

УДК 612.821

І. Р. Євдокимов, О. Д. Майська

ЕЛЕКТРИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТА СКОРОТЛИВІ РЕАКЦІЇ ГЛАДКОГО М'ЯЗА ЛЕГЕНЕВОЇ АРТЕРІЇ КРОЛИКА В ГІПЕРОСМОЛЯРНОМУ ПОЗАКЛІТИННОМУ СЕРЕДОВИЩІ

Реакції судин на зміни позаклітинного середовища давно привертають увагу багатьох дослідників, зокрема, питання про характер змін судинного тонуусу у відповідь на зрушення осмолярності крові та позаклітинної рідини набуло особливої актуальності. Відомо, наприклад, що при фізичному навантаженні в скелетному м'язі вміст продукту обміну — молочної кислоти збільшується у венозному відтоці на 10 ммоль/л і більше [30]. При опіках II ступеня спостерігається виразне збільшення осмолярності позаклітинного середовища та місцеве розширення судин [3].

Останнім часом одержані дані, які свідчать про те, що одним з факторів, спроможним відігравати важливе значення в місцевій регуляції судинного тонуусу, є регіонарна гіперосмолярність [26, 27].

Деякі автори показали, що при введенні гіперосмолярних розчинів (одержаних додаванням сахарози, глюкози, хлористого натрію в ізоосмолярні розчини) безпосередньо в кровоносні судини виникає виразна вазодилатація. Такі реакції виявлені в скелетних м'язах та кінцівках собаки [22, 25], у мозку собаки, у передпліччі людини [24]. Водночас було встановлено, що судини легеневого кола реагують в такому випадку інакше. Підвищення осмолярності крові, за деякими відомостями, викликає вазоконстрикцію легеневих артерій та вен [8, 9, 13, 15]. Але в літературі [14] є дані про те, що підсилення опору судин у даному випадку є наслідком аглютинації еритроцитів, що настає при підвищенні осмолярності рідини, яка протікає по судинному руслу.

Дослідження, проведені на ізольованих відрізках судин тварин, дозволили виявити відмінності в реакціях різних судин на зміни осмолярності перфузуючого розчину. Так, при впливі гіперосмолярного розчину на ізольовану ворітну вену щура та морської свинки пригнічується її спонтанна електрична та скоротлива активність. При вміщенні ворітної вени щура в гіпоосмолярний розчин зростають частота та амплітуда електричних розрядів і скорочень [4, 18]. Є вказівки і на те, що смужка аорти собаки скорочується спонтанно в гіперосмолярному розчині при додаванні глюкози [17]. Але такі реакції не вдалось викликати на смужці аорти щура.

Дослідження, виконані на різних судинах, досі не дали чітких уявлень про механізми, що викликають реакції гладких м'язів судин на зміни осмолярності позаклітинного середовища.

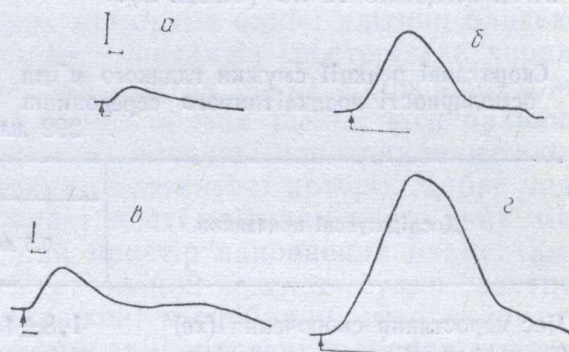
Методика досліджень

Дослідження проведені на ізольованих препаратах легеневої артерії кролика. З судини вирізали кільце шириною 3—4 мм і надавали йому попереднього натягу порядку 3000 дин. Гіперосмолярні розчини виготовляли додаванням сахарози до розчину

Кребса у концентраціях 146 та 292 ммоль/л, що відповідало півтораразовій та подвійній осмолярності. Досліди провадили у проточних розчинах, насичених 95% O_2 + 5% CO_2 , температуру яких підтримували на рівні від 36 до 37°С. Скоротливу активність вимірювали з допомогою електронномеханічного перетворювача (6IXIC), який підключали до електронного самопишучого потенціометра. Електричні вимірювання провадили внутріклітинними скляними мікроелектродами з використанням мостової схеми [2]. Електричні характеристики гладком'язових клітин вимірювали послідовно в ізоосмолярному, потім в гіперосмолярному розчинах. Враховували дані тільки тих вимірювань, які вдавалось провести в тій самій клітині в обох розчинах. Електронномікроскопічні

Рис. 1. Скоротливі реакції гладких м'язів легеневої артерії кролика при підвищенні осмолярності позаклітинного середовища на 146 ммоль/л (а, б) та на 292 ммоль/л (в, г).

Горизонтальна лінія зі стрілкою позначає початок та продовження впливу гіперосмолярного розчину. Горизонтальна калібрівка — 1 хв, вертикальна — 200 дин.



дослідження провадили з допомогою електронного мікроскопа високого розрізнення TESLA B-513A. Смужки тканини вміщували в епоксидну смолу Епон-812. Блоки різали ультрамикротомом, зрізи забарвлювали гідроокисом свинцю за загальноприйнятою методикою.

Результати досліджень

Легенева артерія кролика, вміщена в ізоосмолярний розчин Кребса, скоротливої активності не проявляє. Але вплив на препарат легеневої артерії розчину 1,5 осмолярності викликає її скорочення. Амплітуда скорочень зростає з подовженням тривалості впливу (рис. 1, а, б). Наростання скорочення триває і після початку відмивання препарату ізоосмолярним розчином. Особливо чітко це позначається під час короткочасного впливу гіперосмолярних розчинів (0,5—2,0 хв). Відновлення вихідного тону, початок якого рахували від точки максимального тонічного скорочення артерії, тривало досить довго. Навіть після витримування препарату в гіперосмолярному розчині лише протягом 1 хв, відновлення вихідного тону настає через 7—8 хв (табл. 1).

Таблиця 1

Скоротливі реакції смужки гладкого м'яза легеневої артерії кролика при підвищенні осмолярності позаклітинного середовища (в розчині Кребса з додаванням сахарози — 146 ммоль/л)

Досліджувані показники	Тривалість впливу	
	1,0 хв	5,0 хв
Час наростання скорочення (хв)	3,1±0,5	5,3±0,3
Тривалість відновлення вихідного тону (хв)	9,1±0,8	14,7±0,8
Сила скорочення (дин)	190±20	690±60

Під час впливу на розчини подвійної осмолярності, легенева артерія кролика скорочується зі значно більшою амплітудою (рис. 1, в, г). Так само як і в першому випадку, сила скорочення зростає при збільшенні часу впливу. При нетривалому перебуванні препарату в цьому гі-

перосмолярному розчині, наростання скорочення продовжується і після початку відмивання ізоосмолярним розчином. Так, перебування смужки в гіперосмолярному розчині протягом 0,5 хв викликає скорочення, яке наростає протягом 1,8 хв. Але при 5 хв перебуванні легеневої артерії в розчині подвійної осмолярності наростання скорочення триває близько 5 хв. Характерно, що час відновлення вихідного тону після впливу гіперосмолярним розчином від 0,5 до 5 хв приблизно однаковий і становить близько 15 хв (табл. 2).

Таблиця 2

Скоротливі реакції смужки гладкого м'яза легеневої артерії кролика при підвищенні осмолярності позаклітинного середовища (в розчині Кребса з додаванням сахарози—292 ммоль/л)

Досліджувані показники	Тривалість впливу			
	0,5 хв	1,0 хв	2,0 хв	5,0 хв
Час наростання скорочення (хв)	$1,8 \pm 1,0$	$4,1 \pm 0,8$	$3,3 \pm 0,2$	$5,0 \pm 1,0$
Тривалість відновлення вихідного тону (хв)	$15,1 \pm 1,2$	$14,1 \pm 1,0$	$16,5 \pm 2,2$	$15,0 \pm 5,0$
Сила скорочення (дин)	400 ± 20	400 ± 20	1200 ± 150	1590 ± 500

Таблиця 3

Вплив підвищення осмолярності позаклітинного середовища на електричні характеристики гладком'язових клітин легеневої артерії кролика

Ізоосмолярний розчин Кребса		Розчин Кребса+292 ммоль/л сахарози	
МП (мВ)	Р (Мом)	МП (мВ)	Р (Мом)
38 ± 1 (n=89)	87 ± 3 (n=83)	29 ± 2 (n=69)	68 ± 3 (n=81)
34 ± 2 (n=16)	81 ± 9 (n=17)	32 ± 2 (n=14)	108 ± 10 (n=16)

Вимірювання електричних параметрів гладкого м'яза легеневої артерії кролика при впливі гіперосмолярним розчином були проведені на 150 клітинах. При впливі гіперосмолярного розчину у частини клітин (43) мембранний потенціал та опір мембрани швидко падали до нуля. Напевно, це було наслідком виходу електрода з клітини при її зморщуванні. У переважної більшості клітин мембранний потенціал та опір мембрани були меншими в гіперосмолярному розчині, ніж у ізоосмолярному (табл. 3). Лише 16% клітин мали в гіперосмолярному розчині більший опір. Достовірні зміни мембранного потенціалу цих клітин не з'ясовані. Можна припустити для клітин цієї групи, що посилення опору мембрани в гіперосмолярному розчині здійснюється внаслідок порушення міжклітинних контактів — нексусів, що шунтують вхідний опір клітини. В даному випадку, очевидно, приріст опору внаслідок порушення «шунтів» значно перевищує те зниження опору мембрани, яке відбувається внаслідок впливу позаклітинної гіперосмолярності. Проте досі міжклітинні контакти були виявлені в гладких м'язах тонкого кишенни-

ка, сечоводу, сечового міхура, дрібних артерій, артерій та ворітної вени [6, 7, 12]. Всі гладкі м'язи цих вісцеральних органів, за винятком, мабуть, аорти, можуть бути віднесені до типу м'язів, яким властиве виразне міжклітинне проведення збудження. В літературі немає подібного опису міжклітинних контактів в гладких м'язах легеневої артерії. Тому паралельно з електрофізіологічними дослідженнями ми проводимо електронномікроскопічне вивчення гладком'язових клітин та їх контактів в легеневій артерії кроликів. Ці дослідження дозволили виявити в гладкому м'язі легеневої артерії ділянки, в яких мембрана однієї клітини близько підходила до мембрани іншої. В області контактів спостерігали характерні вип'ячування саркоплазми. За своїм виглядом ці утворення схожі з нексусами, описаними раніше в гладких м'язах різних вісцеральних органів. На мікрофотографії (рис. 2, а, б) наведені два приклади таких контактів між гладком'язовими клітинами легеневої артерії. Добре видно звивистість контурів клітини та властивості клітинам цього типу мікропіноцитозні вазікули. Міжклітинний простір заповнений елементами еластину та колагену, що складають так званий «скелет» судин еластичного типу. В цих клітинах добре виражені міофібрили, мітохондрії та ендоплазматичний ретикулум. Міжмембранні відстані в місцях контактів клітини дуже збільшуються, якщо препарати витримували перед фіксацією у гіперосмолярному розчині.

Обговорення результатів досліджень

Одержані нами дані підтверджують спостереження, з допомогою яких було з'ясовано наявність у судин легеневого кола реакцій на підвищення осмолярності позаклітинного середовища, відмінних за своїм напрямком від реакцій, властивих кровоносним судинам інших органів, зокрема судинам скелетних м'язів. Очевидно, посилення опору кровотоку при підвищенні осмолярності перфузата в ізольованому легеновому препараті не можна пояснити однією лише аглютинацією еритроцитів в легенових кровоносних судинах [14]. Про це свідчить наявність тонічних скорочень в ізольованій смужці легеневої артерії, що виникають під час зростання осмолярності перфузуючого розчину Кребса. В даному випадку фактор аглютинації відсутній. Оскільки смужка легеневої артерії кролика деякий час скорочується і після припинення впливу гіперосмолярного розчину, можна припустити, що цей розчин викликає у легеневій судині не тільки зморщення клітин, а, можливо, є своєрідним «пусковим» подразником, який викликає скорочення клітин.

Наші дослідження показали, що мембранний потенціал гладком'язових клітин легеневої артерії кролика трохи знижується під час впливу розчинів подвійної осмолярності. Зміни мембранного потенціалу гладком'язових клітин легеневої артерії при підвищенні осмолярності позаклітинного середовища в літературі не описані. Мембранний потенціал гладком'язових клітин *taenia coli* шлунка та прямої кишки морської свинки, виміряний внутріклітинно, за деякими літературними відомостями не змінювався, або трохи підвищувався [21, 29, 33]. Відомості про зміни мембранного потенціалу гладком'язових клітин ворітної вени при підвищеній осмолярності перфузата суперечливі. За деякими даними [19, 20, 27, 31] мембранний потенціал гладком'язових клітин ворітної вени щура в гіперосмолярному розчині зростає, інші ж автори [16, 22] спостерігали зниження величини цього потенціалу у морської свинки. Очевидно, зміни мембранного потенціалу гладком'язових клітин легеневої артерії в гіперосмолярному розчині такі, як і у ворітній вені морської свинки.

Відзначене нами посилення опору мембрани невеликої частини клітин легеневої артерії кролика в гіперосмолярному розчині відносно за рахунок зменшення шунтування тестуючого струму внаслідок порушен-



Рис. 2. Електронна мікрофотографія симетричного (а) та несиметричного (б) контактів гладком'язових клітин легеневої артерії кролика.

Горизонтальна лінія — масштаб збільшення.

ня проведення його через міжклітинні контакти. Подібне посилення опору мембрани гладком'язових клітин тонкого кишечника кішки спостерігали Нагаї та Проссер [28] і давали йому таке саме пояснення. Це припущення підтверджується проведеними нами електронномікроскопічними дослідженнями, завдяки яким в гладкому м'язі легеневої артерії

кролика були виявлені міжклітинні контакти, схожі за виглядом з нексусами, відзначеними в гладких м'язах інших вісцеральних органів.

Нами показано, що утворення типу нексусів легко порушуються в гіперосмолярних розчинах. Цікаво відзначити, що міжклітинні контакти легко утворюються в культурі тканини легеневої артерії кролика на шосту — восьму доби культивування. Це саме спостерігається і при культивуванні клітин ворітної вени. Очевидно, наявність міжклітинних контактів не є особливістю того чи іншого типу м'язової стінки судин. Це припущення співпадає з даними Ямамото [18], який під час електронно-мікроскопічних досліджень різних судин, від аорти до артеріол, встановив, що відмінності між судинами еластичного та м'язового типу мають скоріше кількісний, ніж якісний характер.

Висновки

1. У смужці легеневої артерії кролика у відповідь на підвищення осмолярності позаклітинного середовища виникають тонічні скорочення, амплітуда яких зростає при підвищенні ступеня осмолярності середовища та тривалості часу її впливу.

2. Гладком'язові клітини легеневої артерії кролика при підвищенні осмолярності середовища здебільшого деполаризуються та вхідний опір їх при цьому зменшується. Тільки у невеликій частині клітин спостерігалось посилення вхідного опору.

3. Електронно-мікроскопічні дослідження допомогли виявити в легеневій артерії кролика місця контакту гладком'язових клітин типу нексусів. Міжклітинні щілини в місцях контакту сильно збільшуються, якщо помістити препарат легеневої артерії в гіперосмолярний розчин перед фіксацією.

Література

1. Гуревич М. И., Евдокимов И. Р. Электрические характеристики гладкомышечных клеток сосудов.— В сб.: Тез. Междунар. биофизического конгр., М., 1972, 23, 242.
2. Евдокимов И. Р. Электричні параметри мембрани гладком'язових клітин легеневої артерії кролика.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1971, 17, 4, 487—491.
3. Arturson G., Mellander S. Acute Changes in Capillary Filtration and diffusion in experimental burn injury.— *Acta physiol. scand.*, 1964, 62, 457—463.
4. Arvill A., Johansson B., Jonsson O. Osmotic effects isolated vascular smooth muscle as reflected distribution of water, urea-C and sucrose-C.— *Acta physiol. Scand.*, 1968, 73, 1—2, 8A.
5. Barr L., Berger W. W., Dewey M. Electrical transmission at the nexis between smooth muscle cells.— *J. General Physiol.*, 1968, 51, 3, 347—368.
6. Barr L., Dewey M., Evans H. The role of the nexis in the propagation of action potentials of cardiac and smooth muscle.— *Fed. Proc.*, 1968, 24, 142—146.
7. Bennet M., Bogers. A study of the innervation of the taenia coli.— *J. Cell. Biol.*, 1967, 33, 573—596.
8. Binet L., Burstein M. C. R. Sur l'action vasoconstrictive du serum sale hypertonioue au niveau de la petite circulation.— *C. R. Soc. Biol.*, 1951, 145, 1766—1770.
9. Braun K. The effects of intracardiac and intravenous injectia of hypertonic and systemic arterial pressures.— *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 1966, 160, 99—105.
10. Burnstock G. The autonomic neuromuscular junction.— In: *Proc. Internat. Union of Physiol. Sci.*, 6.XXIV Internat. Congress Washington, 1968.
11. Buyniski J., Rapela C. Reactivity of cerebral vascular smooth muscle to ions and increased osmolality.— *Proc. Internat. Union Physiol. Sci.*, 1968, 7, 69.
12. Cliff W. J. The aortic tunica media in growing rats studied with the electron microscope.— *Lab. Invest.*, 1967, 17, 599—603.
13. Eliakim M. S., Rosenberg S., Braun K. Effect of hypertonic saline on the pulmonary and systemic pressures.— *Circulat. Res.*, 1958, 357—362.
14. Eliakim M., Stern S., Nathan H. Site of action of hypertonic saline in the pulmonary circulation.— *Circulat. Res.*, 1961, 9, 327—322.

15. Hauge A., Lunde A., Waaler B. Effects of some vasoactive substances on vascular resistance and vascular capacity in isolated blood-perfused lungs.—*Acta Physiol. Scand.*, 1968, 66, 269—277.
16. Ito Y., Kuriyama H. Membrane properties of the smooth muscle fibres of guinea-pig portal vein.—*J. Physiol.*, 1971, 215, 427—441.
17. Jamamoto J. An electron microscope study of rabbit arterial wall smooth muscle and the intercellular components with special reference to the elastic fiber.—*J. Electronmicroscopy*, 1960, 11, 212—225.
18. Jonsson O. Changes in the activity of isolated vascular smooth muscle in response to reduced osmolarity.—*Acta physiol. scand.*, 1969, 77, 191—200.
19. Jonsson O. Changes in the cell volume of isolated vascular smooth muscle in response to reduced osmolarity.—*Acta physiol. Scand.*, 1969, 77, 201—211.
20. Jahansson B., Jonsson O. Cell volume as a factor influencing electric and mechanic activity of vascular smooth muscle.—*Acta Physiol. Scand.* 1968, 72, 456—468.
21. Kuriyama H., Mekata F. Biophysical properties of the longitudinal smooth muscle of the guinea-pig rectum.—*J. Physiol.*, 1971, 212, 667—683.
22. Kuriyama H., Ohshima K., Sakamoto J. The membrane properties of the smooth muscle of the guinea-pig portal vein in isotonic and hypertonic solutions.—*J. Physiol. London*, 1971, 217, 1, 179—199.
23. Loewenstein W. R. Permeability of membrane junctions.—*Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1966, 441—473.
24. Lundvall J., Mellander S., White T. Hyperosmolality and vasodilatation in human skeletal muscle.—*Acta physiol. Scand.*, 1966, 77, 224—233.
25. Marshall R., Shepherd J. Effect of injections of hypertonic solutions on blood flow through the femoral artery of the dog.—*Am. J. Physiol.*, 1959, 197, 951—954.
26. Mellander S. Systemic circulation and Local control.—*Ann. Rev. Physiol.*, 1970, 32, 313—337.
27. Mellander S., Johansson B., Gray S., Jonsson O., Lundvall J., Ljung B. The effects of hyposmolality on intact and isolated vascular smooth muscle.—*Angiologica*, 1967, 4, 310—322.
28. Nagai T., Prosser C. F. Electrical parameters of smooth muscle cells.—*Am. J. Physiol.*, 1963, 204, 5, 215—224.
29. Osa T., Kuriyama H. The membrane properties and decremental conduction of excit. in the fundus of the guinea-pig stomach.—*Jap. J. Physiol.*, 1971, 20, 626—639.
30. Pernow B., Wahren J., Zetterquist S. Studies on the peripheral circulation and metabolism in man.—*Acta physiol. scand.*, 1965, 64, 289—298.
31. Somlyo A. P., Somlyo A. V. Vascular smooth muscle. II. Pharmacology of normal and hypertensive vessels.—*Pharmac. Rev.*, 1970, 22, 249—353.
32. Stainsby W., Fregly M. Effect of plasma osmolarity on resistance to blood flow through skeletal muscle.—In: *Symposium on circulation in skeletal muscle*, Pergamon Press, Oxford, 1968, 315—322.
33. Tomita T. Spike propagation in the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli.—*J. Physiol.*, 1967, 191, 517—527.

Відділ фізіології кровообігу
Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Надійшла до редакції
12.II 1975 р.

I. P. Evdokimov, O. D. Majskaja

ELECTRICAL CHARACTERISTICS AND CONTRACTILE REACTIONS OF SMOOTH MUSCLE OF RABBIT PULMONARY ARTERY IN HYPEROSMOLAR EXTRACELLULAR MEDIUM

Summary

The electrical and contractile characteristics of the rabbit pulmonary artery were studied as affected by an osmolarity increase in the extracellular medium. An increase in the Krebs solution osmolarity was obtained by addition of sucrose at the concentrations 146 and 292 mmol/l. It is shown that in the stripe of the rabbit pulmonary artery the tonic contractions appear in response to an increase in the medium osmolarity; the amplitude of the contractions rises with an increase in the medium osmolarity and time of its action. By means of the intracellular microelectrodes it is found that in most smooth-muscle cells of the pulmonary artery a tendency to decrease the membrane potential and the membrane resistance is observed with an increase of the medium osmolarity.