

Результаты и их обсуждение

В первой серии опытов определяли содержание циклических нуклеотидов в препаратах ГМ сосудов после их инкубации в стандартном растворе Кребса. Результаты экспериментов показали (табл.), что содержание цАМФ и цГМФ в ГМ бедренной артерии и аорты зрелых крыс мало отличается ($P > 0,02$), так же как и содержание циклических нуклеотидов в ГМ воротной вены и нижней полой вены ($P > 0,02$). Вместе с тем, содержание цАМФ и цГМФ в венах зрелых крыс достоверно больше, чем в их артериях ($P < 0,05$). По мнению ряда авторов [5, 8], важным показателем метаболизма циклических нуклеотидов является отношение содержания цГМФ к содержанию цАМФ (цГМФ/цАМФ). По результатам, полученным нами, отношение для ГМ всех исследованных сосудов зрелых животных не отличается ($P > 0,02$) и составляет для ГМ аорты $0,07 \pm 0,02$, для ГМ бедренной артерии $0,1 \pm 0,03$, для ГМ воротной вены $0,09 \pm 0,03$ и для ГМ нижней полой вены $0,1 \pm 0,01$.

Содержание цАМФ в ГМ артерий и вен старых крыс (см. таблицу) достоверно не отличается от такового у зрелых животных ($P > 0,01$). У старых крыс, так же как и у зрелых содержание цАМФ в ГМ вен достоверно больше, чем в ГМ артерий ($P < 0,05$). Однако содержание цГМФ в ГМ исследованных сосудов больше, чем у зрелых ($P < 0,05$). Значения цГМФ/цАМФ в ГМ старых крыс увеличены по сравнению со значениями этого показателя в ГМ зрелых для бедренной артерии на $66 \% \pm 11 \%$, для аорты на $71 \% \pm 13 \%$, для воротной вены на $50 \% \pm 12 \%$ и для нижней полой вены на $50 \% \pm 15 \%$.

Таким образом, зрелые и старые животные отличаются содержанием циклических нуклеотидов в ГМ артерий и вен, однако цГМФ/цАМФ в ГМ исследованных сосудов для каждой возрастной группы остается одинаковым. С возрастом, по результатам наших наблюдений, не изменяется содержание цАМФ, но увеличивается цГМФ. В связи с этим увеличивается цГМФ/цАМФ в ГМ сосудов старых животных, что в определенной мере может свидетельствовать о преобладании одного из путей реализации гормонального сигнала.

Известно, что при действии вазопрессина в клетках почечных канальцев увеличивается содержание цАМФ [11], а в сердечных клетках уменьшается [3]. Мы использовали раствор вазопрессина, концентрация которого составляла $5 \cdot 10^{-5}$ Ед/мл. При перфузии этого раствора в ГМ воротной вены наблюдалось усиление спонтанной сократительной активности, а в ГМ бедренной артерии, аорты и нижней полой вены развивалась деполяризация и тоническое сокращение [4, 9]. Пятиминутная инкубация ГМ различных сосудов зрелых и старых животных в таком растворе (см. таблицу) не приводила к изменениям содержания цАМФ ($P > 0,02$). Следует отметить, что в культуре клеток Swiss 3T3 воздействие вазопрессина также не приводило к увеличению содержания цАМФ и активации аденилатциклазы [7].

В следующей серии опытов определяли содержание цГМФ в ГМ исследуемых сосудов после инкубации в растворе Кребса, содержащем вазопрессин ($5 \cdot 10^{-5}$ Ед/мл). После такого воздействия наблюдали достоверное увеличение ($P < 0,05$) содержания цГМФ в венах и артериях зрелых и старых животных (см. таблицу), однако у старых животных более выражено увеличение содержания этого нуклеотида по сравнению со зрелыми ($P < 0,05$). Под действием вазопрессина цГМФ/цАМФ у зрелых животных в ГМ бедренной артерии увеличилось на $110 \% \pm 9,7 \%$, в ГМ аорты — на $57 \% \pm 11 \%$, в ГМ воротной вены — на $133 \% \pm 13 \%$, в ГМ нижней полой вены — на $120 \% \pm 12,6 \%$; цГМФ/цАМФ у старых животных в ГМ бедренной артерии увеличилось на $166 \% \pm 8,3 \%$, в ГМ аорты — на $92 \% \pm 10 \%$, в ГМ воротной вены — на $233 \% \pm 15,6 \%$, в ГМ нижней полой вены — на $226 \% \pm 14,6 \%$. У старых животных наблюдали более значительное увеличение цГМФ/цАМФ по сравнению с таковыми у зрелых: в ГМ бедренной ар-

терии на $90\% \pm 9,5\%$, ГМ аорты — на $109\% \pm 9,6\%$, в ГМ воротной вены — на $133\% \pm 11,2\%$, в ГМ нижней полой вены — на $122\% \pm 10,3\%$

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при действии вазопрессина на ГМ сосудов не изменяется содержание цАМФ и возрастает — цГМФ. После инкубации препаратов ГМ в растворе гормона одной и той же концентрации увеличение содержания цГМФ более выражено в препаратах ГМ сосудов старых животных, что коррелирует с большей степенью выраженности возбуждающих реакций на вазопрессин при перфузии препаратов ГМ из сосудов старых животных.

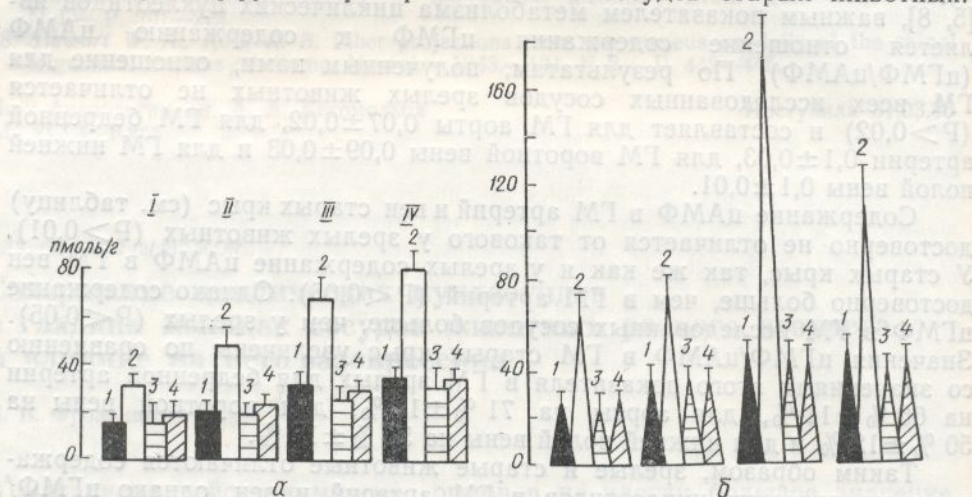


Рис. 1. Влияние метиленового синего на вызываемое вазопрессином ($5 \cdot 10^{-5}$ Ед/мл) изменение содержания цГМФ в гладких мышцах аорты (I), бедренной артерии (II), воротной вены (III) и нижней полой вены (IV) зрелых (а) и старых (б) крыс:

1 — исходное содержание цГМФ; 2 — после инкубации с вазопрессином, 3 — после инкубации с метиленовым синим (а — 10^{-7} моль/л, б — 10^{-6} моль/л), 4 — после совместной инкубации с метиленовым синим и вазопрессином.

Полученные результаты подтверждают точку зрения о том, что гормоны могут разнонаправленно либо избирательно изменять количество цАМФ и цГМФ. По-видимому, действие вазопрессина на содержание того или иного циклического нуклеотида является органоспецифическим. Об участии цГМФ в реализации возбуждающего действия вазопрессина свидетельствуют и опыты, проведенные с использованием метиленового синего, являющегося, по данным Katsuki (цит. по [10]), блокатором гуанилатциклазы. Как видно на рис. 1, а, пятиминутная инкубация ГМ артерий и вен зрелых животных в растворе, содержащем

Содержание циклических нуклеотидов в гладких мышцах сосудов зрелых и старых крыс

Условие преинкубации препаратов ГМ сосудов	Бедренная артерия		Аорта
	цАМФ	цГМФ	цАМФ
Зрелые (6-8 мес)			
Стандартный раствор Кребса	$245 \pm 29,1$ n=14	$25,0 \pm 4,3$ n=10	$243 \pm 27,4$ n=13
Раствор Кребса, содержащий лизин-вазопрессин ($5 \cdot 10^{-5}$ Ед/мл)	$227 \pm 48,3$ n=12	$48,3 \pm 5,1$ n=10	$266 \pm 31,5$ n=12
Старые (26-28 мес)			
Стандартный раствор Кребса	$262 \pm 29,0$ n=12	$39,4 \pm 3,8$ n=12	$230 \pm 25,3$ n=10
Раствор Кребса, содержащий лизин-вазопрессин ($5 \cdot 10^{-5}$ Ед/мл)	$228 \pm 26,7$ n=11	$75,2 \pm 5,2$ n=13	$276 \pm 34,0$ n=14

Примечания. Концентрация цАМФ и цГМФ выражена в пикомоль на грамм влажной массы

метиленовый
ниям содер
метиленовым
нений содер
прессина ме
вотных (см.
концентраци
Перфузия
держанием



Рис. 2. Влияние метиленового синего на уровень мембранного потенциала перфузированной артерии: 1 — исходное состояние, 2 — после перфузии метиленовым синим

состояние
вазопрессина
тивности, р
ратах ГМ з
вызывает у
ной вены
слабления
в ГМ сосу
вого синего
сосудов ст
метиленовым
действия, о
направлени
Таким
предотвращ
ГМ артерии

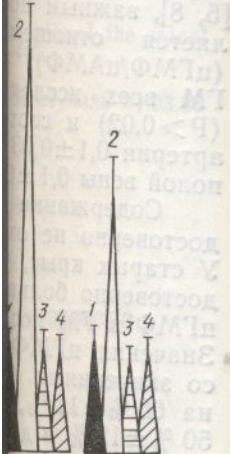
его изменение под д

Условие	цГМФ
Зрелые (6-8 мес) животные	
Стандартный раствор Кребса	$14,9 \pm 3,2$ n=12
Раствор Кребса, содержащий лизин-вазопрессин ($5 \cdot 10^{-5}$ Ед/мл)	$30,8 \pm 5,1$ n=11
Старые (26-28 мес) животные	
Стандартный раствор Кребса	$27,6 \pm 4,3$ n=13
Раствор Кребса, содержащий лизин-вазопрессин ($5 \cdot 10^{-5}$ Ед/мл)	$66,2 \pm 6,8$ n=16

ГМ; достоверность

Физиол. журн.

в ГМ воротной
олой вены — на
что при действии
ние цАМФ и воз-
растворе гормона
ния цГМФ более
, что коррелирует
реакций на вазо-
старых животных.



($5 \cdot 10^{-5}$ Ед/мл) из-
й артерии (II), во-
крыс:

осле инкубации с ме-
нкубации с метиле-

том, что гор-
ять количество
на содержание
органоспецифи-
действия вазо-
использованием
(цит. по [10]),
иминутная ин-
е, содержащем

зрелых и старых крыс и

	Аорта	
	цАМФ	цГМФ
Зрелые (6—8)		
243±27,4		
n=13		
266±31,5		
n=12		
Старые (26—28)		
230±25,3		
n=10		
276±34,0		
n=14		

а грамм влажной массы

1987, т. 33, № 5

метиленовый синий (10^{-7} моль/л), не приводит к достоверным изменениям содержания цГМФ. Последующее комплексное воздействие метиленовым синим и вазопрессином ($5 \cdot 10^{-5}$ Ед/мл) не вызывает изменений содержания цГМФ. Аналогичный блокирующий эффект вазопрессина метиленовым синим наблюдается и в ГМ сосудов старых животных (см. рис. 1, б), однако для этого необходима более высокая концентрация метиленового синего — 10^{-6} моль/л.

Перфузия ГМ воротной вены и бедренной артерии раствором, содержащим (10^{-7} моль/л) метиленового синего, не влияет на исходное

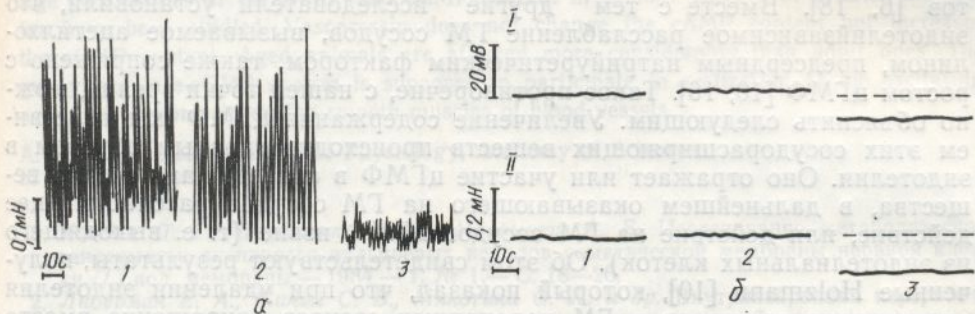


Рис. 2. Влияние метиленового синего ($5 \cdot 10^{-7}$ моль/л) на вызываемые вазопрессином изменения спонтанной сократительной активности гладких мышц воротной вены (а), уровня мембранного потенциала (I) и тонического напряжения (II) гладких мышц бедренной артерии (б) зрелых крыс:

1 — исходное состояние, 2 — состояние после перфузии метиленовым синим, 3 — состояние после совместной перфузии метиленовым синим и вазопрессином.

состояние препаратов, однако предотвращает обычно вызываемые вазопрессином ($5 \cdot 10^{-5}$ Ед/мл) усиление спонтанной сократительной активности, развитие деполаризации и тонического сокращения в препаратах ГМ зрелых животных. Более того, в таких условиях вазопрессин вызывает угнетение спонтанной сократительной активности ГМ воротной вены зрелых животных, а также развитие гиперполяризации и расслабления ГМ бедренной артерии (см. рис. 2, а, б). Подобную блокаду в ГМ сосудов старых крыс вызывает применение раствора метиленового синего концентрацией 10^{-6} моль/л, т. е. на порядок больше. В ГМ сосудов старых животных в условиях предварительной перфузии метиленовым синим вазопрессин не оказывает своего активирующего действия, однако не наблюдается течение реакций в противоположном направлении, как это происходит в ГМ сосудов зрелых животных.

Таким образом, блокатор гуанилатциклазы метиленовый синий предотвращает вызываемый вазопрессином рост содержания цГМФ в ГМ артерий и вен зрелых и старых крыс и блокирует активирующее

его изменение под действием вазопрессина, пмоль/г

	Воротная вена			Нижняя полая вена	
	цГМФ	цАМФ	цГМФ	цАМФ	цГМФ
мес) животные					
14,9±3,2	350±47,8	31,5±5,6	346±49,2	35,5±4,8	
n=12	n=10	n=12	n=11	n=11	
30,8±5,1	374±44,0	78,8±8,2	366±30,4	81,7±7,6	
n=11	n=12	n=10	n=12	n=10	
мес) животные					
27,6±4,3	320±12,2	48,7±3,6	325±57,0	49,8±4,6	
n=13	n=12	n=13	n=12	n=10	
66,2±6,8	320±46,1	170,5±11,3	322,5±29,9	113,4±12,4	
n=16	n=11	n=18	n=12	n=14	

ГМ; достоверность изменений Р указана в тексте; n—число исследуемых животных.

действие вазопрессина на функциональные свойства ГМ сосудов. Для оказания блокирующего действия метиленового синего в ГМ старых животных необходима более высокая его концентрация.

Результаты проведенных экспериментов дают возможность предположить, что активирующее действие вазопрессина на ГМ сосудов связано с увеличением содержания цГМФ. В литературе имеются противоречивые данные о роли изменений содержания цГМФ в функционировании гладких мышц. Так, рядом исследователей показано увеличение содержания цГМФ в ГМ во время действия сокращающих агентов [6, 18]. Вместе с тем другие исследователи установили, что эндотелийзависимое расслабление ГМ сосудов, вызываемое ацетилхолином, предсердным натрийуретическим фактором, также сопряжено с ростом цГМФ [10, 16]. Такое противоречие, с нашей точки зрения, можно объяснить следующим. Увеличение содержания цГМФ под действием этих сосудорасширяющих веществ происходит главным образом в эндотелии. Оно отражает или участие цГМФ в синтезе какого-либо вещества, в дальнейшем оказывающего на ГМ сосудов расслабляющее действие, или действие на ГМ сосудов цГМФ извне (т. е. выходящего из эндотелиальных клеток). Об этом свидетельствуют результаты, полученные Holzmann [10], который показал, что при удалении эндотелия ацетилхолин вызывает в ГМ коронарных сосудов сокращение вместо расслабления, сопровождающееся увеличением содержания цГМФ.

В литературе имеются данные [12] о том, что различные нитросоединения, расслабляя сосуды, ведут к увеличению содержания цГМФ внутри гладкомышечных клеток. Однако в таких случаях, вероятно, происходит активация внутриклеточной гуанилатциклазы, которая, возможно, связана с иными компартментами клетки, чем гуанилатциклаза плазматических мембран ГМ, на которую, по нашим предположениям, действует вазопрессин. Вследствие этого эффекты увеличения содержания внутриклеточного цГМФ различны.

При исследовании влияния инъекций цГМФ на нейроны моллюска было показано увеличение натриевой проводимости и возникновение входящего натриевого тока [2, 17]. Это дает возможность предположить, что установленное увеличение цГМФ при действии вазопрессина может вызывать вход натрия в клетки, вероятно, путем фосфорилирования ТТХ-чувствительных натриевых каналов гладкомышечных клеток сосудов и что гуанилатциклаза сопряжена с V_1 -рецепторами вазопрессина, опосредующими его активирующее действие на ГМ сосудов.

Более выраженный рост цГМФ в ГМ сосудов старых животных и необходимость применения более высоких концентраций метиленового синего для блокады этого эффекта действия вазопрессина свидетельствуют о большей чувствительности системы гуанилатциклазы — цГМФ к воздействию вазопрессина в старости.

Выводы

1. Содержание циклических нуклеотидов (цАМФ и цГМФ) в ГМ вен больше, чем в ГМ артерий, однако отношение в них содержания цГМФ к содержанию цАМФ достоверно не изменено.

2. С возрастом содержание цАМФ в ГМ сосудов не изменяется, а содержание цГМФ увеличивается.

3. Под действием вазопрессина в ГМ исследуемых сосудов количество цАМФ не изменяется, а цГМФ увеличивается у старых животных больше, чем у зрелых.

4. Применение блокатора гуанилатциклазы метиленового синего предотвращает вызываемое вазопрессином увеличение содержания цГМФ, а также вызываемые гормоном электрические и сократительные реакции в ГМ сосудов. Для ГМ старых животных необходима более высокая концентрация метиленового синего.

5. Система гуанилатциклазы — цГМФ принимает участие в активирующем действии вазопрессина на ГМ сосудов. В ГМ сосудов ста-

рых живот
гормона, б

THE CONTE
OF BLOOD
AND VASOP

I. V. Frolkis

Age peculiari
ins have bee
the cGMP co
guanylatcycl
action of vas

A. A. Bogom
of the Ukrain

1. Костюк
зависимо
ки // Био

2. Либерман
ка инфор
инъекции
физика.—

3. Медведь
миокарде
С. 632—

4. Фролкин
сосудов /
Тез. докл

5. Amer M
on // Life

6. Andersso
smooth r

7. Collins
genic res
P. 1924—

8. Dunhan
tide con
P. 815—

9. Frolkis
Symposi
Oct. 1988

10. Holzmann
rises in
8, N 6.—

11. Johnston
Topics i
1984.— P

12. Ignarro
dilatatio
P. 306—

13. Kononen
injection
current

14. Liddle
mon acti
P. 306—

15. Ohlstein
relaxatio
P. 306—

16. Rasmuss
nes // P

17. Schutz
function
1973.— I

18. Solntsev
snail p
N 2.— P

19. Sutherland
177, N 4

Ин-т физио
АН УССР,

Физиол. жу

рых животных изменения, происходящие в этой системе под действием гормона, более выражены.

THE CONTENT OF CYCLIC NUCLEOTIDES IN THE SMOOTH MUSCLES
OF BLOOD VESSELS IN THE UNEVEN-AGED ANIMALS
AND VASOPRESSIN ACTION ON IT

I. V. Frolkis

Age peculiarities of the cAMP and cGMP content in smooth muscles of arteries and veins have been studied. Vasopressin does not change the cAMP content but increases the cGMP content. Aged animals are affected more considerably than adult ones. The guanylatcyclase-cGMP system is supposed to participate in realization of the exciting action of vasopressin on the smooth muscles of blood vessels.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Academy of Sciences
of the Ukrainian SSR, Kiev

1. Костюк П. Г., Дорошенко П. А., Мартынюк А. Е. Исследование метаболической зависимости активности кальциевых каналов соматической мембраны нервной клетки // Биол. мембраны.— 1984.— 1, № 1.— С. 18—26.
2. Либерман Е. А., Минин С. В., Мякотина О. Л. и др. Внутринейронная переработка информации. Увеличение натриевой и уменьшение калиевой проницаемости при инъекции циклического нуклеотида и механическом раздражении нейрона // Биофизика.— 1985.— 30, № 4.— С. 632—636.
3. Медведь В. И. Влияние вазопрессина на содержание цАМФ и простогландинов в миокарде животных разного возраста // Докл. АН УССР. Сер. Б.— 1980.— № 2.— С. 632—636.
4. Фролькис И. В. Некоторые механизмы влияния вазопрессина на гладкие мышцы сосудов // Науч. конф. Укр. респ. о-ва патофизиологов (Запорожье, окт. 1985): Тез. докл.— Запорожье: Б. и., 1985.— С. 143.
5. Amer M. S. Cyclic nucleotides in disease and biochemical etiology of hypertension // Life Sci.— 1975.— 17, N 7.— P. 1021—1038.
6. Andersson R., Nilson K., Wikberg K. et al. Cyclic nucleotides and contraction of smooth muscle // Adv. Cycl. Nucleotide Res.— 1975.— 82, N 5.— P. 491—518.
7. Collins M., Rozengurt E. Vasopressin induces selective desensitization of its mitogenic response in Swiss T3T cells // Proc. Nat. Acad. Sci., USA.— 1983.— 80, N 4.— P. 1924—1928.
8. Dunhan E. W., Haddox M. K., Goldberg N. D. Alteration of vien cyclic 3'5' nucleotide concentration during changes in contractility // Ibid.— 1974.— 51, N 3.— P. 815—819.
9. Frolkis I. V. The vasopressin action on vessel's smooth muscles // III International Symposium on physiology and pharmacology of smooth muscle (Bulgaria, Varna, Oct. 1985): Abstr. of papers.— Sofia, 1985.— P. 49.
10. Holzmann S. Endothelium-induced relaxation by acetylcholine associated with larger rises in cyclic GMP in coronary arterial strips // J. Cycl. Nucleotide Res.— 1982.— 8, N 6.— P. 409—416.
11. Johnston C. I., Imai Y., Woods B. L. Regulation of blood pressure by vasopressin // Topics in pastophysiology of hypertension.— Boston: Martinus Nijhof Publishers, 1984.— P. 486—489.
12. Ignarro L. G., Gruetter C. A., Hyman A. L. et al. Molecular mechanisms of vasodilatation // Dopamine receptor agonists.— New York; London, 1984.— P. 259—288.
13. Kononenko N. I., Kostuc P. G., Shcherbatco P. M. The effect of intercellular cAMP injection on stationar membrane conductance and voltage and time-dependent ionic current in indentified snail neurons // Brein Res.— 1983.— 286, N 3.— P. 321—338.
14. Liddle G., Hardman J. G. Cyclic adenosine monophosphate as a mediator of hormone actions // New Eggl. J. Med.— 1971.— 285, N 11.— P. 560—566.
15. Ohlstein E. H., Berkowitz B. A. Cyclic guanosine monophosphate mediates vascular relaxation induced by atrial natriuretic factor // Hypertension.— 1985.— 7, N 2.— P. 306—310.
16. Rasmussen H. T., Tannenhase A. Cyclic adenosine phosphate, Ca^{2+} and membranes // Proc. Nat. Acad. Sci., USA.— 1968.— 59, N 3.— P. 1361—1370.
17. Schutz G., Hardman J. G., Sutherland E. W. Cyclic nucleotides and smooth muscle function // Physiology, immunopharmacology and treatment.— New York; London, 1973.— P. 123—137.
18. Solntseva R. S., Bezrukova L. V. Intracellular injection of cAMP and cGMP into snail neurones induces increase in Na^{+} -conductance.— Experientia.— 1985.— 41, N 2.— P. 252—254.
19. Sutherland E. W. Studies on the mechanism of hormone action // Science.— 1972.— 177, N 4043.— P. 40—48.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 28.10.86