембранного потенциала покоя сдвиги потенциала действия клеток предсердия незначительны.

Как известно, вазопрессин обладает выраженным отрицательным хронотропным действием [5, 6, 9, 13]. Как оказалось, в опытах *in vitro*, этот гормон не изменяет частоту спонтанной активности водителя ритма. Это свидетельствует о том, что влияние вазопрессина на частоту сердечных сокращений опосредовано в условиях целостного организма блуждающим нервом. В этой части результаты наших исследований подтверждают данные других авторов, показавших в опытах с ваготомией и атропинизацией [5], что вазопрессин вызывает брадикардию, влияя на тонус центров блуждающего нерва и нервные ганглии в сердце.

Наибольший интерес представляет описанная двуфазная реакция мембранного потенциала при введении вазопрессина. Тот факт, что в ряде опытов была отмечена только деполяризация или только гиперполяризация позволяет предполагать, что эти сдвиги связаны с различными механизмами. Обращает на себя внимание и то, что деполяризация и гиперполяризация в ответ на вазопрессин наступают в различные сроки. Как при двуфазной, так и при однофазной реакции снижение МП наступает, как правило, в более ранние, а гиперполяризация в более поздние сроки после введения вазопрессина. Это также подтверждает существование двух различных механизмов, разграниченных во времени, что, возможно, связано с изменением мембранной проницаемости и включением ионных насосов на разных этапах действия гормона. При этом характер реакции, как показал анализ, не зависит от исходного уровня потенциала покоя клетки.

Как известно, механизм специфического действия вазопрессина связан с активацией аденилциклазы и опосредован на последующих этапах системой циклического АМФ [2, 8]. Это приводит к усилению осмотического тока воды и изменению транспорта Na^+ через биомембраны. Вазопрессин при этом изменяет пассивную проницаемость клеточной мембраны и является активатором мембранной транспортной АТФ-азы [3, 8]. Следует сказать, что все данные о механизме действия гормона касаются его влияния на органы выделительной системы, специфичность которой не позволяет перенести их на другие ткани. Особенности механизма действия гормона на сосуды, а тем более на миокард до настоящего времени изучены крайне мало. Быть может, в миокарде существуют два типа структур, чувствительных к

вазопрессину, что и предопределяет два типа противоположных реакций. Нам представляется уместным привести здесь данные ряда авторов [10, 11] о влиянии на клетки сердечной мышцы серотонина. Серотонин вызывает как деполяризацию, так и гиперполяризацию мембраны миокардиальной клетки, что, как показано цитируемыми авторами, связано с наличием двух типов рецепторов — Н и D (hyperpolarization, depolarization).

Предположение о существовании в миокарде двух типов чувствительных к вазопрессину структур требует доказательств. Нам хочется лишь подчеркнуть, что и вне организма вазопрессин оказывает определенное влияние на миокард.

Литература

1. Головченко С. Ф. Возрастные особенности развития коронарной недостаточности под влиянием вазопрессина.— Бюл. exper. биол., 1976, 81, № 6, с. 647—650.
2. Наточин Ю. В. Современные представления о механизме клеточного действия антидиуретического гормона.— Проблемы эндокринологии, 1968, 14, № 4, с. 118—126.
3. Наточин Ю. В. Ионорегулирующая функция почки.— Л.: Наука, 1976.— 265 с.
4. Саноцкая Н. В. Влияние питуитрина на кровоснабжение и напряжение кислорода в миокарде.— Физиол. журн., СССР, 1973, 59, № 3, с. 450—454.
5. Фролькис В. В., Кульчицкий К. И., Милько В. И., Кузьминская У. А. Коронарное кровообращение и экспериментальный инфаркт миокарда.— К.: Госмедиздат, 1962.— 456 с.
6. Хаджай А. И. О питуитриновой модели коронарной недостаточности.— Фармакология и токсикология, 1961, 24, № 2, с. 227—233.
7. Heeg E., Meng K. Die Wirkung des Bradikins, Angiotensins und Vasopressins auf Vornof, Papilarmuskel und isoliert durchströmte Herzpräparate des Meerschweinchens.— Arch. exp. Path. Pharmacol., 1965, 250, N 1, s. 35—39.
8. Hays R. Antidiuretic hormone.— N. Engl. J. Med., 1976, 295, N 12, p. 659—665.
9. Heyndrickx G. R., Boettcher D. H., Vatner S. F. Effects of angiotensin, vasopressin and methoxamine on cardiac functions and blood flow distribution in conscious dogs.— Am. J. Physiol., 1976, 231, N 5, p. 1579—1587.
10. Hill R. B. Effects of 5-hydroxytryptamine on action potentials and contractile force in the ventricle of *Dolabella auricularia*.— J. exp. Biol., 1974, 61, N 5, p. 529—539.
11. Kiss T., Rozsa K. S. Pharmacological properties of 5-HT-receptors of the *Helix pomatia* L. (Gastropoda) heart muscle cells.— Comp. Biochem. Physiol., 1978, 61c, N 1, p. 41—46.
12. Maxwell G. M. The cardiovascular effects of octapressin.— Arch. int. Pharmacodyn., 1965, 158, N 1, p. 17—23.
13. Nakano J. Cardiovascular action of vasopressin.— Jap. Circulat. J., 1973, 37, N 4, p. 363—381.
14. Nacano J., Shackford J. S. Effect of synthetic vasopressin on the myocardial contractile force in the isolated guinea-pig atria.— Experientia, 1965, 21, N 4, p. 474—479.
15. Nikosake H., Fujiwara M., Toda N. Effects of 10-methoxydeserpedine on the ECG changes induced by vasopressin in unanesthetized rabbits.— Jap. J. Pharmacol., 1966, 15, N 1, p. 30—40.

Институт геронтологии АМН СССР, Киев

Поступила в редакцию
14.XII 1978 г.

V. I. Medved'

VASOPRESSIN EFFECT ON ELECTRIC ACTIVITY OF THE AURICLE CELLS IN VITRO

Summary

Vasopressin causes a biphasic change in the membrane potential (MP): first there is a decrease in MP values which is followed by the hyperpolarization of cells. In some experiments the monophasic depolarization or the monophasic hyperpolarization are registered. No significant changes in the value and form of the action potential are found. The conclusion is drawn on a possible direct effect of vasopressin on the myocardium. Two types of vasopressin receptors which determine two types of different reactions are supposed to exist in the myocardium.

ЭПИФИЗ КРЫС ГИПОКСИИ

Роль эпифиза при повторном воздействии окончательно не известна. Эпифиз на физиологическом уровне [8, 10, 11].

Нами проведено исследование нарастающими концентрациями O_2 и постоянным уровнем CO_2 с некоторыми биохимическими

Опыты проведены на 210 г четырех групп: I — контрольной, II — к 2-3° С с исследованием I и III групп соответствующего аналогичному опыту — IV группа. В I группе (МАО) по I группе окрашивали по Хэлми-срезам фиксировали 10 с ацидофильным синим, с ацидофильными срезами определяли флюорометрически.

Результаты

Эпифиз крыс при гипоксии (рис. 1, а) [10, 11].

При макроскопическом исследовании групп изменений

У крыс II группы железы. Увеличение выведения биологического кислорода и других газов сосудов обнаружено гранулами в цитоплазме ядра. Клетки имеют содержание углеводов. Функцию тучных клеток имеют проникающие неаллоциты крупные плазмоды (рис. 1, б) с ацидофильными