

УДК 612.73:612.014.42:616—003.725

Л. В. Байдан, С. М. Тишкин

ВЛИЯНИЕ АПАМИНА НА СИНАПТИЧЕСКУЮ ПЕРЕДАЧУ И ТОРМОЗЯЩИЙ ЭФФЕКТ АТФ И НОРАДРЕНАЛИНА В ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТКАХ ОБОДОЧНОЙ КИШКИ МОРСКОЙ СВИНКИ

В гладкомышечных клетках продольного и кольцевого слоев слепой кишки морской свинки апамин блокирует тормозные синаптические потенциалы (ТСП), а также гиперполяризующее действие норадреналина (НА) и АТФ. После блокирования ТСП в этих мышцах возникают нехолинергические возбуждающие синаптические потенциалы (ВСП) и деполяризация при аппликации АТФ и НА [3, 4, 15]. Исследование ионной природы этой деполяризации показало, что апамин, видимо, не модифицирует тормозные рецепторы в возбуждающие, а только способствует выявлению возбуждающих влияний, которые маскируются более сильными тормозными [5]. Представлялось интересным исследовать, проявляется ли описанное действие апамина в других отделах кишечника.

Методика исследований

Опыты проведены на изолированных полосках кольцевых и продольных мышц дистальных отделов *colon* морской свинки с помощью методики сахарозного мостика. Интрамуральное раздражение осуществляли одиночными импульсами электрического тока длительностью 0,1—0,3 мс супрамаксимальной величины. Механическую активность регистрировали с помощью механотрона. В опытах применяли атропин в концентрации 10^{-6} моль, рН растворов 7,3. Опыты проводились при температуре 34—36 °C.

Результаты исследований

В гладкомышечных клетках (ГМК) кольцевого слоя дистальных участков *colon* в ответ на интрамуральное раздражение возникали ТСП, амплитудой 12—20 мВ. Аппликация АТФ вызывала гиперполяризацию мембраны на 3—5 мВ и уменьшение амплитуды ТСП. Подобные изменения ТСП и потенциала покоя (ПП) проявлялись и при действии 10^{-6} — 3×10^{-6} моль НА (рис. 1, а). В кольцевых мышцах НА и АТФ вызывают также угнетение фазных сокращений (рис. 2, I) и заметное расслабление мышечной полоски при наличии исходного тонуса.

При действии апамин в концентрации 10^{-7} — 10^{-5} моль наблюдалось уменьшение амплитуды ТСП, небольшая деполяризация мембраны и увеличение спонтанной электрической активности (рис. 1, а). Как видно из рис. 3, А, амплитуда ТСП уменьшается с 12 до 2—3 мВ, их длительность увеличивается. Однако даже при продолжительной аппликации апамин в течение 30 мин обнаружить ВСП, подобные наблюдаемым в слепой кишке, не удалось. Гиперполяризующие эффекты экзогенных АТФ и НА заметно уменьшаются, однако полностью не блокируются (рис. 1, б). При отмывании наблюдается увеличение спонтанной электрической активности и небольшая деполяризация мембраны. Угнетение механической активности в кольцевом слое сохраняется и в присутствии апамин (рис. 2, II).

В ГМК продольного слоя в ответ на одиночное интрамуральное раздражение возникали ТСП амплитудой 2—4 мВ. При действии АТФ (10^{-3} моль) в большинстве случаев наблюдается деполяризация мембраны ГМК на 5—10 мВ (рис. 4, а), ТСП уменьшаются по амплитуде.

НА (10^{-6} — 5×10^{-6} моль) не вызывал заметных изменений ПП ГМК продольного слоя (рис. 4, б). Однако сократительная активность при действии и АТФ и НА угнетается, и на фоне действия апамина это угнетение сохраняется (рис. 2, III, IV). В тех полосках, где в норме

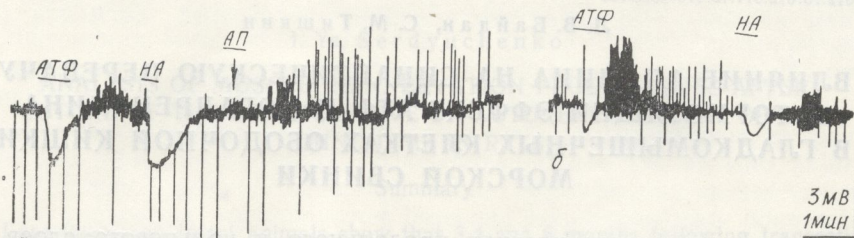


Рис. 1. Действие АТФ (10^{-3} моль), норадреналина (10^{-6} моль) и апамина (5×10^{-7} моль) на гладкомышечные клетки кольцевого слоя *colon*.

а — гиперполяризация и уменьшение ТСП при действии АТФ и НА, уменьшение ТСП и усиление спонтанной активности при действии апамина (начало действия апамина показано стрелкой), б — гиперполяризация и уменьшение ТСП при действии АТФ (10^{-3} моль) и НА (10^{-6} моль) на 20 мин действия апамина.

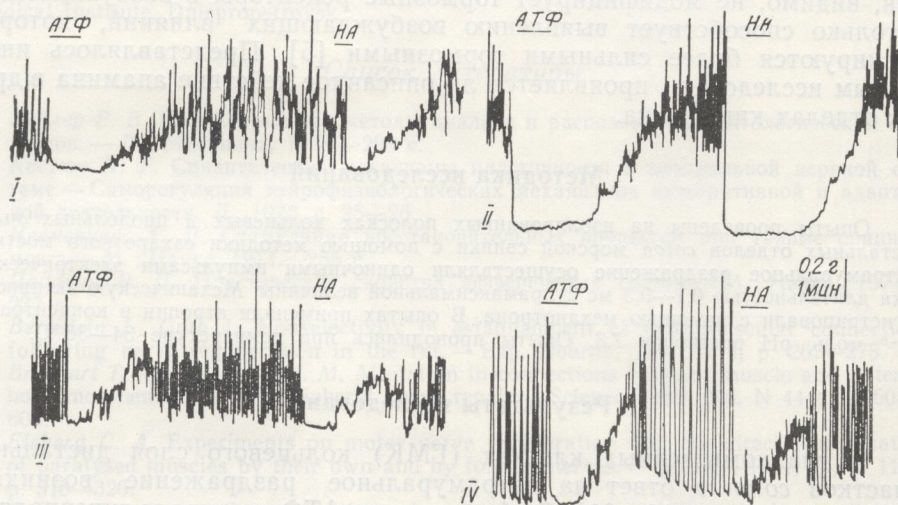


Рис. 2. Изменение сократительной активности ГМК *colon* при действии АТФ (10^{-3} моль) и НА (10^{-6} моль).

I — угнетение сократительной активности ГМК кольцевого слоя при аппликации АТФ и НА до действия апамина; II — на 20 мин действия апамина; III — угнетение сократительной активности ГМК продольного слоя при действии АТФ и НА; IV — на 20 мин действия апамина (5×10^{-7} моль).

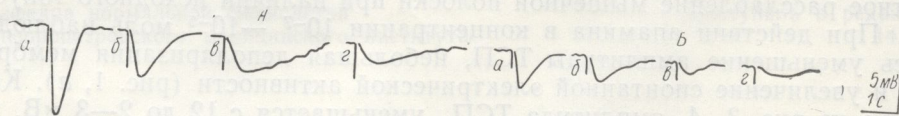


Рис. 3. Действие апамина в концентрации 5×10^{-7} моль на ТСП, отведенные: А — в кольцевом (а — ТСП в норме, б, в, г — 10, 20, 30 мин действия) и Б — в продольном мышечном слое *colon* (а — ТСП в норме, б, в, г — 5, 10, 15 мин действия).

аппликации АТФ и НА не вызывали изменений ПП, в присутствии апамина при действии АТФ наблюдалась деполяризация, а при действии НА — изменений ПП не было (рис. 4, в, г). Что касается ТСП, отводимых в продольном слое, то в присутствии апамина они уменьшались (рис. 3, Б).

Представлялось интересным исследовать причину противоречия между наблюдаемыми электрическими и сократительными реакциями ГМК продольного слоя под влиянием экзогенной АТФ. При одновре-

менном ответе, что сигналов, возн быстрое пилизали, хотя м

В литературе описано, что Барнсток при обусловле Как и в другой передаче вая гиперпо

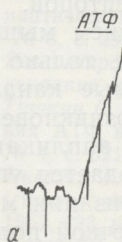


Рис. 4. Исследо

а — деполяризация ТСП в ответ на действие НА (10^{-6} моль) в некоторых

циалов. Мок катором ТСП проявит так варительные потенциал р по-видимому

Апамин, щее действии что апамин

(или весь к В случае та

ных АТФ и го не наблю

ствие на фо ществовании

вание ВСП и вывод подт

ионной при НА [5].

Суммарн висеть от к

тормозящими торы согласи

Неполное бл

ий ПП ГМК
тивность при
апамина это
где в норме



3 мВ
1 мин

апамина (5×10^{-7} моль).

ТСП и усиление
стрелкой), б —
моль) на 20 мин



0,2 г
1 мин



(10^{-3} моль)

АТФ и НА до
и активности
(5×10^{-7} моль).

5 мВ
1 с

енные:
ном мышеч-

ствии апа-
действию
отводи-
ншалось

творения
реакциями
одноре-

менном отведении электрической и механической активности оказалось, что сокращения связаны с генерацией быстрых пиковых потенциалов, возникающих на вершине медленных волн. В присутствии АТФ быстрые пиковые потенциалы угнетались, и фазные сокращения исчезали, хотя медленные волны продолжали возникать.

Обсуждение результатов исследований

В литературе имеются данные о том, что тормозные реакции в *colon* обусловлены наличием неадренергического торможения [9]. Барнсток предположил, что это торможение является пуринаргическим и обусловлено высвобождением АТФ или близких ей соединений [7]. Как и в других отделах желудочно-кишечного тракта с пуринаргической передачей, АТФ воспроизводит в *colon* действие медиатора, вызывая гиперполяризацию мембраны и уменьшение синаптических потен-

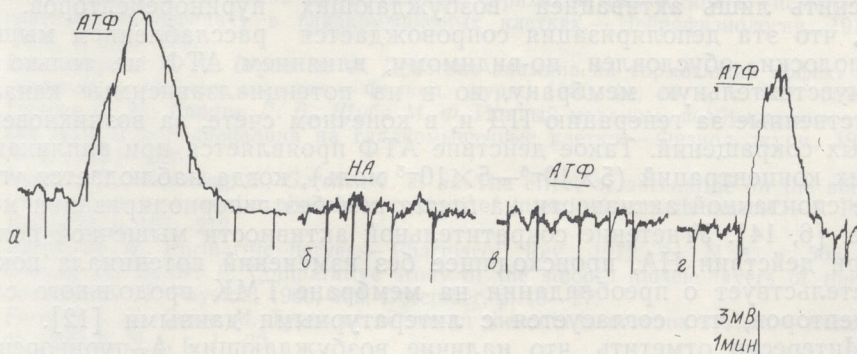


Рис. 4. Исследование влияния АТФ (10^{-3} моль) и НА (10^{-6} моль) на ГМК продольного слоя *colon*.

а — деполяризация и уменьшение ГСП при действии АТФ (10^{-3} моль); б — отсутствие эффекта при действии НА (10^{-6} моль) (а и б — один и тот же препарат), в — отсутствие эффекта АТФ, наблюдаемое в некоторых препаратах, г — проявление эффекта АТФ после 10 мин действия апамина (5×10^{-7} моль) (в и г один и тот же препарат).

циалов. Можно было ожидать, что апамин, будучи эффективным блоком ТСП и гиперполяризующего действия АТФ в слепой кишке, проявит такое же действие и в ободочной кишке, тем более, что предварительные исследования ионной природы ТСП в *colon* показали, что потенциал реверсии ТСП составляет около 70 мВ, что соответствует, по-видимому, как и в слепой кишке, калиевому равновесному [13].

Апамин, однако, не полностью блокировал ТСП и гиперполяризующее действие АТФ. Прежде всего, этот факт свидетельствует о том, что апамин не модифицирует тормозящие АТФ и адренорецепторы (или весь комплекс хеморецептор — ионный канал) в возбуждающие. В случае такой модификации ВСП и возбуждающее действие экзогенных АТФ и НА непременно проявится. Поскольку в наших опытах этого не наблюдалось, то можно предположить, что возбуждающее действие на фоне апамина может проявиться лишь при изначальном существовании на мембране ГМК структур, обеспечивающих возникновение ВСП и деполяризации при действии экзогенных АТФ и НА. Этот вывод подтверждается и полученными ранее данными о различной ионной природе тормозящего и возбуждающего действия АТФ и НА [5].

Суммарная электрическая реакция, отводимая от ГМК, будет зависеть от количественного соотношения между апаминчувствительными тормозящими и апаминоустойчивыми возбуждающими (A_1 и A_2 — рецепторы согласно классификации Шубы [16]) АТФ и адренорецепторами. Неполное блокирование ТСП, АТФ и НА гиперполяризации, а также

отсутствие ВСП и деполяризации в кольцевых мышцах *colon* можно объяснить наличием лишь небольшого количества возбуждающих A_2 -пурино- и адренорецепторов либо полным их отсутствием.

Подтверждением этому выводу может служить такой факт. В желудке и в дистальном отделе прямой кишки пуринергические нервы управляются одинаково — преганглионарными холинергическими волокнами парасимпатического происхождения [2], что предполагает одинаковый набор пурино- и адренорецепторов на мембране ГМК. Действительно, в желудке, на фоне действия апамина, ТСП блокируются лишь частично, а АТФ деполяризация не возникает, подобно тому, как это наблюдается в *colon*. В то же время реакция на НА в этих отделах при действии апамина различна [4, 16].

О существовании возбуждающих апаминустойчивых A_2 -пурино- и адренорецепторов свидетельствуют опыты по изучению действия экзогенной АТФ на ГМК продольного слоя. Наблюдаемую АТФ-деполяризацию можно объяснить лишь активацией возбуждающих пурино- и адренорецепторов. Тот факт, что эта деполяризация сопровождается расслаблением мышечной полоски, обусловлен, по-видимому, влиянием АТФ не только на хемочувствительную мембрану, но и на потенциалзависимые каналы, ответственные за генерацию ПД и, в конечном счете, за возникновение фазных сокращений. Такое действие АТФ проявляется при аппликации низких концентраций (5×10^{-6} — 5×10^{-5} моль), когда наблюдается угнетение спонтанной активности на *taenia coli* без гиперполяризации мембраны [6, 14]. Угнетение сократительной активности мышечной полоски при действии НА, происходящее без изменений потенциала покоя, свидетельствует о преобладании на мембране ГМК продольного слоя β -рецепторов, что согласуется с литературными данными [12].

Интересно отметить, что наличие возбуждающих A_2 -пурино- и адренорецепторов является, по-видимому, характерным для продольного слоя ГМК кишечника, подобно тому как для этого слоя характерно присутствие β -, а не α -адренорецепторов. Так, предварительные опыты на *ileum* показали, что и в тонком кишечнике в ответ на аппликацию АТФ в ГМК продольного слоя наблюдается деполяризация мембраны на 10—15 мВ. Правда здесь эта деполяризация сопровождается сильным сокращением мышечной полоски.

Что касается ТСП, наблюдаемых в продольном слое, то они отводятся, по-видимому, вследствие электротонического распространения из кольцевого слоя. В пользу этого можно высказать следующие соображения. Согласно литературным данным, продольный мышечный слой мелких млекопитающих иннервирован слабо, за исключением *taenia coli* [9, 10]. Несмотря на то, что имеются данные о слабой электрической связи между слоями в кишечнике [8, 10], тот факт, что ТСП возникает в продольном слое только при наличии кольцевого, позволяет рассматривать их как результат пассивного распространения из кольцевых мышц.

L. V. Baidan, S. M. Tishkin

THE INFLUENCE OF APAMIN ON SYNAPTIC TRANSMISSION AND INHIBITORY EFFECTS OF ATP AND NORADRENALINE IN GUINEA-PIG COLON SMOOTH MUSCLE CELLS

Summary

Neuromuscular transmission and influence of exogenous ATP and noradrenaline (NA) on smooth muscle cells of guinea-pig large intestine distal segments were studied by the double sucrose gap method. Application of ATP (10^{-4} — 10^{-3} M) and NA ($3 \cdot 10^{-6}$ M) induced hyperpolarization and reduction of the amplitude of inhibitory synaptic potentials (ISP) in smooth muscle cells of a circular layer. These phenomena were accompanied by inhibition of phasic contractions and relaxation of a muscle strip. Apamin ($3 \cdot 10^{-7}$ M) within 30-40 min of action greatly decreased the ISP amplitude and the value of hyperpo-

larization evoked longer periods of ATP and NA evoked relaxation. ISP reduction was accompanied by inhibition of phasic contractions and relaxation of a muscle strip.

Department of Physiology,
A. A. Bogomolov Institute of Medicine,
Academy of Sciences of the USSR

1. Байдан Л. В., Тишкин С. М. Влияние апамина на спонтанную активность гладких мышц кишечника. 1978, 241, J.
2. Барнсток Д. Влияние апамина на спонтанную активность гладких мышц кишечника. 1978, 241, J.
3. Владимиров В. В. Влияние апамина на спонтанную активность гладких мышц кишечника. 1978, 241, J.
4. Владимиров В. В. Влияние апамина на спонтанную активность гладких мышц кишечника. 1978, 241, J.
5. Тишкин С. М. Влияние апамина на спонтанную активность гладких мышц кишечника. 1978, 241, J.
6. Bueding E. The effects of ATP on the smooth muscle of the guinea-pig ileum. 1967, 193, p.
7. Burnstock D. The effects of ATP on the smooth muscle of the guinea-pig ileum. 1967, 193, p.
8. Cheung D. The effects of ATP on the smooth muscle of the guinea-pig ileum. 1967, 193, p.
9. Furness J. The effects of ATP on the smooth muscle of the guinea-pig ileum. 1967, 193, p.
10. Hirst G. D. The effects of ATP on the smooth muscle of the guinea-pig ileum. 1967, 193, p.
11. Holman M. The effects of ATP on the smooth muscle of the guinea-pig ileum. 1967, 193, p.
12. Lee C. J. A. The effects of ATP on the smooth muscle of the guinea-pig ileum. 1967, 193, p.
13. Tomita T. C. The effects of ATP on the smooth muscle of the guinea-pig ileum. 1967, 193, p.
14. Tomita T. The effects of ATP on the smooth muscle of the guinea-pig ileum. 1967, 193, p.
15. Shuba M. F. The effects of ATP on the smooth muscle of the guinea-pig ileum. 1967, 193, p.
16. Shuba M. F. The effects of ATP on the smooth muscle of the guinea-pig ileum. 1967, 193, p.

Отдел нервнo-м
Института физ
АН УССР, Киев

лон можно
дающих A_2 -
факт. В же-
еские нервы
кими волок-
агает оди-
ствительно,
ишь частич-
это наблю-
ах при дей-

е-пуриноре-
енной АТФ
цию можно
торов. Тот
ем мышеч-
только на
е каналы,
никновение
пликации
ется угне-
ации мем-
ной полос-
ала покоя,
ного слоя
[12].

инорецеп-
слоя ГМК
исутствие
ileum по-
Ф в ГМК
0—15 мВ.
сокраще-

они отво-
странения
щие сооб-
ный слой
ем taenia
лектриче-
ТСП воз-
позволяет
из коль-

aline (NA)
studied by
 $3 \cdot 10^{-6}$ M)
otic poten-
companied
 $3 \cdot 10^{-7}$ M)
hyperpo-

larization evoked by ATP and NA application. But ISP did not disappear completely at longer periods of apamin action (1 h). No excitatory synaptic potentials and reversal of ATP and NA effects was observed in the presence of apamin. In this case ATP and NA evoked relaxation of muscle cells of a longitudinal layer but did not elicit hyperpolarization. ISP recorded from the longitudinal muscle are possibly a result of a passive propagation from the circular layer.

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

Список литературы

1. Байдан Л. В., Владимиров И. А., Мирошников А. И., Таран Г. А. Действие апамина на синаптическую передачу в различных типах синапсов.— Докл. АН СССР, 1978, 241, № 5, с. 1224—1227.
2. Барнсток Дж. Пуринергические синапсы и эволюция. — В кн.: Сравнительная фармакология синаптических рецепторов. Л.: Наука, 1977, с. 26—33.
3. Владимиров И. А., Шуба М. Ф. Влияние стрихнина, гидрастина и апамина на синаптическую передачу в гладкомышечных клетках.— Нейрофизиология, 1978, 10, № 3, с. 295—299.
4. Владимиров И. А., Шуба М. Ф. Действие апамина на тормозящий эффект норадреналина в гладких мышцах.— Физиол. журн., 1980, 26, № 4, с. 547—552.
5. Тишкин С. М., Байдан Л. В., Шуба М. Ф. Ионный механизм возбуждающего действия АТФ и норадреналина на гладкомышечные клетки.— Физиол. журн., 1981, 27, № 4, с. 521—526.
6. Bueding E., Bulbring E., Gercken J. et al. The effect of adrenaline on the adenosine triphosphate and creatin phosphate content of intestinal smooth muscle.— J. Physiol., 1967, 193, p. 187—212.
7. Burnstock G. Purinergic nerves.— Pharmacol. Rev., 1972, 24, N 3, p. 509—581.
8. Cheung D., Daniel E. Comparative study of the smooth muscle layers of the rabbit duodenum.— J. Physiol., 1980, 309, December, p. 13—27.
9. Furness J. B., Costa M. Types of nerves in the enteric nervous system.— Neuroscience, 1980, 5, N 1, p. 1—20.
10. Hirst G. D. S. Mechanisms of peristalsis.— Brit. Med. Bull., 1979, 35, N 3, p. 263—268.
11. Holman M. E. The intrinsic innervation and peristaltic reflex of the small intestine. — In: Smooth muscle. London: Edward Arnold, 1981, p. 311—338.
12. Lee C. J. Adrenergic receptors in the intestine.— In: Smooth muscle. London: Edward Arnold, 1970.
13. Tomita T. Conductance change during the inhibitory potential in the guinea-pig taenia coli.— J. Physiol., 1972, 225, N 3, p. 693—703.
14. Tomita T., Watanabe H. A comparison of the effects of adenosine triphosphate with noradrenaline and with the inhibitory potential of the guinea-pig taenia coli.— Ibid, 1973, 231, N 1, p. 167—177.
15. Shuba M. F., Vladimirova I. A. Effect of apamin on the electrical responses of smooth muscle to adenosine 5'-triphosphate and to non-adrenergic, non-cholinergic nerve stimulation.— Neuroscience, 1980, 5, N 5, p. 853—859.
16. Shuba M. F., Vladimirova I. A. Action of apamin on nerve-muscle transmission and the effects of ATP and noradrenaline in smooth muscle. 28-th International congress of physiological sciences. Budapest, Akad. Kiado, 1981, p. 111—126.

Отдел нервно-мышечной физиологии
Института физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
27.07.81