

УДК 612.673.138.2.014.423:615.217.22

В. В. Файзулін

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗБУДЖЕННЯ АЦИНАРНИХ КЛІТИН ПРИВУШНОЇ СЛИННОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРА ПРИ АДРЕНЕРГІЧНІЙ СТИМУЛЯЦІЇ

Знання вікових особливостей реакції різних ефекторних систем на нейро-гуморальні впливи має важливе значення для аналізу механізмів старіння. Вдалим об'єктом для дослідження змін регуляторно-ефекторних відношень при старінні є слинні залози.

Ми досліджували вікові особливості збудження ацинарних клітин привушних слинних залоз білих щурів при адренергічній стимуляції.

Методика досліджень

Для дослідження використовували дорослих (8—10 місяців) і старих (25—27 місяців) білих щурів. Тварин наркотизували внутріочеревинним введенням пентобарбіталу, дробно, протягом усього експерименту, залежно від глибини наркозу. Початкова доза наркотика становила 2,5 мг/100 г ваги тварини.

Щурів фіксували в положенні на спині, привушну слинну залозу відпрепарувували і відвертали на шкірний клапоть, який розтягували на площадці із мікропори, що дозволяло зберегти кровообіг та іннервацію залози та частково ізолювати її від дихальних рухів голови. За цих умов залоза повністю занурювалась в розчин Рінгера-Локка, розігрітий для теплокровних тварин до 37°C.

Адренергічної стимуляції досягали подразненням постгангліонарних волокон, що йдуть від верхнього шийного ганглію, з допомогою хлор-срібної пари електродів струмами неоднакової амплітуди (1; 3 і 7В), частотою 12 гц, тривалістю імпульсу 1 мсек і тривалістю стимулу 30 сек. Подразний струм відводили від стимулятора ЕСЛ-2 з допомогою ізолюючого трансформатора. Норадреналін бітартрат вводили одноразово внутріочеревинно в дозі 30 мкг/100 г ваги тварини.

Трансмембранну різницю потенціалів поверхневих (ацинарних) клітин привушної слинної залози реєстрували з допомогою мікроелектродної техніки. Склані мікроелектроди заповнювали 3М розчином КСІ. Для дослідів брали мікроелектроди з опором кінчика не менше 10 МОМ.

В усіх серіях дослідів результати узагальнювались по п'яти тваринах (60 вимірювань на точку) для кожної вікової групи.

Результати досліджень

Літературні дані вказують на велику варіабільність «потенціалу спокою» для клітин слинних залоз. Для різних груп клітин в межах однієї залози мембранний потенціал (МП) може коливатися від кількох до 80 мв [9, 10].

При вимірюванні МП інтактних секреторних клітин завжди припускають, що до популяції входять як клітини, що перебувають у фазі секреції, так і синтезу та формування просекрету. Це, можливо, і є причиною значної варіабільності «потенціалу спокою» ацинарних клітин.

В наших дослідках також виявилась значна варіабільність (від 10 до 60 мв) МП поверхневих клітин слинної залози інтактною тварини. Якщо розділити всю сукупність контрольних вимірювань МП (в наших дослідках — 246 клітин для кожної вікової групи) на чотири класи, то побудована по цих вимірюваннях гістограма (рис. 1) виявляє підвищення МП в ацинарних клітинах старих щурів в середньому на 8 мв.

Вікові особливості збудження

Кількість клітин з різних дослідів від 20 до 30. Кількість клітин з різних дослідів від 20 до 30. Кількість клітин з різних дослідів від 20 до 30.

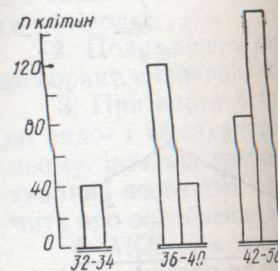


Рис. 1. Вікові особливості мембранного потенціалу ацинарних клітин привушної залози інтактних білих щурів (240 вимірювань для кожної вікової групи).

Перший, другий і четвертий — молоді щури, третій, п'ятий і шостий — старі щури.

На рис. 2, для порівняння зразковим подразненням норадреналіну. Однією з причин, амплітуди потенціалу МП ацинарних клітин при подразненні нерва зростає так і у старих щурів, і у молодих щурів. Але в старих щурів величина МП зростає менше, ніж у молодих щурів.

Адренергічна стимуляція зростає. На 20 мв зростає до початку симпатичного нерва.

Дослід з нор-тин до екзогенно в поляризації для с-

В серії дослідів явилось, що на ма слинних залоз дослідів (рис. 3). У старій першого, співпадає тин рис. 2), і знову На третій стимул гий (ефект суматі разнення симпати

і в КЕННЯ АЦИНАРНИХ НОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРА СТИМУЛЯЦІЇ

різних ефекторних систем на
чення для аналізу механізмів
ня змін регуляторно-ефектор-
збудження ацинарних клітин
адренергічній стимуляції.

кень

8—10 місяців) і старих (25—27 мі-
ревинним введенням пентобарбіта-
від глибини наркозу. Початкова

шну слинну залозу відпрепарову-
ували на площадці із мікропори,
ози та частково ізолювати її від
ю занурювалась в розчин Рінгера

м постгангліонарних волокон, що
дор-срібної пари електродів стру-
2 гц, тривалістю імпульсу 1 мсек
или від стимулятора ЕСЛ-2 з до-
бітартрат вводили одноразово

х (ацинарних) клітин привушної
одної техніки. Скляні мікроелек-
брали мікроелектроди з опором

сь по п'яти тваринах (60 вимі-

нь

варіабільність «потенціалу
х груп клітин в межах од-
ке коливатися від кількох

рних клітин завжди при-
и, що перебувають у фазі
ету. Це, можливо, і є при-
окою» ацинарних клітин.
на варіабільність (від 10
зи інтактної тварини. Як-
мірювань МП (в наших
пи) на чотири класи, то
ис. 1) виявляє підвищен-
ередньому на 8 мв.

Кількість клітин з низьким МП (від 10 до 30 мв) коливалась в різ-
них дослідах від 20 до 30%. При цьому виявилось, що середня арифме-
тична величина МП для даної групи клітин (20 мв) не змінювалась ні
в результаті подразнення секреторного нерва, ні після введення норад-
реналіну. Напевно, ці клітини можуть бути віднесені до сполучнотканин-
них елементів залози.

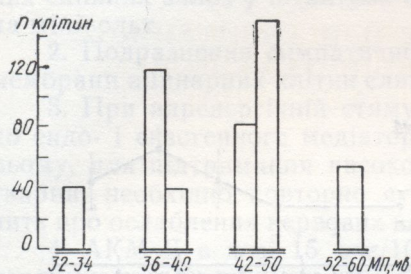


Рис. 1. Вікові особливості розподілу мембранного потенціалу (МП) ацинарних клітин привушної слинної залози інтактних білих щурів (240 вимірювань для кожної вікової групи).

Перший, другий і четвертий совці — до-
рослі щури, третій, п'ятий і шостий стовп-
ці — старі щури.

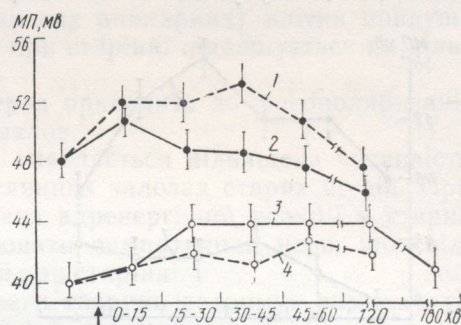


Рис. 2. Вікові особливості зміни МП ацинарних клітин при адренергічній стимуляції.

Білі кружечки — дорослі щури, чорні кружечки — старі щури. 1 і 4 — одноразове введення норадреналіну, 2 і 3 — одноразове подразнення симпатичного нерва. Стрілкою позначено момент стимуляції.

На рис. 2, для наочності, суміщені дві різних серії дослідів: з одноразовим подразненням симпатичного нерва і з одноразовим введенням норадреналіну. Одноразове подразнення симпатичного нерва змінним струмом, амплітудою, протягом 30 сек викликає підвищення середньої величини МП ацинарних клітин порівнянно з початковим рівнем (до подразнення нерва). При цьому максимум гіперполяризації як у дорослих так і у старих тварин дорівнює 10 мв. Подібна величина гіперполяризації одержана [9] в дослідях з аплікацією адреналіну на ізолюваних привушних залозах мишей. Протягом перших 15 хв після подразнення нерва приріст середньої величини МП вище для ацинарних клітин старих щурів. Але цей мембранний ефект виявляється нестійким — середня величина МП поступово знижується і на 120 хв досягає початкового рівня.

Адренергічна реакція ацинарних клітин дорослих тварин значно стійкіша. На 20 хв середній рівень МП виходить на плато (рис. 2) і повертається до початкового рівня лише через 3 год після подразнення симпатичного нерва.

Досліди з норадреналіном виявляють вищу чутливість старих клітин до екзогенно введенного медіатора (рис. 2): середня величина гіперполяризації для старих клітин дорівнює 5 мв, а для дорослих — 3 мв.

В серії дослідів з повторним подразненням симпатичного нерва виявилось, що на максимумі функціональної активності ацинарні клітини слинних залоз дорослих тварин нечутливі до нових квантів медіатора (рис. 3). У старій тварини другий стимул, нанесений через 15 хв після першого, співпадає в фазу спаду адренергічної реакції секреторних клітин рис. 2), і знову переводить ці клітини в стан гіперполяризації рис. 3). На третій стимул адренергічна реакція старих клітин вища, ніж на другий (ефект сумації), середня величина МП досягає 56 мв, наступне подразнення симпатичного нерва не викликає дальшого підвищення поля-

ризації цих клітин, що можна розглядати як прояв десенсибілізації при повторній дії медіатора на мембрану.

В літературі наведений аналіз можливих механізмів гіперполяризації і літературний огляд з цього питання [3, 4]. Ми лише обмежимося зазначенням проблеми зв'язку електричних потенціалів з біосинтезом білків, яка дискутується в останні роки в літературі [2,5—8].

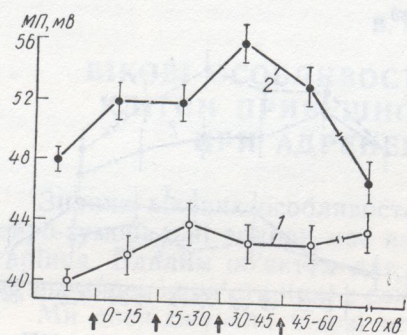


Рис. 3. Зміни МП ацинарних клітин дорослих (1) і старих (2) щурів при подразненні симпатичного нерва. Стрілками позначено моменти подразнення.

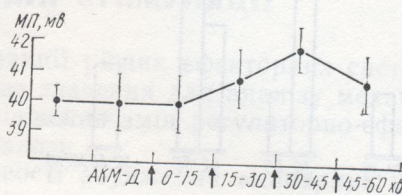


Рис. 4. Вплив АКМ-Д на зміни МП ацинарних клітин дорослих щурів при подразненні симпатичного нерва струмом амплітудою 3 в. Стрілками позначено моменти подразнення.

Дослідження нашої лабораторії на різних об'єктах (скелетних м'яз, печінці) виявили, що активація біосинтезу білків при регенерації, кровотраті, гормональній індукції веде до гіперполяризації клітинної мембрани. Інгібітори біосинтезу білка (актиноміцин, пуроміцин, РНКаз) ліквідують вплив згаданих агентів на МП клітини.

В наших дослідках актиноміцин-Д (АКМ-Д), введений одноразово внутріочеревинно (15 мкг/100 г ваги) за годину до подразнення симпатичного нерва, затримував розвиток гіперполяризації при адренергічній стимуляції — деяке підвищення середньої величини МП спостерігається лише після другого стимулу (рис. 4).

Обговорення результатів досліджень

Дослідженнями Лундберга [цит. за 2] було показано, що процес секреції (збудження) в слинних залозах супроводжується гіперполяризацією ацинарних клітин. Цей тип електричної активності був названий Лундбергом «секреторним потенціалом». З цієї точки зору наявність гіперполяризованих ацинарних клітин у слинних залозах старих тварин може вказувати на більшу інтенсивність (порівняно з дорослими залозами) процесу секреції в цих клітинах.

При подразненні симпатичного нерва менш стійка реакція ацинарних клітин старих щурів (рис. 2) може свідчити про порушення механізмів синтезу і виходу медіатора з адренергічних терміналей старих залоз [1], що зумовлює ослаблення нервових впливів при старінні [5, 6].

Підвищення чутливості до екзогенного медіатора може бути пристосуванням феноменом в умовах деструктивних змін у нервових закінченнях старих тварин [6].

В дослідках з АКМ-Д нам здається логічним таке пояснення одержаних результатів: АКМ-Д пригнічує біосинтез білкової частини просекрету на етапі транскрипції (зауважимо, що ми вводили невисоку дозу інгі-

бітора), це порушує прохід іх до клітинної мембрани медіатора з адренорецеп

1. Мембранний потенціал слинних залоз у інтактних мілівольт.

2. Подразнення симпатичного нерва мембрани ацинарних клітин.

3. При адренергічній стимуляції до ендо- і екзогенного медіатора, для підтримання тварин, необхідно підвищити про ослаблення нервових впливів.

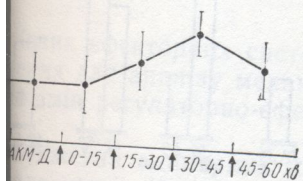
4. АКМ-Д в дозі, що пригнічує гіперполяризацію при подразненні.

1. Верхратский Н. С. Катехоламины в сердце. Геронтология и гериатрия.
2. Гахова Э. Н., Вепрева Л. А. Влияние браны на синтез РНК. Изв. АН УССР, биол. науки, Пушчино-на-Оке, 1963, 282—284.
3. Гуткин В. И. Электр. потенциалы. 196—117.
4. Кибяков А. В., Гуткин В. И. при возбуждении желез.
5. Фролькис В. В., Фролькис В. В. В кн.: Кортико-висцер. 1963, 282—284.
6. Фролькис В. В., Фролькис В. В. Р. при возбуждении желез.
7. Фролькис В. В., Фролькис В. В. Р. при возбуждении желез.
8. Фролькис В. В., Фролькис В. В. Р. при возбуждении желез.
9. Pedersen G. L., P. acinar cells. — J. Physiol.
10. Schneyer L. H., S. of rat. — Am. J. Physiol.

Лабораторія фізіології і геронтології АМН СРСР

IN ACINA

Age-related hypersecretion of the salivary glands of intact animals observed at adrenergic stimulation of the sympathetic nervous system. It testifies to a decrease in the development of



Вплив АКМ-Д на зміни МП
их клітин дорослих щурів
разненні симпатичного нерва
румом амплітудою 3 в.
и позначено моменти подраз-
нення.

Х об'єктах (скелетних м'язу білків при регенерації, іперполяризації клітинної (актиноміцин, пуроміцин, МП клітини. Д), введений одноразово ну до подразнення симпатризації при адренергічній чини МП спостерігається

ліджень

ло показано, що процес
проводжується гіперполя-
тої активності був назва-
ннїї точки зору наявність
х залозах старих тварин
няно з дорослими залоз-

стійка реакція ацинар-
про порушення механіз-
герміналей старих залоз
при старінні [5, 6].

таке пояснення одержавої частини просекре-дили невисоку дозу інгі-

бітора), це порушує процес формування гранул просекрету і просування їх до клітинної мембрани, що затримує підвищення МП при взаємодії медіатора з адренорецепторами.

Висновки

1. Мембранний потенціал поверхневих ацинарних) клітин привушних слинних залоз у інтактних щурів при старінні підвищується на кілька мілівольт.

2. Подразнення симпатичного нерва приводить до гіперполяризації мембрани ацинарних клітин слинних залоз.

3. При адренергічній стимуляції виявляється підвищена чутливість до ендо- і екзогенного медіатора в слинних залозах старих щурів. При цьому, для підтримання високого рівня адренергічної реакції у старих тварин, необхідно повторно стимулювати симпатичний нерв, що свідчить про ослаблення нервових впливів при старінні.

4. АКМ-Д в дозі 15 $\mu\text{кг}/100 \text{ г}$ ваги тварини затримує розвиток гіперпояризації при подразненні симпатичного нерва.

Література

1. Верхратский Н. С., Леонтьева Г. Р. Возрастные особенности изменения катехоламинов в сердце белых крыс при стимуляции симпатического нерва.— В сб.: Геронтология и гериатрия, Киев, 1968, 63—69.
2. Гахова Э. Н., Вепринцев Б. Н. Влияние гиперполяризации клеточной мембраны на синтез РНК в гигантских нейронах моллюсков.— В сб.: Клеточные механизмы, Пушино-на-Оке, 1973, 157—167.
3. Гуткин В. И. Электрофизиология железистой ткани.— Усп. совр. биол., 1971, 72, 1, 96—117.
4. Кибяков А. В., Гуткин В. И. О механизме возникновения гиперполяризации при возбуждении железистых клеток.— Физиол. журн. СССР, 1973, 8, 1211.
5. Фролькис В. В. Возрастные особенности нейро-гормональных соотношений.— В кн.: Кортико-висцеральные взаимоотношения и гормональная регуляция, Харьков, 1963, 282—284.
6. Фролькис В. В. Регулирование, приспособление и старение, Л., «Наука», 1970.
7. Фролькис В. В. Влияние активации биосинтеза белка на развитие гиперполяризации клетки.— Биофизика, 1974, 19, 3, 470—473.
8. Фролькис В. В., Мартыненко О. А., Коротоножкин В. Г. Влияние ингибиторов биосинтеза белка на развитие гиперполяризации одиночных мышечных волокон.— Биофизика, 1972, 17, 5, 839—843.
9. Pedersen G. L., Petersen O. H. Membrane potential measurements in parotid acinar cells.— J. Physiol. (Gr. Brit.), 1973, 234, 1, 217—227.
10. Schneider L. H., Schneider C. A. Membrane Potentials of salivary gland cells of rat.— Am. J. Physiol., 1965, 209 (6), 1304—1310.

Лабораторія фізіології Інституту
геронтології АМН СРСР, Київ

Надійшла до редакції
27.I 1976 р.

V. V. F a j z u l i n

AGE PECULIARITIES OF EXCITATION IN ACINAR CELLS OF RAT PAROTID SALIVARY GLAND AT ADRENERGIC STIMULATION

Summary

Age-related hyperpolarization of surface (acinar) cells was found in the parotid salivary glands of intact rats. A rise in sensitivity to endo- and exogenous mediators was observed at adrenergic stimulation of these cells in old rats. Old rats required repeated stimulation of the sympathetic nerve to maintain high level of adrenergic reaction. It testifies to a decrease in nerve influence with aging. Actinomycin-D (0.15 mg/kg) slows down the development of sympathetic nerve-induced hyperpolarization.