

ВПЛИВ РІЗНИХ ІОНІВ НА ГАЛЬМІВНІ ПОСТСИНАПТИЧНІ ПОТЕНЦІАЛИ ГЛАДКОМ'ЯЗОВИХ КЛІТИН

І. А. Владимірова

Відділ нервово-м'язової фізіології Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця
АН УРСР, Київ

Гладком'язові клітини шлунково-кишкового тракту, крім адренергічної, мають ще одну дуже ефективну неадренергічну гальмівну іннервацію [1, 8, 10—12]. Медіатор цього гальмування досі остаточно не встановлений. Було висловлено припущення, що як і норадреналін, медіатор згаданого гальмування здійснює свою дію шляхом зміни проникності мембрани для іонів калію [2]. Згодом це припущення було підтверджене у відповідних дослідженнях [14]. Дана робота спрямована на більш детальне вивчення цього питання.

Методика досліджень

Дослиди проводились на гладких м'язах *taenia coli* морської свинки. Відрізок *taenia coli*, довжиною до 1 см, поміщали в камеру з проточним і підігрітим до $+37^{\circ}\text{C}$ розчином Кребса такого складу: NaCl —120,4; KCl —5,9; NaHCO_3 —15,5; MgCl_2 —1,2; NaH_2PO_4 —1,2; CaCl_2 —2,5; глюкоза—11,5 мМ/л води. Безкалієвий і безкальцієвий розчини готували шляхом заміщення KCl і CaCl_2 еквівалентними кількостями NaCl . В безкалієвий розчин додавали динатрієву сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти (ЕДТА) з розрахунку 0,5 мМ на 1 л розчину. В безхлорному розчині NaCl змінювали еквімолярною кількістю метилсульфату натрію. Натрієва сіль метилсульфату добре розчинна у воді і не переводить Ca^{++} в осад. Безнатрієвий розчин готували шляхом заміщення NaCl і NaHCO_3 відповідною кількістю сахарози, а KCl заміщали еквівалентною кількістю KHSO_3 . Інтрамуральне подразнення нервових утворень, що знаходяться в товщі м'язової смужки, здійснювалось прямокутними стимулами, тривалістю 0,2—0,5 мсек. Потенціали відводились внутріклітинно з допомогою скляних мікроелектродів. Електричні реакції окремих м'язових клітин і скоротливу активність м'язової смужки реєстрували на фотоплівку.

Результати досліджень та їх обговорення

Труднощі дослідження впливу іонів K^+ на гальмівні постсинаптичні потенціали (ГПСП) полягають у тому, що великі концентрації K^+ значною мірою впливатимуть і на виділення медіатора, і на величину мембранного потенціалу спокою (ПС). Видалення ж іонів K^+ з розчину Кребса істотно не впливає на ПС. Тому в наших дослідах здійснювали повне видалення іонів K^+ з розчину Кребса. Як видно з рис. 1, А, а, б, це приводило до збільшення амплітуди ГПСП. Помітних змін величини ПС за цих умов не виявлено, хоч інколи спостерігалася незначна деполаризація мембрани м'язових клітин. Амплітуда і частота м'язових скорочень у безкалієвому розчині збільшувалась. Крім згаданого збільшення амплітуди ГПСП в багатьох дослідах спостерігались спонтанні ГПСП (рис. 1, Б). Незважаючи на те, що амплітуда спонтанних ГПСП досягає 5 мВ, вони не супроводжуються розслабленням м'язової смужки (рис. 1, Б). Це може бути обумовлено тим, що спонтанне

виділення медіатора відбувається асинхронно, і медіатор, що виділився, досягає не всіх м'язових волокон. В розчині Кребса спонтанні ГПСП з'являються дуже рідко [2]. Оскільки нервові волокна знаходяться на великій відстані (100—200 нм) від м'язових [7], концентрація медіатора, що дифундує до м'язової клітини, в більшості випадків менша порогової, і не може викликати зміни ПС. В умовах безкалієвого розчину часто з'являються спонтанні ГПСП, що свідчать про те, що відповідно

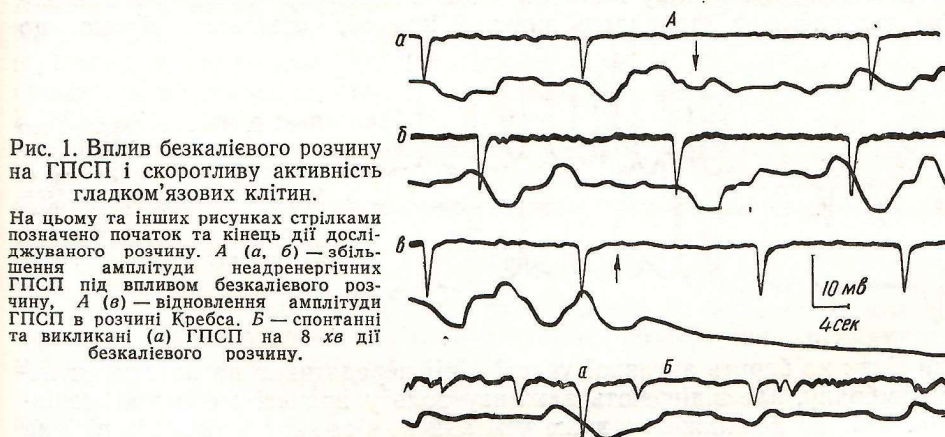


Рис. 1. Вплив безкалієвого розчину на ГПСП і скоротливу активність гладком'язових клітин.

На цьому та інших рисунках стрілками позначено початок та кінець дії досліджуваного розчину. А (а, б) — збільшення амплітуди неадренергічних ГПСП під впливом безкалієвого розчину, А (в) — відновлення амплітуди ГПСП в розчині Кребса. Б — спонтанні та викликані (а) ГПСП на 8 хв дії безкалієвого розчину.

збільшується спонтанне виділення медіатора, можливо, в результаті деполяризації мембрани нервових волокон. Всі описані зміни синаптичної передачі гальмування в безкалієвому розчині є зворотними, оскільки наступна дія розчину Кребса з нормальною концентрацією K^+ веде до відновлення.

Оскільки збільшення амплітуди ГПСП спостерігається вже на перших хвилинах дії безкалієвого розчину, це свідчить про те, що згадані зміни, в першу чергу, обумовлені змінами калієвого концентраційного градієнта. Отже, головною причиною збільшення амплітуди ГПСП є збільшення різниці між ПС і калієвим рівноважним потенціалом, тому що в безкалієвому розчині величина ПС істотно не змінюється. Отже, іони K^+ беруть безпосередню участь у генерації неадренергічних ГПСП.

Однак зміни проникності мембрани для інших іонів також можуть впливати на величину ГПСП. Якби медіатор зменшував проникність мембрани для іонів Cl^- , то це також приводило б до гіперполяризації, тому що проникність мембрани для цих іонів досить висока, а їх рівноважний потенціал набагато нижчий, ніж ПС. І навпаки, збільшення проникності мембрани для Cl^- під впливом неадренергічного медіатора повинно б зменшувати амплітуду ГПСП.

Можливу участь іонів хлору досліджували шляхом заміни іонів хлору завідомо великим аніоном метилсульфату. Як видно з рис. 2, видалення іонів Cl^- з розчину Кребса приводить спочатку до збільшення амплітуди ГПСП (рис. 2, б, в) з наступним її зменшенням (рис. 2, в). Водночас з'являються спонтанні пікові потенціали дії і збільшується тонус м'язової смужки. Ці зміни свідчать про те, що м'язові клітини деполяризуються і це може бути однією з причин збільшення амплітуди ГПСП в безхлорному розчині. Дійсно, в досліджах Томіта [14] і в наших досліджах штучна деполяризація приводить до збільшення амплітуди ГПСП, а гіперполяризація — до їх зменшення.

Отже, збільшення амплітуди ГПСП в безхлорному розчині дозволяє припустити участь іонів Cl^- в генерації ГПСП. Але ці ж зміни можуть бути обумовленими і вторинним ефектом внаслідок деполяризації м'язових клітин. Що ж до наступного відновлення амплітуди ГПСП і навіть їх деякого зменшення, то ці зміни важко пов'язати з іонами Cl^- , тому що і в цих умовах можливий побічний (другорядний) вплив іонів Cl^- через зміни ПС.

Дослідження впливу іонів Ca^{++} на синаптичну передачу в гладком'язових клітинах становлять значний інтерес, оскільки відомо, що

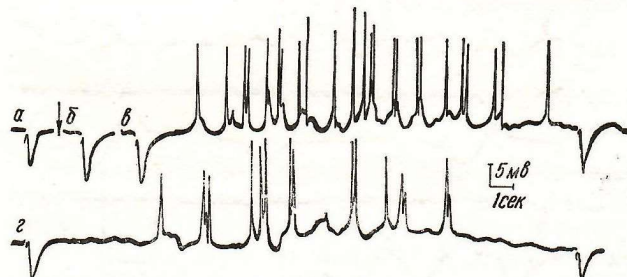
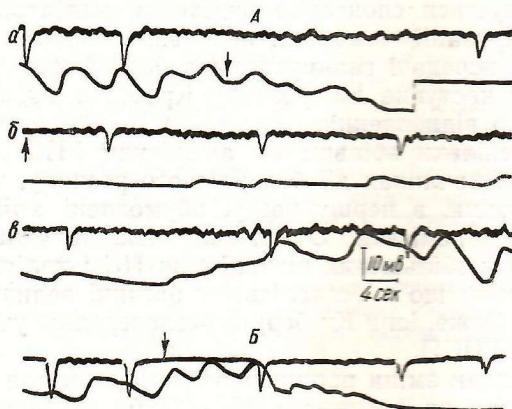


Рис. 2. Вплив безхлорного розчину на ГПСП.

a — ГПСП у розчині Кребса, *б*, *в*, *г* — ГПСП відповідно через 30 сек, 1 хв 30 сек, 2 хв і після заміни розчину. Наступне пропускання безхлорного розчину не змінювало амплітуди ГПСП.

іони Ca^{++} не беруть активної участі в дії передатчика на постсинаптичну мембрану, але відіграють важливу роль у процесі виділення медіатора. Згадані дослідження дуже ускладнені в зв'язку з тим, що ці іони сильно впливають на проникність мембрани взагалі, і цей вплив може

Рис. 3. Вплив безкальцієвого розчину на ГПСП. *A* (*a*) — зменшення амплітуди ГПСП і розслаблення м'язової смужки під впливом безкальцієвого розчину; *A* (*б*, *в*) — відновлення амплітуди ГПСП і скоротливої активності в розчині Кребса. *Б* — зменшення амплітуди ГПСП на фоні деполяризації мембрани під впливом безкальцієвого розчину.



вторинно позначитися на величині ГПСП. Щоб уникнути цих змін в роботі, досліджували вплив безкальцієвого розчину в початковий період, коли зміни ПС ще не виникали. Як видно з рис. 3, *a*, значне зменшення амплітуди ГПСП виявилось вже в першу хвилину дії безкальцієвого розчину, хоча помітне зменшення ПС в цей період ще не спостерігалось. У тих м'язових клітинах, де відзначалась деполяризація мембрани, ГПСП також зменшувались, хоч, як здається з першого погляду, ГПСП повинні збільшуватись, бо збільшується різниця між ПС і калієвим рівноважним потенціалом. Однак, деполяризація в безкальцієвому розчині супроводжується значним зменшенням опору мембрани [4, 6]. Цією обставиною і можна пояснити зменшення, а не збільшення ГПСП в деполяризованих м'язових клітинах. Але оскільки відсутність іонів Ca^{++} не перешкоджає виникненню адренергічного ефекту [3, 5], цей факт також свідчить на користь переважно преси-

напичної дії Ca^{++} . Отже, як і в інших синаптичних утвореннях [13], іони Ca^{++} необхідні для активізації механізму вивільнення медіатора з неадренергічних нервових волокон.

Оскільки неадренергічні ГПСП повністю блокуються тетродотоксином [10], для виникнення збудження в цих нервових волокнах необхідна присутність в оточуючому середовищі іонів Na . Для того, щоб переконатись, що досліджувані нами ГПСП не є результатом відповіді м'язових клітин на пряме їх подразнення, з розчину видаляли іони Na^+ . Видалення натрію з розчину приводило до поступового зменшення і повного зникнення ГПСП на протязі 2—5 хв. Слід відзначити, що швидкість відновлення ГПСП при відмиванні нормальним розчином Кребса залежить від тривалості дії безнатрієвого розчину: чим довше пропускався розчин, тим повільніше наставало відновлення ГПСП. В даному випадку, на нашу думку, зменшення і зникнення ГПСП в безнатрієвому розчині обумовлено блоком проведення саме в нервових волокнах.

Висновки

1. Медіатор неадренергічного гальмування виявляє свою дію на мембрану гладком'язової клітини шляхом збільшення проникності мембрани, переважно для іонів калію.

2. Пригнічення ГПСП в безкальцієвому розчині обумовлено порушенням виділення медіатора з нервових волокон.

Література

1. Атанасова Е. С., Владимірова І. А., Шуба М. Ф.—Нейрофізіологія, 1972, 4, 2, 216.
2. Владимірова І. А., Шуба М. Ф.—Нейрофізіологія, 1970, 2, 5, 544.
3. Клевец М. Ю., Шуба М. Ф.—В сб.: Синаптич. процеси, Київ, «Наукова думка», 1968, 92.
4. Шуба М. Ф.—В сб.: Протоплазматич. мембрани и их функц. роль, Київ, «Наукова думка», 1965, 90.
5. Шуба М. Ф.—В сб.: Біофізика м'язового скорочення, М., «Наука», 1966, 126.
6. Шуба М. Ф.—В сб.: Біофізика мембран, Паланга, 1969, 272.
7. Bennett M.—In: Autonomic Neuromuscular Transmission, Cambridge, 1972.
8. Burnstock G., Holmann M.—J. Physiol., 1966, 182, 541.
9. Bradin A., Bulbring E., Tomita T.—J. Physiol., 1969, 200, 637.
10. Bulbring E., Tomita T.—J. Physiol., 1967, 189, 299.
11. Burnstock G., Campbell G., Rand M.—J. Physiol., 1966, 182, 504.
12. Furness J.—J. Physiol., 1969, 205, 549.
13. Hubbard J.—Physiol. Rev., 1973, 53, 3, 674.
14. Tomita T.—J. Physiol., 1972, 225, 693.

Надійшла до редакції
21.IV 1975 р.

EFFECT OF DIFFERENT IONS ON INHIBITORY POSTSYNAPTIC POTENTIALS OF SMOOTH MUSCLE CELLS

I. A. Vladimirova

Department of Nerve-Muscle Physiology, the A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Kiev

Summary

The inhibitory postsynaptic potential (IPSP) in smooth muscle cells of *taenia coli* were studied by means of intracellular recording. The experiments performed showed that the transmitter of the nonadrenergic inhibition increases penetration of the smooth muscle cell membrane mainly for the potassium ions. The calcium ions are necessary for an activation mechanism of the transmitter release because in calcium-free solution IPSP disappears completely.