

Catedra de fiziologie a I.M.F. din Tg.-Mureș (cond.: conf. Gh. Arsenescu)

**ACȚIUNEA ACETILCOLINEI (ACH) ȘI A NORADRENALINEI (NA) IN DOZE DIFERITE, ASUPRA POTENȚIALULUI DE REPAUS (PR) ȘI DE ACȚIUNE (PA) AL VENTRICULULUI DE BROASCĂ NORMAL, SAU IN CONDIȚII HIPODINAMICE PROVOCATE PRIN RĂCIRE**

Gh. Arsenescu, M. Sabău

Cercetările cu microelectrozi au adus date noi în electrofiziologia miocardului, dar au ridicat și noi probleme, ca de exemplu acțiunea excitatoare a ACH (31, 32), rolul cuplului electromecanic (1, 2, 3, 4, 5, 22, 23, 26, 45, 46), rolul metabolismului intracelular etc. Rezultatele obținute cu microelectrozi diferă adesea de cele obținute prin electrozi aspirativi, dat fiind că aceștia din urmă, deși dau rezultate similare cu cele menționate mai sus (27), duc frecvent la înregistrarea unor artefacte și la posibilități de eroare, dacă nu au o construcție adecvată (15). Majoritatea rezultatelor cu microelectrozi sînt obținute pe fascicul miocardic de broască, al excitației cu ritm impus. Din cercetările asupra nervului se cunoaște deja influența metabolismului intracelular asupra schimburilor ionice de membrană (24, 25) și asupra fenomenului de excitație (44), ca și influența temperaturii scăzute asupra acestor fenomene (24, 25). Aceste acțiuni sînt confirmate și la nivelul miocardului (6, 8, 9). Cercetări mult mai vechi au demonstrat că și la nivelul mușchiului procesele metabolice intracelulare joacă rol în polarizarea membranei (10, 30, 35).

În unele laboratoare broaștele de experiență sînt păstrate în condiții durabile de frig, chiar și în sezoanele călduroase, pe cînd în altele se utilizează în aceste sezoane broaște strîne recent. Dar modificările durabile de temperatură produc și ele variații ale echipamentului biochimic și ale schimburilor ionice de membrană (25). Se știe în plus, că există mari diferențe sezoniere în conținutul de glicogen, fosfagen etc. al mușchiului de broască (10, 30, 35), (ca de exemplu: efectul creatinice inversat al lui *Quensel*, 35). De aceea este de așteptat ca cercetarea acțiunii diferitelor substanțe asupra miocardului de broască să ducă la rezultate diferite, în funcție de condițiile experimentale și de sezon.

*Segers* (37) a arătat că ACH are asupra miocardului în repaus efect de sens invers în comparație cu miocardul bătînd. Deci chiar activitatea indusă la ritm constant, prin modificările metabolice respective, poate să influențeze acțiunea substanței. *Danielopolu* (16) a descris pe cord izolat de broască, acțiunea de sens invers a mediatorilor chimici în raport cu doza, asupra proprietăților fundamentale ale miocardului. Cercetări anterioare (7) ne-au arătat că în cazul polarizării electrice a cordului și modificările de frecvență cardiacă sînt de sens invers în raport cu intensitatea curenților polarizant.

#### Metoda

Plecînd de la ipoteza că acțiunea unor substanțe asupra fenomenelor electrice de membrană, poate fi diferită atît sub raportul dozei cit și a reactivității tisulare (starea metabolică), ne-am propus să cercetăm acțiunea diferitelor substanțe în raport cu doza aplicată și cu starea metabolică tisulară. Pentru cercetările noastre am ales deocamdată două variante: cord normal (proaspăt) și cord hipodinamic (menținut timp de 12—36 ore la temperatura de  $-4^{\circ}$  C). Acțiunea noradrena-

linei asupra preparatului proaspăt s-a cercetat pe broaște procurate în octombrie, iar restul experiențelor s-au efectuat pe broaște procurate în luna decembrie. De la procurarea broaștelor din mediul lor natural, trecuseră maximum 7 săptămâni. Înainte de experiență fragmentul miocardic ventricular era menținut în repaus, în soluție Ringer oxigenată, timp de aproximativ o oră. Pentru experiență, fragmentul de miocard a fost instalat într-o baie cu volum de 5 ml, conținând soluție Ringer oxigenată în continuu. În această baie se adăugau aproximativ 10—15 picături din substanța de cercetat. Fragmentul miocardic a fost menținut în repaus, excitații electrice s-au aplicat direct, izolat și intermitent, de fiecare dată numai de câteva ori, pentru a se evita activitatea musculară ritmic provocată. S-au utilizat micropipete cu diametrul exterior de 0,5—1 micron, umplute cu soluție de clorură de potasiu 3M, având rezistența de maximum 20 Megohmi. Excitații electrice au fost dreptunghiulare, cu durata de 0,5 msec. Înregistrările s-au executat oscilografic, de manieră clasică, folosind repetitorul catodic, amplificatorul CC etc.

## Rezultate

### I. Cercetări asupra preparatului normal (proaspăt)

A. **Acțiunea ACH.** De regulă ACH (fig. 1) produce creșterea potențialului de repaus (PR) (hiperpolarizare), cu scurtarea duratei potențialului de acțiune (PA), a fazei sale ascendente, și micșorarea platoului. Fig. 1: A — înainte de ACH (PR—67 mV); B — după ACH  $1 \cdot 10^{-7}$  (PR—79 mV). Rezultatele corespund celor din literatură (11, 12, 13, 39, 40, 41, 43, 47).

Deși produce asupra PA modificările cunoscute, din ce în ce mai accentuate în raport cu doza, ACH în doze mici (fig. 2) poate produce uneori o ușoară scădere a PR (depolarizare), și numai în doze mai mari produce creșterea PR. Fig. 2: A — înainte de ACH (PR—65 mV); B — după ACH  $1 \cdot 10^{-7}$  (PR—62 mV); C — după ACH  $1 \cdot 10^{-6}$  (PR—73 mV); D — după ACH  $1 \cdot 10^{-2}$  (PR—80 mV).

Alteori efectul hiperpolarizant (de creștere a PR), produs de o doză mare de ACH, poate fi precedat de o fază tranzitorie de scădere a PR (efect de doză mică) (fig. 3). Fig. 3 A: A1 normal la începutul experienței (PR—68 mV); A2 în primele secunde după ACH  $1 \cdot 10^{-3}$  se produce depolarizare (PR—65 mV); A3 efect de durată hiperpolarizant al dozei de ACH  $1 \cdot 10^{-3}$  (PR—76 mV). Durata PA scade treptat, ca și overshootul (ovsh); faza ascendentă devine mai abruptă. Fig. 3 B: B1 — după spălarea preparatului PR revine aproximativ la forma și mărimea inițială (70 mV); B2 — după ACH  $1 \cdot 10^{-6}$  se produc modificările cunoscute ale PA și creșterea PR (80 mV) fără a mai trece prin faza inițială de scădere a PR.

Trebuie remarcate două fenomene: 1. Efectul de sens invers al dozelor mici se pune în evidență numai la PR; 2. Noțiunea de doză mică este arbitrară. Astfel ACH  $1 \cdot 10^{-7}$  produce în figura 1 creșterea PR, la fel ca și dozele mai mari, pe când în fig. 2 produce scăderea PR. Totuși acest efect de sens invers în raport cu doza, sau în faza inițială a unor doze mari, care țin probabil și de echipamentul biochimic miocardic, se întâlnește relativ frecvent, fapt datorită căruia trebuie luat în considerare.

B. **Acțiunea NA.** Fig. 4: A — înainte de NA (PR 60 mV); B — după NA  $1 \cdot 10^{-6}$  se produce o creștere a PR (67 mV) odată cu creșterea duratei PA și a ovsh. Rezultatele corespund celor din literatură (34, 38, 39, 42, 43, 44); C — în doze foarte mari  $1 \cdot 10^{-3}$  se produce o scădere a PR (54 mV), cu o alungire și mai accentuată a duratei PA și cu creșterea și mai marcată a ovsh.

### II. — Cercetări asupra preparatului hipodinamic (prin păstrare la rece, +4° C)

A. **Acțiunea ACH.** a) Asupra fasciculului ventricular ținut timp de 36 ore la  $-4^{\circ}$  C (fig. 5). ACH produce așa numitul potențial inversat: scăderea PR (21, 31, 32, 41), cu scăderea duratei PA și a ovsh. Scăderea PR este precedată uneori de o fază tranzitorie de creștere a PR. Fig. 5: A — înainte de ACH (PR 83 mV); B — după ACH  $1 \cdot 10^{-6}$  se produce o scădere a PR (76 mV) (fig. 5), C — precedată de

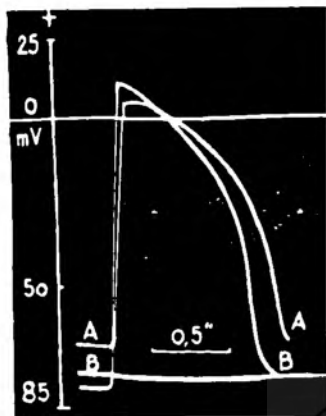


Fig. nr. 1: Acțiunea acetilcolinei (ACH) asupra potențialului de repaus (PR) și asupra potențialului de acțiune (PA) al fascicului ventricular normal de broască. A normal. B după ACH la  $1.10^{-7}$ .

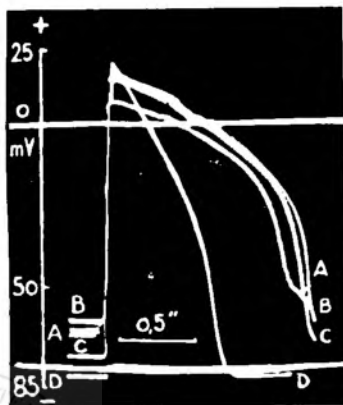


Fig. nr. 2: Acțiunea ACH asupra PR (PA) al fascicului ventricular normal de broască. A normal. B după acetilcolină  $1.10^{-7}$ . C. după ACH  $1.10^{-1}$ . D. După ACH  $1.10^{-2}$ .

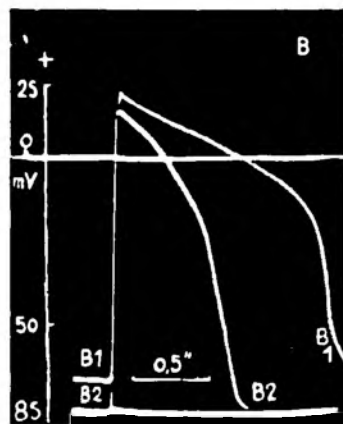
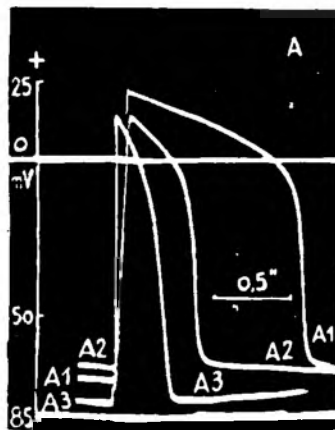


Fig. nr. 3: Acțiunea ACH asupra PR și PA al fascicului ventricular normal de broască. A. A 1: normal. A 2: în primele secunde după ACH  $1.10^{-3}$ . B. B 1: după spălarea preparatului, B 2: după ACH  $1.10^{-6}$ .

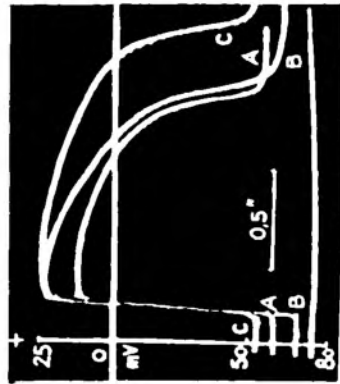


Fig. nr. 4: Acțiunea noradrenalinei (NA) asupra PR și PA al fascicului ventricular normal de broască. A: normal. B: după NA  $10 \cdot 1.10^{-6}$ . C: după NA  $1.10^{-3}$

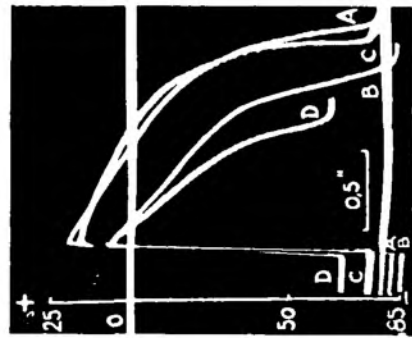


Fig. nr. 5: Acțiunea ACH asupra PR și PA al fascicului ventricular de broască ținut la  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ . 36 sec. A: înainte de ACH, B: în primele secunde după ACH  $1.10^{-6}$ . C: acțiunea ulterioară a dozei de  $1.10^{-4}$ , D: după ACH  $1.10^{-4}$ .

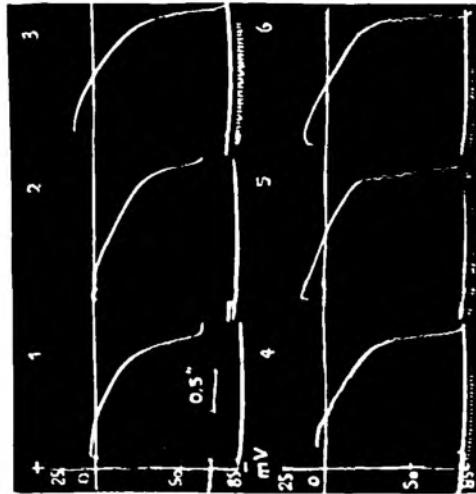


Fig. nr. 6: Acțiunea NA asupra PR și PA al fascicului ventricular de broască ținut la  $+4^{\circ}\text{C}$ . 24 sec. 1: înainte de NA, 2: după NA  $1.10^{-7}$ , 3: după NA  $1.10^{-6}$ , 4: după NA  $1.10^{-4}$ , 5-6: după NA  $1.10^{-3}$ .

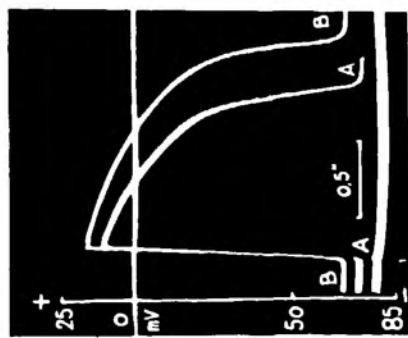


Fig. nr. 7: Acțiunea NA asupra PR și PA al fascicului ventricular de broască ținut la  $+4^{\circ}\text{C}$ . 12 sec. A: înainte de NA, B: după NA  $1.10^{-6}$ .

o fază tranzitorie de hiperpolarizare PR—86 mV (fig. 5B). Dozele mari produc o accentuare a depolarizării; fig. 5D — după ACH 1.10<sup>-4</sup> (PR—66 mV).

b) Asupra preparatului menținut timp de 12 ore la +4°C, ACH produce aceleași efecte ca și asupra preparatului normal (hiperpolarizare etc.).

B. Acțiunea NA. a) Asupra preparatului ținut timp de 24 ore la +4°C, NA produce hiperpolarizare (creșterea PR) fără alungirea evidentă a duratei PA, dar cu alungirea platoului și creșterea ovsh. pentru toate dozele de la 1.10<sup>-7</sup> până la 1.10<sup>-3</sup> (fig. 6).

b) Asupra preparatului ținut timp de 12 ore la +4°C, NA produce o scădere a PR (fig. 7), de la 71 mV (7 A) la 66 mV (7 B), cu alungirea duratei PA și creșterea ovsh.

### Discuții

În general rezultatele noastre concordă cu cele din literatură, dar în plus rezultă următoarele: 1. Posibilitatea obținerii unui efect de sens invers (scăderea PR) pentru dozele mici de ACH asupra ventriculului normal, și uneori existența unui efect tranzitoriu inițial de hiperpolarizare, care precede acțiunea de scădere a PR în cazul aplicării ACH asupra miocardului ținut la rece. 2. Asupra miocardului normal, dozele mici de NA produc hiperpolarizare, iar cele mari depolarizare. Efectul din urmă poate fi legat și de creșterea consumului de oxigen al miocardului, provocată de NA. Asupra miocardului ținut la rece, NA produce de regulă hiperpolarizare, dar uneori și depolarizare. 3. Efectele ACH asupra PA diferă de cele obținute prin NA, chiar când cele asupra PR sînt de același tip. Acest fenomen este greu de explicat. Se poate trage concluzia, că efectele de sens invers asupra PR, atît ale ACH cît și ale NA, nu depind numai de condițiile metabolice ale miocardului (miocard proaspăt sau hipodinamic), ci și de doză. De asemenea este dificil de interpretat, de ce ACH care provoacă creșterea PR, are asupra PA efecte similare cu cele produse de dinitrofenol (13), cianuri (6, 8), acid monooxalic (6, 8, 13), sau de lipsa de oxigen (6, 8, 19, 38).

Cercetările noastre nu sînt suficiente de numeroase pentru a permite interpretări, avînd în vedere mai ales faptul, că ele au fost efectuate numai pe broaște procurate toamna și la începutul iernii. Credem că cercetările pe miocard de mamifer, al cărui echipament biochimic nu are variații sezoniere, ar putea duce la rezultate mai concludente. De altfel, condițiile metabolice ale fasciculelor miocardice izolate diferă foarte mult de cele ale miocardului in situ. De asemenea trebuie luate în considerare rezultatele în legătură cu metabolismul intracelular, cuplul electromecanic etc. (14, 17, 18, 19, 20, 26, 36). Pentru lămurirea fenomenelor ne propunem cercetări similare comparative pe broaște procurate în diferite sezoane, cît și pe miocardul de mamifer, atît prin microelectrozi cît și prin electrozi aspirativi. Este probabil ca ipoteza lui Hutter și Noble (28, 29, 33) să poată contribui la interpretarea acestor fenomene atît de variate în aparență.

Sosit la redacție: 13 februarie 1965.

### Bibliografie

1. ANTONI H., ENGSTFELD G., FLECKENSTEIN A.: Pflüg. Arch. (1960), 272, 91; 2. ANTONI H., ENGSTFELD G.: Verhdt. dtsh. Gesellschaft für Kreislaufforschung, Ed. Dietrich Steinkopff, 1961, 232; 3. ANTONI H.: XXII. Internat. Congr. Physiol. Sciences, Leyden, 1962, vol. I, 192; 4. ANTONI H., DELLIUS W.: Pflüg. Arch. (1963), 278, 11; 5. ANTONI H., ROTMANN TH.: Pflüg. Arch. (1964), 279, R. 10; 6. ARSENESCU GH., ZAMFIRESCU N., CONSTANTINIU I., TEODORINI S., FELBERG B.: Reuniunea de cardiologie, București, 1955, 16—17; 7. ARSENESCU GH., ZAMFIRESCU N., FELBERG B., TEODORINI S.: Fiziol. Norm. și Patol. (1958), 5, 449; 8. ARSENESCU GH., VOICULESCU V., IONESCU V., TEODORINI S., FELBERG B., CONSTANTINIU I.: Stud. și Cercet. Fiziol. (1958), III, 155; 9. ARSENESCU GH., VOICULESCU V., FELBERG B., ZLOTESCU A.: Stud și Cercet. Fiziol. (1959), IV, 169; 10. BECKMAN T.: Pflüg. Arch. (1934), 234; 11.

BURGEN A.S.V., KATHLEEN G. TERROUX: J. Physiol. (Lond.) 1953, 119, 139, 12. BURGEN A.S.V., KATHLEEN G. TERROUX: Ibid. 1953, 120, 449; 13. BURN J. H.: Brit. Med. Bull. (1961), 17, 66; 14. CARABOEUF E. XXII. Internat. Congr. Physiol. Sciences, Leyden, 1962, vol. I, 195; 15. CHURNEY L., OSHIMA H.: J. Appl. Physiol. (1964), 19, 4, 793; 16. DANIELOPOLU D.: Le système nerveux et la vie végétative. Ed. Masson Paris 1944; 17. DELÈZE M. D.: Circulation (1959), VII, 3, 553; 18. DUDEL J., TRAUTWEIN W.: Experientia, Basel, (1956), XII, 396; 19. DUDEL J., TRAUTWEIN W.: Arch. exp. Path. u. Pharmak. (1958), 232; 20. DUDEL J.: Verhndl. dtsh. Gesellschaft für Kreislaufforschung, Ed. Dietrich Steinkopff (1963), 285; 21. DUDEL J.: XXII. Internat. Congr. Physiol. Sciences, Leyden 1962, vol. I, 193; 22. FLECKENSTEIN A., HOCHREIN H., KOTOWSKI H.: Pflüg. Arch. (1958), 265, 485; 23. FLECKENSTEIN A., FREUND H. J., KAMMERMEIER H., DÖRIN J.: Pflüg. Arch. (1964), 279, R 12; 24. HODGKIN A. L., KEYNES R. D.: J. Physiol. Lond., (1953), 45; 25. HODGKIN A. L., KEYNES R.S.D.: Ibid. (1955), 128, 28; 26. HASSELBACH W.: Verhndl. dtsh. Gesellschaft für Kreislaufforschung, Ed. Dietrich Steinkopff, 1961, 114; 27. HOFFMANN B. F., CRANFIELD B. P., LEPESCHKIN E., SURAWICZ B., HERLICH H. C.: Amer. J. Physiol. (1959), 196, 1297; 28. HUTTER O. F.: XII. Internat. Congr. Physiol. Sciences, Leyden, 1962, vol. I, 183; 29. HUTTER O. F.: Ibid. 196; 30. KATZ B.: Pflüg. Arch. (1934), 234, 492; 31. MARSHALL J. M., VAUGHAN WILLIAMS E. M.: J. Physiol. Lond. (1956), 131, 186; 32. MARSHALL J. M.: XXII. Internat. Congr. Physiol. Sciences, Leyden, 1962, vol. I, 194; 33. NOBLE D.: XXII. Internat. Congr. Physiol. Sciences, Leyden, 1962, vol. I, 177; 34. OTSUKA M.: Pflüg. Arch. (1958), 266, 512; 35. QUENSEL W.: Pflüg. Arch. (1932), 230, 423; 36. RUDOLPH G.: Verhndl. dtsh. Gesellschaft für Kreislaufforschung, Ed. Dietrich Steinkopff, 1961, 93; 37. SEGERS M.: Acta Biol. belg. (1941), T 1, nr. 2, 311; 38. TRAUTWEIN E., DUDEL J.: Pflüg. Arch. (1956), 263, 23; 39. TRAUTWEIN W.: Rhythmusstörungen des Herzens, K. Spang, Georg. Thieme Verlag, Stuttgart, 1957; 40. TRAUTWEIN W., DUDEL J.: Pflüg. Arch. (1958), 266, 324; 41. TRAUTWEIN W., DUDEL J.: Ibid. (1958), 266, 653; 42. TRAUTWEIN W., SCHMIDT R. F.: Pflüg. Arch. (1960), 271, 715; 43. TRAUTWEIN W.: XXII. Internat. Congr. Physiol. Sciences, Leyden 1962, vol. I, 191; 44. UNGAR C.: J. Physiol. Paris (1957), 49, 6, 1235; 45. VERSPRILLE A.: Pflüg. Arch. (1963), 277, 285; 46. VERSPRILLE A.: Pflüg. Arch. (1963), 277, 684; 47. WEIDMANN S.: Elektrophysiologie der Herzmuskelfaser, Med. Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgart, 1956.