

УДК 612.671.3.018.2:615.357.814.34:612.884

С. Ф. Головченко

ВЛИЯНИЕ БОЛЕВОГО СТРЕССА У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ВАЗОПРЕССИНУ ГЛАДКИХ МЫШЦ АОРТЫ

Многочисленные данные свидетельствуют о значительных нейроэндокринных сдвигах в организме при осуществлении стрессовых реакций [10, 12, 18]. С возрастом характер этих нейроэндокринных сдвигов существенно меняется [9, 17]. В осуществлении стрессовых реакций в последние годы определенное значение придается вазопрессину [2, 6, 26, 27, 29]. Вместе с тем во всех этих работах исследуется только содержание вазопрессина в крови и не анализируются возможные в связи со стрессом изменения реакции сердца и сосудов к действию этого гормона.

Целью настоящей работы явилось сопоставление у животных разного возраста чувствительности сосудов к вазопрессину после хронического болевого стресса. Использование для этой цели изолированных гладких мышц аорты позволит определить не только пороги чувствительности сосудов к вазопрессину, но и оценить возрастные особенности взаимодействия гормона с их рецепторами.

Проведение подобного исследования на животных разного возраста диктуется тем, что при старении изменяется как содержание вазопрессина в крови [5, 7, 15], так и чувствительность к этому гормону сердечно-сосудистой системы [4, 15, 16].

Методика исследований

Опыты проводились на взрослых (10—12 мес) и старых (28—32 мес) белых крысах-самцах линии Вистар. Модель хронического болевого стресса воспроизводили у крыс раздражением их лапок (в специальной камере с проволочным полом) прерывистым электрическим током с помощью электростимулятора ИСЭ-01 напряжением 90 В, частотой — 20 имп/с, длительностью импульса — 25 мс, длительностью паузы — 20 с. Раздражение осуществляли в течение 3 мин три раза в сутки на протяжении 10 дней.

Для оценки чувствительности и сократительной способности гладких мышц сосудов к вазопрессину использована изолированная спиральная полоска аорты крыс, подготовленная по [25]. Аорту разрезали специально сконструированным приборчиком, позволяющим получать спиральную ленту с точно заданной шириной (2 мм). Спиральную ленту делили на участки длиной 30 мм для регистрации изотонических сокращений гладких мышц сосудов и 20 мм для регистрации изометрических сокращений. Участки полоски аорты укрепляли в инкубационных сосудах с кребс — рингеровским бикарбонатным буфером. Инкубация длилась 2 ч при температуре 37,5 °C, при непрерывной аэрации газовой смесью: 5 % CO₂ и 95 % O₂. Груз для растяжения полоски составлял 1 г. Смену кребс — рингеровского буфера осуществляли каждые 30 мин по [1].

Сокращения гладких мышц аорты крыс регистрировали на электропотенциометрах ЭПП-09 МЗ и КСП-4 с помощью изотонического преобразователя TD-111S (фирма Nihon Konden, Япония) с чувствительностью: 1 мм сокращения полоски соответствовал 100 мм на ленте прибора, а изометрические сокращения — с помощью механотрона 6MX1C, чувствительностью: 100 мг калибровочного веса соответствовало 50 мм на ленте.

Чувствительность и сократительную способность гладких мышц сосудов к вазопрессину изучали с помощью построения накопительных кривых доза — реакция, оценки которых производили по общепринятой методике [3, 8, 25], позволяющей оценить взаимодействие гормона с рецептором сосуда. Чувствительность полоски аорты крыс к вазопрессину определяли нахождением концентрации гормона, необходимой для получения минимальных сокращений [1, 25, 30]. За максимальные сокращения полоски аорты на вазопрессин принимали сокращения, возникающие при насыщении вазопрессинных рецепторов, что выражалось на кривой доза — реакция отсутствием дальнейшего роста сокращений при увеличении концентрации вазопрессина [24, 30], с сокра-

нением сократительной (адреналина, норадреналина) и вазопрессина — рецепторный эффект. Вазопрессин вызывает сокращения аорты крыс, а по вертикальной оси — сокращениям

В I серии опытов накопительных кривых действия вазопрессина показали, что при вазопрессине (рис. 1). И при дальнейшем дозе до достижения рецепторных случаев работы

Характеристика основных показателей

Показатели	
Пороговая концентрация вазопрессина (моль/л)	2,5 · 10 ⁻⁹
ЕД ₅₀ константа диссоциации (моль/л)	1,5 · 10 ⁻⁹
Величина максимальных сокращений на вазопрессин (в % к величине у взрослых в контроле)	100

n — число животных

Можно предположить, что группа рецепторов, определяющих действие вазопрессина на рецепторы полоски аорты, имеет минимальную ответную реакцию на вазопрессин ±6,5 % по сравнению с принятым за 100

нением сократительной способности при добавлении другого сосудосуживающего агента (адреналина, норадреналина, ангиотензина). ЕД₅₀ константа диссоциации комплекса вещество—рецептор, численно равную концентрации вазопрессина, вызывающей полумаксимальный эффект сокращения полоски, рассчитывали индивидуально для каждой полоски аорты крыс на графике, где по горизонтали откладывали логарифм концентрации гормона, а по вертикали — сокращения полоски, выраженные в процентах к максимальным сокращениям на вазопрессин у взрослых животных [8, 11, 30].

Результаты исследований и их обсуждение

В I серии опытов были зарегистрированы возрастные особенности накопительных кривых доза — реакция сокращения полоски аорты при действии вазопрессина у интактных крыс. Проведенные исследования показали, что гладкие мышцы аорты взрослых крыс начинают реагировать на вазопрессию при концентрации $2,8 \cdot 10^{-9}$ моль/л (см. таблицу), что соответствует данным литературы [19, 20, 24]. У старых крыс минимальные сокращения, до 10 % от максимального сократительного эффекта полоски аорты, наблюдались при значительно меньших концентрациях вазопрессина — $1,7 \cdot 10^{-12}$ моль/л. Дальнейшее добавление вазопрессина в возрастающей концентрации не вызывало сокращения полоски, наступала как бы «зона стабилизации реакции» (рис. 1). И лишь при достижении концентрации вазопрессина $5 \cdot 10^{-9}$ моль/л вновь возникал сократительный эффект, который при дальнейшем увеличении концентрации был пропорционален дозе до достижения максимальных сокращений, т. е. до полного насыщения рецепторов. «Зона стабилизации реакции» наблюдалась в 75 % случаев работы с полоской аорты старых крыс.

Характеристика основных показателей накопительной кривой доза—реакция сокращения гладких мышц аорты крыс на вазопрессин при разных условиях

Показатели	Взрослые			Старые		
	без предварительного воздействия (контроль) (n=12)	после стресса (n=6)	после аппликации норадреналина (n=6)	без предварительного воздействия (контроль) (n=12)	после стресса (n=7)	после аппликации норадреналина (n=4)
Пороговая концентрация вазопрессина (моль/л)	$2,8 \cdot 10^{-9}$	$1 \cdot 10^{-10}$	$1 \cdot 10^{-15}$	$1,7 \cdot 10^{-12}$	$1 \cdot 10^{-17}$	$1 \cdot 10^{-16}$
ЕД ₅₀ константа диссоциации (моль/л)	$1,5 \cdot 10^{-8}$	$2,5 \cdot 10^{-9}$	$1,9 \cdot 10^{-14}$	$1,5 \cdot 10^{-8}$	$3,3 \cdot 10^{-13}$	$1,8 \cdot 10^{-14}$
Величина максимальных сокращений на вазопрессин (в % к величине у взрослых в контроле)	100	$184 \pm 21,5$	$134,6 \pm 10,6$	$79,1 \pm 6,5$	$161,4 \pm 19,1$	$166,8 \pm 20,2$

n — число животных в опыте.

Можно предположить, что у старых животных обнаруживается группа рецепторов, высоко чувствительных к вазопрессину, их насыщение определяет «зону стабилизации реакции», а для основной группы вазопрессинорецепторов характерны те же пороги, что и для рецепторов полоски сосудов взрослых животных. Вместе с тем максимальная ответная реакция гладких мышц аорты старых крыс при полном насыщении вазопрессинорецепторов составляет только $79,1 \pm 6,5$ % по сравнению с максимальным ответом у взрослых животных, принятым за 100 %. Этот факт свидетельствует об уменьшении числа

с $1 \cdot 10^{-17}$ до $1 \cdot 10^{-7}$ моль/л. При этом сосудистая полоска сокращалась. После достижения максимального сократительного эффекта на норадреналин, полоску отмывали в растворе Krebs — Рингера в течение 40—60 мин, при этом происходило расслабление полоски до исходного состояния, после чего изучали ее реакцию на вазопрессин.

Проведенные исследования показали, что под влиянием предварительной аппликации норадреналина как у взрослых, так и у старых животных резко повышалась чувствительность гладких мышц аорты к вазопрессину с $2,8 \cdot 10^{-9}$ до $1 \cdot 10^{-15}$ и $1,7 \cdot 10^{-12}$ до $1 \cdot 10^{-16}$ моль/л соответственно (см. таблицу). Обращает на себя внимание и величина сокращения на эти минимальные концентрации вазопрессина. У животных обеих возрастных групп при концентрации вазопрессина $1 \cdot 10^{-13}$ — $1 \cdot 10^{-12}$ моль/л сокращение полоски достигало величин, характерных для максимальных сокращений у взрослых интактных крыс (рис. 2).

Исходя из представления, что эффект сокращения полоски сосуда пропорционален числу рецепторов, вступивших в реакцию [8, 11], можно предположить, что под влиянием норадреналина у старых животных увеличивается число высокочувствительных к вазопрессину рецепторов, и такие рецепторы появляются у взрослых животных.

Дальнейшее увеличение концентрации вазопрессина до $1 \cdot 10^{-10}$ моль/л обнаруживало «зону стабильной реакции» (рис. 2), и только при достижении концентраций вазопрессина $1 \cdot 10^{-8}$ — $1 \cdot 10^{-9}$ моль/л наблюдалось дальнейшее сокращение полоски, пропорционально дозе вазопрессина, до максимальных значений. В условиях предварительной аппликации норадреналина максимальные сокращения полоски на вазопрессин значительно увеличивались: у взрослых до $134,6 \pm 10,6$ %, у старых — до $166,8 \pm 20,2$ % по сравнению с максимальным сокращением полоски взрослых интактных крыс, принятым за 100 %.

Итак, проведенные исследования показали, что предварительная аппликация норадреналина существенно повышала чувствительность и сократительную способность сосудистых гладких мышц к вазопрессину. О синергизме действия вазопрессина и катехоламинов на сердечно-сосудистую систему известно давно [19, 20, 23]. Объяснение этим фактам находили в суммации их влияния на циклические нуклеотиды [22].

Механизм сенсibiliзирующего влияния болевого стресса и катехоламинов на действие вазопрессина, очевидно, связан также с изменением баланса ионов Ca^{2+} , обусловленного как перераспределением его внутриклеточного пула, сдвигами компартментализации, так и в определенной степени изменением поступления ионов Ca^{2+} , что в итоге неизбежно сказывается на состоянии актомиозинового комплекса [10]. Можно полагать, что катехоламины способствуют росту чувствительности сосудов к вазопрессину после стрессовых ситуаций.

Следовательно, в условиях стресса создаются предпосылки для более выраженного действия вазопрессина на сосуды: во-первых, растет концентрация вазопрессина в крови [5, 7, 15], во-вторых, как показывает настоящая работа, повышается чувствительность и сократительная способность гладкой мышцы сосудистой стенки к действию вазопрессина. Таким образом, при стрессе происходят сложные взаимоотношения гормонов не только на уровне центров [2, 12, 13], но и на периферии, в результате которых вазопрессин становится эффективным для сосудов уже при концентрациях обычно циркулирующих в крови ($1 \cdot 10^{-12}$ — $1 \cdot 10^{-13}$ моль/л). Как известно, вазопрессин вызывает спазм различных сосудистых областей [19, 20, 28], в том числе и коронарных [2, 4, 28]. Быть может, резкое повышение чувствительности сосудов к вазопрессину в условиях значительного роста его концентрации в крови при стрессе может стать одной из причин частого возникновения коронарных катастроф в этих ситуациях.

S. F. Golovchenko

EFFECT OF PAINFUL STRESS UPON AORTA SMOOTH MUSCLE
SENSITIVITY TO VASOPRESSIN IN RATS OF VARIOUS AGE

Summary

Age peculiarities of sensitivity and maximal contractile capacity of vessels to vasopressin have been studied under normal conditions and following daily 10-day painful stress in isolated aorta strips of adult (10-12 mo) and old (28-30 mo) rats. Painful stress induced a sharp increase in aorta strip sensitivity to vasopressin in old rats, as well as enhancement of aorta contractile capacity in animals of both age groups. The role of endogenous vasopressin in development of spasmic state of vessels is discussed in the age aspect.

Institute of Gerontology,
Academy of Medical Sciences, USSR, Kiev

Список литературы

1. Авакян О. М. Симпато-адреналовая система.— Л.: Наука, 1977.—183 с.
2. Балуева Т. В., Борисова Е. А., Теплов С. И. Об участии вазопрессина и адреналина в механизме рефлекторной коронарореконстрикции.— Физиол. журн. СССР, 1980, 66, № 4, с. 549—554.
3. Бельский М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта.— Л.: Медицина, 1963.—155 с.
4. Головченко С. Ф. Возрастные особенности развития коронарной недостаточности под влиянием вазопрессина.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1976, 81, № 6, с. 647—651.
5. Головченко С. Ф. Изменение содержания вазопрессина в крови у людей разного возраста.— В кн.: Тез. докл. II съезда эндокринологов УССР. Киев, 1977, с. 24.
6. Головченко С. Ф., Квитницкая-Рыжова Т. Ю. Влияние болевого стресса на активность гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системы и содержание вазопрессина в крови у животных разного возраста.— В кн.: Стресс и адаптация. Кишинев, 1978, с. 89—90.
7. Головченко С. Ф. Концентрация вазопрессина в крови у людей разного возраста при гипертонической болезни.— Пробл. эндокринологии, 1979, 25, № 4, с. 31—35.
8. Комиссаров И. В. Элементы теории рецепторов в молекулярной фармакологии.— Л.: Медицина, 1969.—215 с.
9. Матлина Э. Ш. Обмен катехоламинов в гормональном и медиаторном звеньях симпато-адреналовой системы при старении.— Успехи физиол. наук, 1972, 3, № 4, с. 92—130.
10. Меерсон Ф. З. Адаптация, стресс, профилактика.— М.: Наука, 1981.—275 с.
11. Тонких А. В. Роль гипоталамо-гипофизарной области и симпатoadреналовой системы в реакции организма при экстремальных (стрессорных) ситуациях.— Успехи физиол. наук, 1976, 7, № 2, с. 3—12.
12. Тонких А. В. Гипоталамо-гипофизарная область и регуляция физиологических функций организма.— Л.: Наука, 1968.—327 с.
13. Шалапина В. Г. О роли норадреналина мозга в регуляции гипоталамо-адреналовой системы.— В кн.: Физиология и биохимия биогенных аминов. М., 1969, с. 111—114.
14. Фролькис В. В., Головченко С. Ф., Пугач Б. В. Содержание вазопрессина в крови и чувствительность к нему сердечно-сосудистой системы при старении.— Физиол. журн. СССР, 1976, 62, № 4, с. 586—593.
15. Фролькис В. В., Головченко С. Ф., Богацкая Л. Н. и др. Роль вазопрессина в развитии патологии сердечно-сосудистой системы в старости.— Кардиология, 1976, № 12, с. 103—110.
16. Фролькис В. В., Свечникова Н. В., Вержиковская Н. В., Верхратский Н. С. Стресс, возраст и адаптация.— В кн.: Механизмы старения. Киев, 1963, с. 194—205.
17. Эскин И. А., Щедрина Р. И., Розенталь В. М. Катехоламины и гипоталамическая регуляция системы гипотиз—кора надпочечников.— В кн.: Физиология и биохимия биогенных аминов. М., 1969, с. 106—110.
18. Altura B. M. Neurohumoral substances in local regulation of blood flow.— Amer. J. Physiol., 1967, 212, N 6, p. 1447—1450.
19. Bartelstone H. J., Nasmyth P. A. Vasopressin potentiation of catecholamine actions in dog, rat, cat and aortic strip.— Amer. J. Physiol., 1965, 208, N 4, p. 754—762.
20. Altura B. M., Altura B. T. Vascular smooth muscle and neurohypophyseal hormones.— Fed. Proc., 1977, 36, N 6, p. 1853—1860.
21. Bartelstone H. J., Nasmyth P. A., Telford J. M. A possible role for adenosine 3',5'-phosphate in controlling the vascular response to noradrenaline.— J. Physiol. (London), 1967, 188, N 2, p. 159—176.
22. Berde B. Some observation on the circulatory effects of oxytocin, vasopressin and similar peptides.— In: Advances in oxytocin research. New York—London, 1965, p. 11—15.

23. Csaba G., Ronai A. oxytocin and vaso
24. Furchgott R. F. S arterial smooth m 186.
25. Kindler K. S., Wei soproressin concent
26. Mialhe C., Lutz B de differents type cuss., p. 171—172.
27. Nakano J. Studies macol. and Exp. Th
28. Ukai Mitsuo. Anti stimuli.— Med. J. C
29. Wyse D. G. Differer lated strips of art N 6, p. 348—355.

Институт геронтологии
АМН СССР, Киев

23. Csaba G., Ronai A., Laszlo V. et al. Amplification of hormone receptors by neonatal oxytocin and vasopressin treatment.—Horm. Metab. Res., 1980, 12, N 1, p. 28—31.
24. Furchgott R. F. Spiral-cut strip of rabbit aorta for in vitro studies of responses of arterial smooth muscle.—In: Methods in medical research. Chicago, 1960, 8, p. 177—186.
25. Kindler K. S., Weitzman R. E., Fisher D. A. The effect of pain on plasma arginine vasopressin concentrations in man.—Clin. Endocrinology, 1978, 8, N 2, p. 89—94.
26. Mialhe C., Lutz B. Liberation des hormones antidiuretique et corticotrope au cours de differents types d'aggressions.—Neuroendocrinologie, 1970, 12, p. 163—171. Discuss., p. 171—172.
27. Nakano J. Studies on the cardiovascular effects of synthetic vasopressin.—J. Pharmacol. and Exp. Therap., 1967, 157, N 1, p. 19—31.
28. Ukai Mitsuo. Antidiuretic hormone responses to surgical and experimental visceral stimuli.—Med. J. Osaka Univ., 1971, 21, N 2, p. 121—129.
29. Wyse D. G. Differential responses to transmural stimulation and vasopressin in isolated strips of artery and vein of human mesoappendix.—Blood Vessels, 1977, 14, N 6, p. 348—355.

Институт геронтологии
АМН СССР, Киев

Поступила в редакцию
04.03.81