

УДК 611.018.61:615

Н. И. Гокина

## О ПРИРОДЕ ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКОЙ СВЯЗИ В ГЛАДКИХ МЫШЦАХ МОЗГОВЫХ АРТЕРИЙ

Отсутствие экспериментальных исследований с одновременной регистрацией электрических и сократительных реакций гладкомышечных клеток мозговых артерий при действии различных стимулирующих веществ не дает возможности судить о характере связи между электрическими изменениями в мембране этих клеток и их сокращением.

Поскольку наиболее простым способом для выяснения природы электромеханической связи в гладких мышцах могут служить модельные эксперименты с гиперкалиевой деполяризацией, (было исследовано действие ионов калия в различных концентрациях на электрогенез и сокращение в гладких мышцах мозговых артерий.

### Методика исследований

Исследования проведены на спиральных полосках основной, средней и передней артерий мозга крупного рогатого скота. Длина мышечных полосок составляла 10 мм, ширина — 0,5—0,7 мм. Перед началом эксперимента полоски выдерживали не менее 2 ч в нормальном растворе Кребса следующего состава (в ммоль): NaCl — 120,4; KCl — 5,9; NaHCO<sub>3</sub> — 15,5; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 1,2; MgCl<sub>2</sub> — 1,2; глюкоза — 11,5; CaCl<sub>2</sub> — 2,5; pH омывающего раствора 7,3—7,4; температура раствора 36—36,5 °C. Для повышения концентрации ионов калия к раствору Кребса добавляли сухую соль KCl в необходимом количестве. Баскальциевый раствор готовили из основного раствора Кребса, не содержащего ионов кальция, с добавлением 0,5 ммоль ЭГТА и 12 ммоль MgCl<sub>2</sub>.

Для отведения электрических реакций использовали методику одинарного сахарозного мостика. Регистрацию сократительных реакций осуществляли с помощью макротрона 6МХ1С. Одновременную запись электрических и сократительных реакций проводили на автоматическом потенциометре типа КСП-4, а также фоторегистраторе (ФОР 2) с экрана осциллографа.

### Результаты исследований

В проведенных исследованиях различий в реакциях гладких мышц основной, средней и передней мозговых артерий при действии гиперкалиевого раствора не обнаружено.

На рис. 1 представлены типичные электрические и сократительные реакции гладкомышечных клеток основной артерии мозга на повышение концентрации ионов калия в омывающем растворе Кребса. Можно видеть, что характер реакции мышечных клеток зависит от исследуемой концентрации ионов калия. Повышение концентрации ионов калия в омывающем растворе до 10 ммоль приводило к гиперполяризации мембранны мышечных клеток и их расслаблению (рис. 1, А). При действии ионов калия в более высокой концентрации (15 ммоль) наблюдалась двухфазная реакция: начальная гиперполяризация мембранны сменялась ее деполяризацией, что сопровождалось кратковременным расслаблением мышечной полоски с последующим ее сокращением (рис. 1, Б).

Электрическая реакция гладких мышц мозговой артерии при действии ионов калия в концентрации 25—35 ммоль (рис. 1, В, Г) также начиналась с небольшой гиперполяризации мембранны, которая, однако, была заметно меньше, чем при действии ионов калия в концентрации 15 ммоль. Гиперполяризация мембранны сменялась затем деполяриза-

цией, которая при достижении порогового уровня, равного 5 мВ, приводила к генерации короткой серии потенциалов действия (ПД). Прекращение генерации ПД сопровождалось появлением небольшой добавочной волны деполяризации, длительностью 15—20 с, которая переходила в стойкую деполяризацию мембранны. Описанные электрические реакции сопровождались сложной сократительной реакцией мышечных клеток: начальная гиперполяризация мембранны приводила к расслаб-

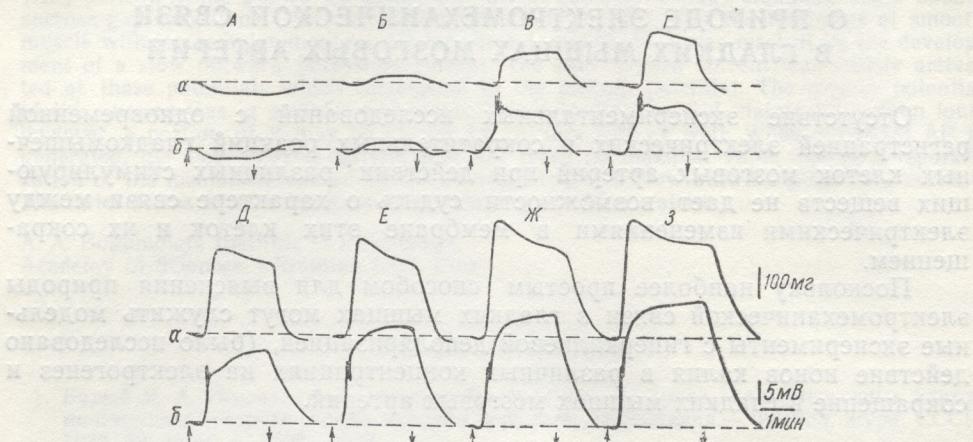


Рис. 1. Сократительные (а) и электрические (б) реакции гладкомышечных клеток основной артерии мозга при повышении концентрации  $K^+$  в омывающем растворе Кребса до:

*A* — 10; *B* — 15; *C* — 25; *D* — 35; *E* — 60; *F* — 80; *G* — 120; *H* — 160 ммоль. На данном и последующих рисунках: стрелки — начало и конец действия гиперкалиевого раствора; пунктирная линия — исходный уровень мышечного напряжения и потенциала покоя мышечных клеток.

лению, а последующая генерация ПД и стойкая деполяризация мембранны — к сокращению мышечной полоски. На рис. 2, А видно, что начальная часть такого сокращения состоит из медленно нарастающего тонического сокращения, соответствующего медленно нарастающей начальной деполяризации мембранны мышечных клеток. Генерация ПД приводила к появлению быстронарастающего фазного сокращения. Регистрация электрических и сократительных реакций при большей скорости развертки и большем усилении показала, что каждому ПД соответствовало фазное сокращение, причем быстрые фазные сокращения накладывались на медленно нарастающее тоническое сокращение мышечной полоски (рис. 2, Б). После прекращения генерации ПД фазные сокращения сменялись тоническим сокращением, амплитуда которого поддерживалась на постоянном уровне во время стойкой деполяризации мембранны.

По мере дальнейшего повышения концентрации ионов калия в омывающем растворе Кребса начальная гиперполяризация становилась все меньше, а последующая быстронарастающая калиевая деполяризация сливалась с разрядами ПД. Общая же амплитуда стойкой калиевой деполяризации увеличивалась. Сократительная реакция мышечных клеток также увеличивалась и в ней все больше выделялись две компоненты — начальная фазная и последующая тоническая (рис. 1, E—3).

При уменьшении калиевой деполяризации мышечных клеток гиперполяризующим током наблюдалось уменьшение амплитуды тонической компоненты сокращения, которое зависело от величины анэлек-тротонической реполяризации мембранны мышечных клеток.

Следует отметить, что иногда при действии ионов калия в концентрации 25—35 ммоль после генерации короткой серии ПД в начале деполяризации наблюдались повторные разряды ПД на фоне стойкой деполяризации. При этом сократительная реакция мышечных клеток

была смешано сокращения на

ции и амплитуды концентрации построены по рисунка, между

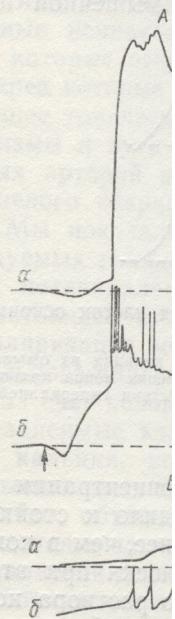


Рис. 2. Сократители мозговой артерии г.

Рис. 3. Зависимости (треугольники) и гладких мыши основных

калия в предела. Такая же зависи ческой компонен центрации ионов. При дальнейшем сокращения увел ляризация мембр в малых концентрациях мембранны и симость между сокращениями Кребса получена

Естественно, точные ионы кальция в ных реакциях мы не можем определить концентрации выяснения этого вопроса. Несмотря на то что клетки в бесконтактных опытах представляют

5 мВ, приводимой (ПД). Превышающей добавкой переносимые электрические импульсы мышечных клеток к расслаблению

была смешанной, фазно-тонической: сопровождающие ПД фазные сокращения накладывались на тоническое сокращение (рис. 2, A).

На рис. 3 показана графическая зависимость степени деполяризации и амплитуды сокращения мышечных клеток основной артерии от  $\lg$  концентрации ионов калия в омывающем растворе Кребса. Кривые построены по результатам опыта, показанного на рис. 1. Как видно из рисунка, между степенью деполяризации и  $\lg$  концентрации ионов

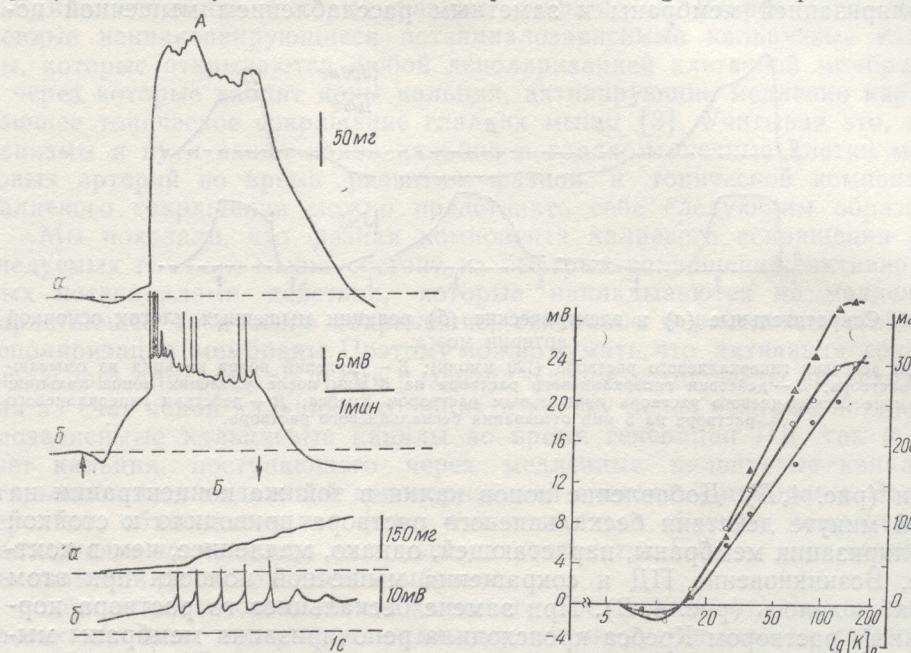


Рис. 2. Сократительная (a) и электрическая (б) реакции мышечных клеток средней мозговой артерии при повышении концентрации ионов калия в омывающем растворе Кребса до 35 ммоль.

A — запись реакций на КСП Б — осциллограмма начала реакций.

Рис. 3. Зависимость величины изменения ПП (черные кружочки), амплитуды фазной (треугольники) и тонической (белые кружочки) компонент калиевого сокращения гладких мышц основной артерии мозга от  $\lg$  концентрации ионов калия в омывающем растворе.

По вертикали слева — изменение ПП мышечных клеток в мВ; справа — изменение напряжения мышечных клеток в мг; по горизонтали —  $\lg$  концентрации ионов калия в омывающем растворе.

калия в пределах 15—160 моль существует линейная зависимость. Такая же зависимость наблюдалась между амплитудой фазной и тонической компонент калиевого сокращения с одной стороны, и  $\lg$  концентрации ионов калия в пределах 15—100 моль, с другой стороны. При дальнейшем повышении концентрации ионов калия амплитуда сокращения увеличивается в значительно меньшей степени, чем деполяризация мембранны мышечных клеток. При действии же ионов калия в малых концентрациях (10—15 моль) наблюдалась гиперполяризация мембранны и расслабление мышечных полосок. Аналогичная зависимость между степенью калиевой деполяризации, двумя компонентами сокращения и  $\lg$  концентрации ионов калия в омывающем растворе Кребса получена и в других наших экспериментах.

Естественно, возникает вопрос о том, какую роль играют внеклеточные ионы кальция в описанных выше электрических и сократительных реакциях мышечных клеток мозговых артерий в ответ на повышение концентрации ионов калия в омывающем растворе Кребса. Для выяснения этого было изучено действие ионов калия на гладкомышечные клетки в бескальциевом растворе. Результаты одного из таких опытов представлены на рис. 4.

Повышение концентрации ионов калия в нормальном растворе Кребса до 120 ммол приводило к стойкой деполяризации мембранны мышечных клеток, в начале которой появлялись ПД. Эти изменения сопровождались двухкомпонентной сократительной реакцией мышечной полоски (рис. 4, А). Отмывание полоски нормальным раствором Кребса приводило к исчезновению указанных изменений. Удаление ионов кальция из омывающего раствора сопровождалось незначительной деполяризацией мембранны и заметным расслаблением мышечной по-

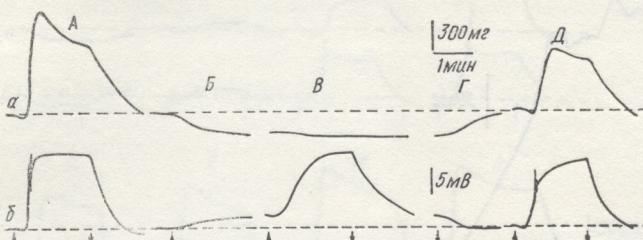


Рис. 4. Сократительные (а) и электрические (б) реакции мышечных клеток основной артерии мозга.

А — при действии гиперкалиевого раствора (120 ммол); Б — удаление ионов кальция из омывающего раствора; В — действие гиперкалиевого раствора на 5 мин после удаления ионов кальция; Г — замене бескальциевого раствора нормальным раствором Кребса; Д — действие гиперкалиевого раствора на 5 мин отмывания бескальциевого раствора.

лоски (рис. 4, Б). Добавление ионов калия в той же концентрации на пятой минуте действия бескальциевого раствора приводило к стойкой деполяризации мембранны, нарастающей, однако, медленнее, чем в контроле. Возникновения ПД и сокращения мышечной полоски при этом не наблюдалось (рис. 4, Б). При замене бескальциевого раствора нормальным раствором Кребса происходила реполяризация мембранны мышечных клеток и восстановление исходного напряжения мышечной полоски (рис. 4, Г). К пятой минуте отмывания восстанавливалась реакция мышечных клеток на действие ионов калия в концентрации 120 ммол: появлялись ПД и сокращения мышечной полоски (рис. 4, Д).

#### Обсуждение результатов исследований

Проведенные исследования показали, что гиперкалиевый раствор вызывает в гладкомышечных клетках мозговых артерий три типа электрических и сократительных реакций, характер которых определяется концентрацией ионов калия в омывающем растворе. Повышение концентрации ионов калия до 10 ммол приводило к гиперполяризации мембранны и расслаблению мышечных полосок. Повышение концентрации этих ионов до 15 ммол сопровождалось деполяризацией и развитием тонического сокращения. При действии ионов калия в более высоких концентрациях деполяризация мембранны при достижении порогового уровня приводила к генерации короткой серии ПД. В этом случае сократительная реакция состояла из двух компонент: фазной и тонической.

В бескальциевом растворе повышение концентрации ионов калия приводило к стойкой деполяризации клеточной мембранны, в начале которой, однако, никогда не возникали ПД. Очевидно, в гладких мышцах мозговых артерий, как и в большинстве других гладких мышц [5], ПД имеют кальциевую природу. В отсутствие ионов кальция калиевая деполяризация не сопровождалась сокращением мышечных полосок. Эти данные позволяют считать, что обе компоненты калиевого сокращения активируются преимущественно внеклеточными ионами кальция. Поскольку удаление ионов кальция из омывающего раствора

приводило к з...  
сделать заключение о участии в по...

В настоящее время гладкомышечных каналов потенциалзависимых ПД и в активированные неинактивные, которые открыты и через которые тающее тоническое механизмы и пути гловых артерий в калиевого сокращения.

Мы показали следуемых гладкомышечных потенциалов нарастающее тоническое деполяризации моторного аппарата, как за счет ионов калия, алозависимые как счет кальция, открываяшиеся вероятно, объясняются находятся в зависимости калиевой деполяризации.

Тоническая же клеток мозговых артерий, входящими в клеточные каналы, которые мембранны. На по- клетку указывают исследования пока- вого сокращения и поляризации клеточных активируется внеклеточно, будет зависеть от того, чем больше деполяризует клетку, то есть распределение калиевым мембранны мышечных раствором, приводит к тому, что калиевого сокращения медленные каналы, количество кальция мышца расслабляется.

Нужно отметить, что мы наблюдали электрическим током переполяризации, вызванных активирующими кальцием, обеспечивает повышенное участие в поддержании сокращения.

Функциональная активность ионов калия известно, что при усиле-

ном растворе  
ции мембранны  
Эти изменения  
ией мышечной  
створом Кребс-  
даление ионов  
значительной  
мышечной по-

клеток основной

кальция из омываю-  
щих ионов кальция;

центрации на-  
ило к стойкой  
ее, чем в конт-  
роле при этом  
раствора норма-  
мембранны мы-  
мышечной по-  
левалась реак-  
концентрации  
ной полоски

иевый раствор  
три типа  
ных определя-  
е. Повышение  
перполяризации  
ние концентра-  
цией и разви-  
я в более вы-  
стижении поро-  
Д. В этом слу-  
мент : фазной и

и ионов калия  
аны, в начале  
гладких мыш-  
ких мышц [5],  
льция калиевая  
ечных полосок.  
лиевого сокра-  
нами кальция.  
щего раствора

приводило к значительному расслаблению мышечных полосок, можно сделать заключение, что внеклеточные ионы кальция принимают также участие в поддержании базального тонуса мозговых артерий.

В настоящее время существует предположение о наличии в мембране гладкомышечных клеток двух типов потенциалзависимых кальциевых каналов [3]. Первый тип — это быстрые инактивирующиеся потенциалзависимые кальциевые каналы, участвующие в генерации ПД и в активации быстрых фазных сокращений. Второй тип — медленные неинактивирующиеся потенциалзависимые кальциевые каналы, которые открываются любой деполяризацией клеточной мембранны и через которые входят ионы кальция, активирующие медленно нарастающее тоническое сокращение гладких мышц [3]. Учитывая это, механизмы и пути входа ионов кальция в гладкомышечные клетки мозговых артерий во время развития фазной и тонической компонент калиевого сокращения можно представить себе следующим образом.

Мы показали, что фазная компонента калиевого сокращения ис-  
следуемых гладких мышц состоит из быстрых сокращений, активируе-  
мых потенциалами действия, которые накладываются на медленно  
нарастающее тоническое сокращение, связанное с развитием стойкой  
деполяризации мембранны. Поэтому можно думать, что активация сокра-  
тительного аппарата во время развития фазной компоненты происходит  
как за счет ионов кальция, входящих в клетку через быстрые потенци-  
алзависимые кальциевые каналы во время генерации ПД, так и за  
счет кальция, поступающего через медленные кальциевые каналы,  
открывающиеся медленной деполяризацией клеточной мембранны. Этим,  
вероятно, объясняется тот факт, что амплитуда фазной компоненты  
находится в зависимости не только от количества ПД, но и от величины  
калиевой деполяризации мембранны.

Тоническая же компонента калиевого сокращения гладкомышечных клеток мозговых артерий, по-видимому, активируется ионами кальция, входящими в клетку через медленные потенциалзависимые кальциевые каналы, которые открываются калиевой деполяризацией клеточной мембранны. На потенциал зависимость этого входа ионов кальция в клетку указывают следующие факты. Во-первых, проведенные нами исследования показали, что амплитуда тонической компоненты калиевого сокращения находится в прямой зависимости от величины деполяризации клеточной мембранны. Поскольку тоническая компонента активируется внеклеточными ионами кальция, ее амплитуда, очевидно, будет зависеть от количества кальция, вошедшего в клетку. Поэтому чем больше деполяризация, тем больше ионов кальция поступает в клетку, то есть рассматриваемый вход ионов кальция является потенциал зависимым. Во-вторых, анэлектротоническая деполяризация мембранны мышечных клеток, деполяризованных гиперкалиевым раствором, приводит к значительному уменьшению тонической компоненты калиевого сокращения. В этом случае предполагаемые кальциевые медленные каналы, открываемые калиевой деполяризацией, закрываются, количество кальция, поступающего в клетку, уменьшается, и мышца расслабляется.

Нужно отметить, что расслабление гладких мышц мозговых арте-  
рий мы наблюдали и при гиперполяризации клеточной мембранны  
электрическим током в нормальном растворе Кребса, а также при ги-  
перполяризации, вызываемой действием ионов калия в малых концен-  
трациях. По-видимому, часть медленных потенциалзависимых неинак-  
тивирующихся кальциевых каналов в исходном состоянии открыта, что  
обеспечивает повышенный вход ионов кальция в клетку, которые и  
участвуют в поддержании базального тонуса сосудов.

Функциональная роль расслабления, наблюдавшегося нами при дей-  
ствии ионов калия в малых концентрациях, очевидна, поскольку из-  
вестно, что при усиливении нейрональной активности, ишемии, гипоксии

мозга, то есть в условиях, требующих усиленного притока крови к тому или иному участку мозга, концентрация ионов калия в области соответствующих мозговых артерий повышается до 10—15 ммоль [1, 2, 4]. Наблюдаемая при этом гиперполяризация мембраны может быть обусловлена действием тормозного медиатора, выделяющегося из нервных окончаний в стенке сосудов при их деполяризации ионами калия, либо прямым влиянием этих ионов на потенциал покоя мембранны мышечных клеток (например, через активацию электрогенного  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  насоса в мемbrane мышечных клеток) [6, 7]. Однако, к настоящему времени еще нет достаточных экспериментальных данных в пользу первого или второго предположения.

Небольшая начальная гиперполяризация мембранны, сопровождающаяся расслаблением, наблюдалась также в начале действия ионов калия в более высоких концентрациях. Это, очевидно, связано с тем, что при замене нормального раствора Кребса гиперкалиевым, концентрация ионов калия у поверхности мышечных клеток повышается постепенно, и вначале проявляется эффект действия малых концентраций этих ионов.

N. I. Gokina

### ON THE NATURE OF ELECTROMECHANICAL COUPLING IN SMOOTH MUSCLES OF THE BRAIN ARTERIES

#### Summary

The action of  $\text{K}^+$  ions on electrogenesis and contraction in smooth muscles of the basilar, middle and anterior arteries of the cattle brain was studied. An increase in  $\text{K}^+$  ion concentration above 25 mM led to depolarization of the smooth muscle cell membrane and to an action potential (AP) generation followed by a contractile response of muscle strips consisting of two components. In the Ca-free Krebs solution an increase in  $\text{K}^+$  ion concentration did not cause an AP generation and muscle strip contraction. It is supposed that the phasic component of K contraction is activated by extracellular  $\text{Ca}^{++}$  ions which enter the smooth muscle cells through fast inactivated voltage-dependent Ca channels participating in the AP generation and through slow noninactivated voltage-dependent Ca channels opened by a slow membrane depolarization. At the same time the K-contraction tonic component is activated by extracellular  $\text{Ca}^{++}$  ions entering the cells through the slow voltage-dependent channels opened by K depolarization of the cell membrane.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,  
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

#### Список литературы

- Буров С. В. Участие ионов калия и норадреналина в регуляции локального кровоснабжения головного мозга: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ленинград, 1977. 22 с.
- Демченко И. Т., Дерий А. Н., Буров С. В. О возможном участии ионов калия в регуляции местного мозгового кровотока.—Физиол. журн. СССР, 1975, 61, № 4, с. 577—584.
- Шуба М. Ф., Тараненко В. М., Кочемасова Н. Г. Действие ионов калия на электро-генез и сокращение в гладких мышцах мочеточника.—Физиол. журн. СССР, 1980, 66, № 8, с. 1200—1208.
- Baldy-Moulinier M., Negre C. H.  $\text{K}^+$  as pathological stimulus for dilatation or contraction of cerebral vessels.—In: Ionic action on vascular smooth muscle. Berlin, 1976, p. 97—100.
- Kuriyama H., Ito Y., Suzuki H. Effects of membrane potential on activation of contraction in various smooth muscles.—In: Excitation—contraction coupling in smooth muscle. Amsterdam, 1977, p. 25—35.
- Kuschinsky W., Wahl M., Bosse O., Thurau K. Perivascular potassium and pH as determinants of local arterial diameter in cats.—Circ. Res., 1976, 31, N 2, p. 240—247.
- Toda N. Potassium-induced relaxation in isolated cerebral arteries contracted with prostaglandin  $\text{F}_{2\alpha}$ .—Pflügers Arch., 1976, 364, N 2, p. 235—242.

Институт физиологии  
им. А. А. Богомольца АН УССР, Киев

Поступила в редакцию  
22.V 1981 г.

УДК 616—003.725:576.8

СТАБИЛИЗАЦИЯ  
НА

При изучении...  
имеет исследование.  
Нами ранее уст-  
раны эритроциты  
нина на экскретор-  
у облученных...  
препарат стабилизации

Развитие л...  
связано с функ-  
ция из предпо-  
мере обусловлено  
исследовали вли-  
зосом печени in  
гепатите. В каче-  
ству фосфатазы

Исследования  
Спленин вводили в  
раствора в дозе 0,5  
внутрибрюшинным...  
Животные были раз-  
сы, которым вводили  
через день; V —  $\text{CCl}_4$   
 $\text{CCl}_4$ ; VI — после в  
24 ч после прекраще-  
ния 12 ч. Печень пе-  
кали, измельчили на  
флоновым пестиком  
ности мембран лизи-  
жидкости, которую  
при 105 000 g (центри-  
фугировали по [16]. Общую  
сумму определяли по [17], с  
вали в качестве суб-  
страта определяли по [18].  
Чистоту фракций в  
изучения влияния сп-  
ленина на фракции опре-  
делены лизосом. Выделены  
при температуре 37°C  
спленина и тритон X-100 (0,025; 0,05 и 0,1%).  
Фосфатазы определя-  
ны фракции лизосом неорганичес-  
кой кислоты при температуре 37°C.

Полученные да-  
стъюдента.

Опыты *in vivo*  
кислой фосфатазы  
крыс (II группа).

7 — Физиологический жур-