

УДК 591.112.1

## ПОДАВЛЕНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ АЦЕТИЛХОЛИНА В РАБОЧЕМ МИОКАРДЕ ПРЕДСЕРДИЯ ТРЕСКИ

© 2008 г. Д. В. Абрамочкин, М. А. Сурис, Г. С. Сухова, академик Л. В. Розенштраух

Поступило 20.11.2007 г.

Парасимпатическая регуляция чрезвычайно важна для нормальной работы сердца позвоночных животных. Ацетилхолин (АЦХ), медиатор постганглионарных парасимпатических нейронов, воздействует на миокард через мускариновые рецепторы, вызывая уменьшение длительности потенциала действия (ПД), снижение силы сокращений, а также множество других эффектов [1, 2]. При этом действие АЦХ в предсердном миокарде у большинства позвоночных значительно сильнее, чем в желудочковом [1–3]. В рабочем предсердном миокарде млекопитающих АЦХ вызывает выраженное укорочение ПД, но практически не влияет на амплитуду ПД [3]. Совсем иная картина наблюдалась в предсердии лягушки [4, 5]. Различные участки рабочего миокарда предсердия лягушки по-разному реагируют на высокие концентрации АЦХ или стимуляцию парасимпатических постганглионарных нервов. В одних зонах предсердия наблюдается сильное укорочение ПД при слабом уменьшении амплитуды, в то время как в других АЦХ вызывает постепенное уменьшение амплитуды ПД вплоть до полного подавления электрической активности. В результате в предсердии лягушки под действием АЦХ образуются невозбудимые участки, вокруг которых может происходить циркуляция возбуждения по типу re-entry [4, 5]. Несмотря на то, что в рабочем миокарде предсердий млекопитающих никогда не происходит возникновения невозбудимых зон под действием АЦХ, сходная картина наблюдается в синусовом узле млекопитающих [6], где также предполагается участие невозбудимых областей в аритмогенезе. В связи с этим феномен ацетилхолиндуцируемой невозбудимости предсердного миокарда представляет

большой интерес как в фундаментальном, так и в практическом отношении.

Поскольку млекопитающие и амфибии сильно различаются по реакции предсердий на АЦХ возникает вопрос, является ли это различие общим между низшими (рыбы и амфибии) и высшими позвоночными? Для выяснения этого мы провели изучение влияния АЦХ на параметры электрической активности в рабочем предсердном миокарде беломорской трески (*Gadus morhua marisalbi*).

### МЕТОДИКА

Работа проводилась на Беломорской биостанции МГУ.

Все эксперименты проводились в августе. В работе использовали 11 особей мелкой (100–200 г) трески (*Gadus morhua marisalbi*). Треску отлавливали и до эксперимента держали в сеточном садке в море. Рыбу декапитировали и вырезали сердце, которое помещали в физиологический раствор для морских рыб следующего состава (в моль/л): NaCl 150, KCl 5.14, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 1, NaHCO<sub>3</sub> 25, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 1.8, CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 1.25, глюкоза 5 [7]. Раствор в течение всего эксперимента продували карбогеном (газовая смесь 95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>), температуру раствора поддерживали на уровне 10°C при помощи термостата Нааке F3 (Германия). Показано, что именно такая температура является физиологической для трески в это время года [8].

В ходе препаровки выделяли предсердие, которое вскрывали и закрепляли внутренней стороной вверх в перфузионной камере. В девяти опытах пейсмекер, находящийся у трески в сино-атриальном нодальном кольце [8], удаляли и с помощью стимулирующих электродов, помещенных на поверхность препарата, навязывали ритм 1 Гц. В двух экспериментах препарат оставляли с пейсмекером. В камере поддерживался постоянный проток оксигенированного раствора со скоростью 10 мл/мин. В таких условиях препарат может нормально функционировать многие часы, в

Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова

Институт экспериментальной кардиологии  
Российского кардиологического  
научно-производственного комплекса  
росмедтехнологий, Москва

**Таблица 1.** Основные параметры ПД до воздействия АЦХ. Первая группа (выраженное снижение амплитуды ПД под действием АЦХ),  $n = 6$ . Вторая группа (слабое снижение амплитуды),  $n = 3$

Параметры	Группа	
	Первая	Вторая
Амплитуда ПД, мВ	99.2 ± 4.8	102.1 ± 3.5
Длительность ПД 50%, мс	208.9 ± 18.7	221.3 ± 12.5
Максимальная скорость переднего фронта ПД, В/с	17.2 ± 3.7	39.2 ± 5.1

течение которых не наблюдается каких-либо изменений в его работе.

Для регистрации ПД миокарда трески использовался стандартный микроэлектродный метод внутриклеточной регистрации. Сигнал регистрировался на компьютере с помощью программы L-graph (L-card, Россия). После 1 ч суперфузии нормальным раствором подавался раствор, содержащий АЦХ ("Sigma") в концентрации 0.5 мкМ, в течение 5 мин, затем 15 мин препарат отмывали нормальным раствором, после чего следовал раствор с более высокой концентрацией. На каждом пре-

парате изучали действие АЦХ в концентрациях 0.5, 1, 5, 10 и 50 мкМ. При этом отведения электрической активности делали в одной и той же точке в каждом препарате. При обработке записей оценивалась амплитуду ПД, их длительность на уровне 50% реполяризации и изменение этих показателей под действием АЦХ. Достоверность различий выявляли с помощью теста Вилкоксона для связанных выборок.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

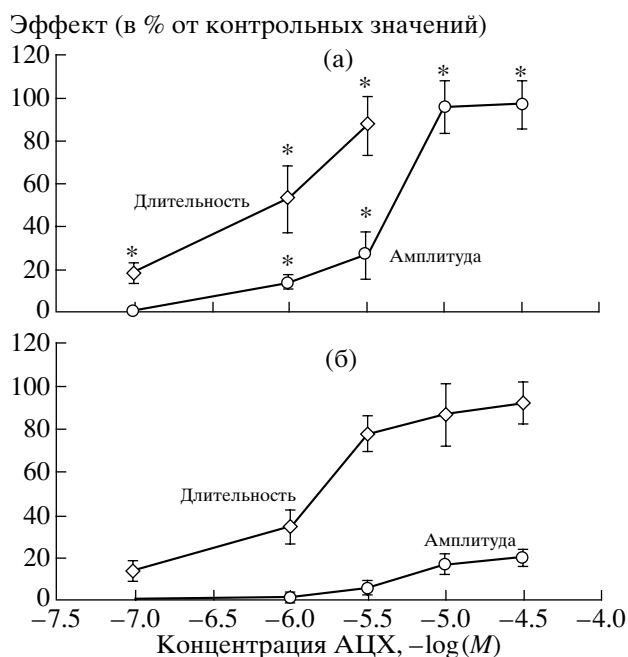
Абсолютные значения амплитуды, длительности и максимальной скорости переднего фронта ПД указаны в табл. 1. АЦХ в указанных концентрациях вызывал дозозависимое уменьшение длительности ПД во всех препаратах. При этом в шести из девяти препаратов, работавших в навязанном ритме, АЦХ вызывал также ярко выраженное снижение амплитуды ПД. В трех препаратах АЦХ в высоких концентрациях вызывал лишь слабое снижение амплитуды. Таким образом эксперименты можно разделить на две группы по характеру реакции на АЦХ. Отметим, что между этими группами наблюдалось также различие по исходной крутизне переднего фронта ПД (табл. 1). Она была значительно выше в тех препаратах, где амплитуда слабо менялась при аппликации АЦХ.

На рис. 1 показаны кривые доза-эффект для препаратов, работавших в навязанном ритме. Видно, что в первой группе (рис. 1а) АЦХ в больших концентрациях (10 и 50 мкМ) вызывает столь сильное снижение амплитуды ПД, что регистрируемые маленькие пики скорее всего являются электротоническими потенциалами. В связи с этим длительность этих потенциалов не оценивалась. Подавление ПД под действием 10 мкМ АЦХ показано на рис. 2а. Во второй группе АЦХ дает лишь небольшое снижение амплитуды ПД – до 20.7% при действии максимальной концентрации АЦХ (рис. 1б).

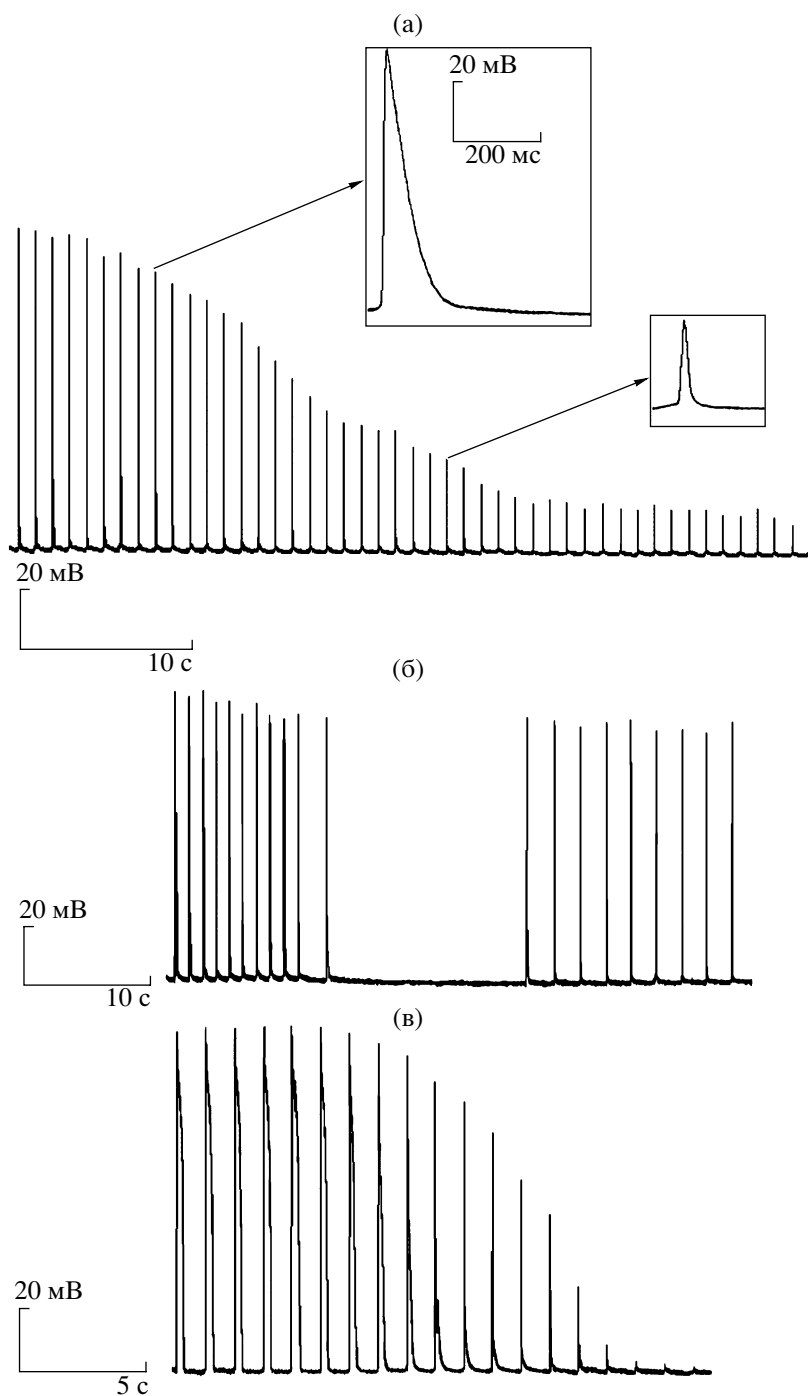
В двух экспериментах, поставленных на препаратах, работающих в синусовом ритме, наблюдалось такое же различие в реакции на АЦХ. В первом опыте происходило подавление электрической активности (см. рис. 2б) при незначительном замедлении синусового ритма. Во втором наблюдалось слабое уменьшение амплитуды, сопровождавшееся замедлением ритма вплоть до остановки, длившейся в течение 16 с, после которой электрическая активность продолжилась в замедленном ритме (рис. 2в).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Поскольку в каждом эксперименте мы осуществляли отведение активности только в одной точке препарата, можно предположить, что раз-



**Рис. 1.** Дозозависимое уменьшение длительности ПД и уменьшение амплитуды ПД под действием ацетилхолина. По оси ординат: укорочение и уменьшение амплитуды ПД в % от контрольных величин соответственно длительности и амплитуды ПД, а – группа с выраженным уменьшением амплитуды ПД при действии АЦХ,  $n = 6$ , звездочкой отмечено – достоверное отличие от контрольной величины, тест Вилкоксона,  $p < 0.05$ . б – группа со слабым уменьшением амплитуды,  $n = 3$ .



**Рис. 2.** Примеры оригинальных записей. а – подавление электрической активности под действием 10 мкМ АЦХ в препарате, работающем в навязанном ритме; б – в собственном ритме. в – возобновление активности после кратковременной паузы в участке препарата, где ПД не подавляются 10 мкМ АЦХ; препарат работает в собственном ритме.

личие между двумя группами препаратов отражает разницу между участками предсердия по реакции на АЦХ. Таким образом, как и в случае лягушки, в предсердии трески существуют зоны, теряющие возбудимость под действием высоких концентраций АЦХ, в то время как остальная часть предсердия продолжает оставаться возбу-

димой. Поскольку точки, где возникает невозбудимость, встречались нам чаще (в 7 из 11 случаев), вероятно, что площадь, занимаемая невозбудимыми зонами больше, чем площадь участков, где активность сохраняется при действии высоких концентраций АЦХ. Определить размеры и конфигурацию невозбудимой области с помощью

микроэлектродного метода невозможно, для достижения этой цели предполагается применить оптическое картирование.

Важно отметить, что нами продемонстрирована не одномоментная потеря активности, а постепенное ее угасание. При этом в эксперименте с синусовым ритмом уменьшение амплитуды ПД сопровождается лишь незначительным замедлением ритма, т.е. прекращение активности не связано с остановкой пейсмекера, а является следствием воздействия АЦХ на рабочий предсердный миокард. Прекращение активности в предсердии лягушки под действием стимуляции вагуса было показано еще в работе [9], по всей видимости, авторы наблюдали обсуждаемое нами явление, однако оно не было прокомментировано.

Итак, в нашей работе впервые продемонстрировано подавление электрической активности в рабочем миокарде предсердия рыбы под действием АЦХ. Ранее косвенные свидетельства этого явления были предоставлены в работе [10] на изолированных кардиомиоцитах форели, но авторы не обсуждали эти данные. Представляет интерес ионный механизм описанного нами явления, так как считается, что передний фронт ПД в миокарде рыбы формируется в первую очередь за счет натриевого входящего тока [11], при этом натриевый ток в кардиомиоцитах высших позвоночных не подвержен влиянию АЦХ [12]. Имеем ли мы в случае с предсердием рыбы дело с особым натриевым током, который подавляется под действием АЦХ?

Какое значение имеет описанное нами явление? С одной стороны, ясно, что прекращение активности под действием АЦХ не может происходить во всем предсердии, так как в этом случае прекратится проведение возбуждения от пейсмекера к желудочку. Поэтому в участках, составляющих при воздействии АЦХ проводящий путь от водителя ритма к атриовентрикулярному соединению, активность сохраняется. Прочие же участки под действием АЦХ могут отключаться.

С другой стороны, появление невозбудимых областей может приводить к возникновению предсердных тахикардий [4, 5]. Мы ни разу не наблюдали это в наших экспериментах, однако на возможность ацетилхолининдуцируемых аритмий у рыб указывает работа [13], сделанная на предсердии тилапии.

Таким образом, наши данные позволяют предположить, что низшие позвоночные отличаются от высших по характеру реакции предсердного миокарда на АЦХ.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Harvey R.D., Belevych A.E.* // Brit. J. Pharmacol. 2003. V. 139. P. 1074–1084.
2. *Dhein S., Van Koppen C.J., Brodde O.* // Pharmacol. Res. 2001. V. 44. № 3. P. 161–182.
3. *Hoffman B.F., Cranefield P.F.* Electrophysiology of the heart. N.Y.: McGraw-Hill, 1960. 390 p.
4. *Розеництраух Л.В., Холопов А.В., Юшманова А.В.* // Биофизика. 1970. Т. 15. № 4. С. 690–700.
5. *Розеництраух Л.В., Юрьев С.А., Юшманова-Ракова А.В., Удельнов М.Г.* // Физиол. журн. СССР. 1967. Т. 53. № 7. С. 800–808.
6. *Fedorov V.V., Hucker W.J., Dobrzynski H. et al.* // Amer. J. Physiol. 2006. V. 291. P. 612–623.
7. *Hoglund L., Gesser H.* // Comp. Biochem. and Physiol. 1987. V. 87A. № 3. P. 543–546.
8. *Лукьянов А.Н., Сухова Г.С., Удельнов М.Г.* // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1983. Т. 19. № 3. С. 231–236.
9. *Hutter O.F., Trautwein W.J.* // Gen. Physiol. 1956. V. 39. № 5. P. 715–733.
10. *Molina C.E., Gesser H., Llach A. et al.* // Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2007. V. 292. P. 388–395.
11. *Haverinen J., Vornanen M.* // J. Exp. Biol. 2006. V. 209. P. 549–557.
12. *Iijima T., Irisawa H., Kameyama M.* // J. Physiol. 1985. V. 359. P. 485–501.
13. *Lin T., Hou Z., Liu H. et al.* // Clin. and Exp. Pharmacol. and Physiol. 2000. V. 27. P. 330–338.