

obtained permits supposing that inhibition of the efferent sympathetic impulsation during focal heart lesions occurs mainly due to switching-on of cardiogenic vagosympathetic depressor reflex, that is of adaptive importance at early stages of focal heart pathology.

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

1. Бураков И. Е. Изменение содержания катехоламинов и сократительной функции миокарда при очаговом цитотоксическом поражении сердца // Физиол. журн.—1981.—27, № 6.—С. 780—785.
2. Малая Л. Т., Власенко М. А., Микляев И. Ю. Инфаркт миокарда.—М.: Медицина, 1981.—487 с.
3. Меерсон Ф. З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца.—М.: Медицина, 1984.—269 с.
4. Миргородский В. Н., Скок В. И. Тоническая импульсация в пре- и постганглионарных симпатических волокнах млекопитающих // Нейрофизиология.—1969.—1, № 1.—С. 312—317.
5. Мойбенко А. А., Повзжитков М. М., Бутенко Г. М. Цитотоксические повреждения сердца и кардиогенный шок.—Киев: Наук. думка, 1979.—140 с.
6. Мойбенко А. А., Павлюченко В. Б., Бураков И. Е., Шабан В. М. О механизмах развития кардиогенных ваго-симпатических рефлексов // Физиол. журн. СССР.—1982.—68, № 8.—С. 1103—1110.
7. Павлюченко В. Б., Бураков И. Е. Аfferентная импульсация в сердечных ветвях блуждающих нервов при внутрикорономарном и внутривенном введении антикардиальной цитотоксической сыворотки // Физиол. журн.—1983.—29, № 2.—С. 186—191.
8. Павлюченко В. Б. Исследование электрической активности экстракардиальных нервов при очаговых (ишемическом и иммунном) повреждениях сердца // Автореф. дис. ... канд. биол. наук.—Киев, 1984.—25 с.
9. Попов В. Г., Лазутина В. К., Хитров Н. К. и др. Содержание норадреналина и адреналина в разных зонах сердца у больных, умерших от инфаркта миокарда // Кардиология.—1975.—15, № 10.—С. 102—107.
10. Felder R., Thames M. The cardiocardiac sympathetic reflex during coronary occlusion in anesthetized dogs // Circ. Res.—1981.—48, N 4.—P. 685—692.
11. Feola M., Arbel E., Gluck G. Attenuation of cardiac sympathetic drive in experimental myocardial ischemia in dogs // Amer. Heart J.—1977.—93, N 1.—P. 82—88.
12. Geremuzynski L. Hormonal and metabolic reactions evoked by acute myocardial infarction // Circ. Res.—1981.—48, N 6.—P. 767—776.
13. Lathers C., Kelliher G., Roberts J. Nonuniform cardiac sympathetic nerve discharge. Mechanism for coronary occlusion and digitalis-induced arrhythmia // Circulation.—1978.—57, N 6.—P. 1058—1066.
14. Malliani A., Schwartz P., Lombardi F. et al. // Spinal cardiovascular reflexes // Brain Res.—1975.—87, N 1.—P. 239—246.
15. Mizeres N. The anatomy of the autonomic nervous system in the dog // Amer. J. Anat.—1955.—96, N 1.—P. 285—388.
16. Suehiro S., Okada Y., Ninomiya N. Different reflex responses in cardiac and renal sympathetic nerve activities during coronary occlusion in the dog // Jap. J. Physiol.—1982.—32, N 3—4.—P. 363—376.
17. Schomig A., Dart A., Dietz R. et al. Release of endogenous catecholamines in the ischemic myocardium of the rat. Part A: locally mediated release // Circ. Res.—1984.—55, N 5.—P. 689—701.
18. Weaver L., Fry H., Meckler R., Oehl R. Contrasting reflex influences of cardiac afferent nerves during coronary occlusion // Amer. J. Physiol.—1981.—240, N 2.—P. H620—629.
19. Young M., Hintze T., Vatner S. Correlation between cardiac performance and plasma catecholamines levels in conscious dog // Ibid.—1985.—248, N 1.—P. H82—88.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 01.04.87

УДК 612.741.62+612.1+615.217.32+612.744.16

Роль внутриклеточных ионов кальция в развитии сокращения гладких мышц коронарных артерий при действии ацетилхолина

С. В. Верхоглядов

Большие усилия исследователей приложены к изучению механизмов сопряжения возбуждение — сокращение в гладких мышцах. Исследователи подчеркивают главенствующую роль внутриклеточного кальция, необходимого для возникновения и поддержания сокращения в гладких

мышцах при действии на них ацетилхолина [11—13]. Этот вывод сделан на основании сравнения значений сокращения, полученных в результате воздействия кофеином и ацетилхолином на скенированные и интактные мышцы. При этом сокращение, вызванное кофеином, составляет минимум 60 % максимального, вызванного ацетилхолином [11, 12]. И хотя такое соотношение, по мнению авторов, является веским аргументом преимущественного участия внутриклеточного кальция в сократительном процессе, все же его нельзя считать окончательным доказательством в связи с отсутствием мембраны у скенированной мышцы.

Другая группа авторов [1—10] постулирует роль внеклеточного кальция как ведущую в возникновении и поддержании сокращения, вызванного ацетилхолином. В качестве аргументов приводятся доводы, служащие доказательством подавления сокращения, вызванного ацетилхолином в бескальциевом растворе Кребса, содержащем ЭГТА, такое же подавление сокращения в растворе, содержащем кальций и блокаторы кальциевых каналов (неорганические ионы, верапамил и др.). Однако при этом нельзя исключить возможность потери мышцей внутриклеточного кальция в бескальциевом растворе, того кальция, за счет которого в норме может происходить сокращение. Все это заставляет еще раз проанализировать следствие действия различных факторов, влияющих как на внеклеточный, так и на внутриклеточный кальций, с целью выяснения меры участия того и другого в сокращении гладких мышц коронарных артерий при действии на них ацетилхолина.

Методика

Опыты проводили на изолированных мышечных полосках (нижней части) верхней трети передней нисходящей коронарной артерии крупного рогатого скота. Полоски длиной 7—10 мм, толщиной — 0,5—0,9 мм нарезали по направлению клеток в мышечном слое. Сосуды брали из сердца свежезабитых животных всех возрастов без учета пола. Полоски исследовали в изометрическом режиме сокращения, с использованием механотрона 6МХ2Б. Одновременное исследование электрической активности осуществляли методом сахарозного мостика. Для одновременной записи электрической и сократительной активности использовали потенциометр КСП-4. Раствор Кребса был следующего состава (в миллимолях на литр): NaCl — 120,4; KCl — 5,9; NaHCO_3 — 15,5; NaH_2PO_4 — 1,2; MgCl_2 — 1,2; CaCl_2 — 2,5; глюкоза — 11,5. Температура раствора Кребса составляла $+36^\circ\text{C}$; pH — 7,3—7,4. Бескальциевый раствор содержал 12 ммоль/л MgCl_2 для стабилизации мембраны и 1 ммоль/л ЭГТА. Ацетилхолин (10^{-8} ; 10^{-7} ; 10^{-6} ; 10^{-5} ; 10^{-4} ; 10^{-3} моль/л) добавляли к нормальному раствору Кребса. В бескальциевый раствор добавляли ацетилхолин, концентрация которого составляла 10^{-5} моль/л. Концентрация кофеина, добавляемого к нормальному раствору Кребса, составляла 5, 10, 20 ммоль/л. Во всех экспериментах использовали кофеинбензоат отечественного производства.

Результаты

В первой серии экспериментов были исследованы электрические и сократительные реакции гладких мышц коронарных артерий при действии на них различных доз ацетилхолина. Ацетилхолин в пороговой концентрации (10^{-7} моль/л) вызывал деполяризацию мембраны, гладкомышечных клеток коронарных артерий, одновременно с которой возникало сокращение. При увеличении концентрации ацетилхолина до 10^{-5} сокращение быстро достигало максимума (рис. 1, а; рис. 2). Дальнейшее увеличение концентрации (10^{-4} и 10^{-3} моль/л) несколько снижало сокращение. Сокращение, возникавшее под действием ацетилхолина, концентрация которого составляла 10^{-6} и 10^{-5} моль/л, отличалось по амплитуде незначительно. Во всех случаях сокращение имело тонический характер. Деполяризация при максимальных реакциях составляла 5—7 мВ и уменьшалась с устранением ацетилхолина из омывающего раствора. При значениях концентрации выше пороговых наблюдалось соответствие между значениями деполяризации (в процентах по отношению к максимальной) и сокращения (рис. 2).

Аналогичные электрические и сократительные реакции наблюдались при действии на мышцу ацетилхолина (10^{-5} моль/л) в бескальциевом растворе, содержащем ЭГТА. Причем в течение первых 10 мин сокращение оставалось почти таким же, как и в нормальном растворе Кребса. К концу 10-й минуты оно снижалось до 80 % исходного значения (рис. 1, б). При этом кинетика нарастания и спада сокращения оставалась такой же, как и в нормальном растворе Кребса. В дальнейшем сокращение постепенно (почти линейно) уменьшалось (рис. 3, а) и примерно к 30-й минуте действия бескальциевого раствора составляло 40 % исходного значения, а к 80-й — 20 %. При помещении

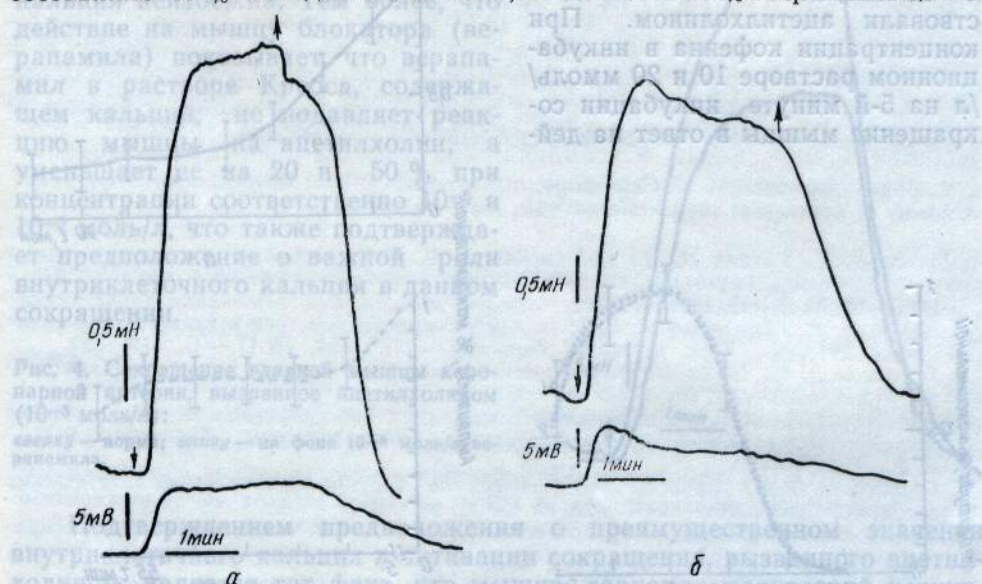


Рис. 1. Сократительная (вверху) и электрическая (внизу) реакции гладкой мышцы коронарной артерии:

а — при действии ацетилхолина (10^{-5} моль/л); б — то же на 10-й минуте действия бескальциевого раствора, содержащего ЭГТА.

препарата из бескальциевого раствора Кребса в нормальный реакции мышцы на ацетилхолин быстро восстанавливались и даже несколько превышали исходный уровень (примерно на 10 %). Уменьшение сокращения в бескальциевом растворе, содержащем ЭГТА, до 20 % исходного, еще не свидетельствует о преимущественном (80 %) участии внеклеточного кальция в сокращении, вызванном ацетилхолином, так как помимо вымывания кальция из межклеточного пространства возможна потеря мышцей внутриклеточного кальция. Следовательно, необходимо было попытаться определить меру участия внеклеточного кальция в формировании «ацетилхолинового» сокращения путем возможной блокады данного кальциевого входа. С этой целью использовали верапамил. Примерно к 10—15-й минуте действия верапамил в концентрации 10^{-6} моль/л уменьшал сокращение на 20 % и в дальнейшем в течение 1 ч не изменял его (см. рис. 3, б, рис. 4), а в концентрации 10^{-5} моль/л уменьшал сокращение примерно наполовину и в дальнейшем, по истечении первых 10 мин действия блокатора, не изменял этот показатель. Попытки после часового действия отмыть верапамил в течение одного часа в нормальном растворе Кребса остались безрезультатными.

Следовательно, большое несоответствие между значениями сокращения, полученными в итоге действия бескальциевого раствора, с одной стороны, и раствора, содержащего верапамил в концентрации 10^{-6} и 10^{-5} моль/л, с другой, позволили предположить преимущественную роль внутриклеточного кальция в формировании и поддержании сокращения, вызванного ацетилхолином.

В связи с этим необходимо было попытаться устранить влияние

внутриклеточного кальция на данное сокращение при участии в процессе внеклеточного кальция. С этой целью мы провели серию опытов, в которой полоски подвергали действию кофеина перед ацетилхолиновой пробой (рис. 5). Известно [11], что кофеин обладает способностью высвобождать кальций из саркоплазматического ретикула. К тому же его эффект полностью обратим. В опытах мы использовали кофеин, растворенный в нормальном растворе Кребса. Концентрация растворов кофеина составляла 5, 10, 20 ммоль/л. Мышечные полоски инкубировали в этих растворах в течение 5—10 мин, после чего на них действовали ацетилхолином. При концентрации кофеина в инкубационном растворе 10 и 20 ммоль/л на 5-й минуте инкубации сокращение мышцы в ответ на дей-

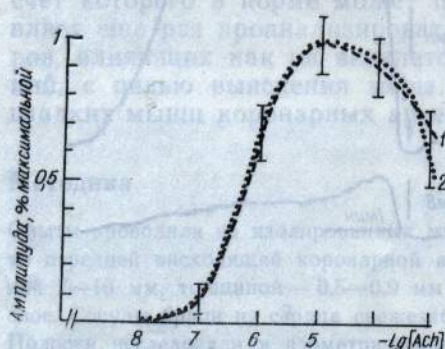
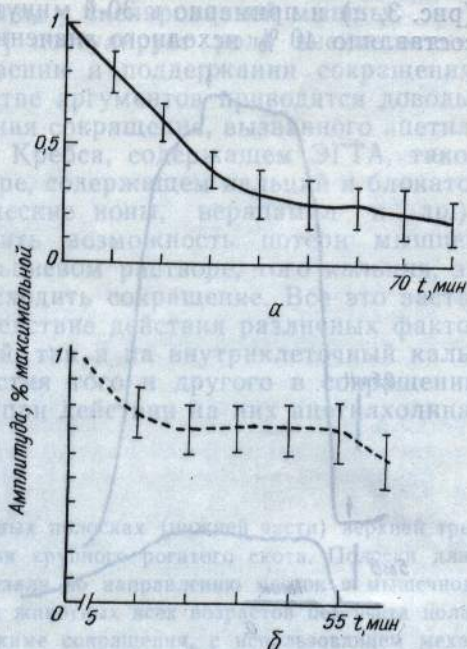


Рис. 2. Зависимость амплитуды электрических (1) и сократительных (2) реакций гладкой мышцы коронарной артерии от концентрации ацетилхолина в растворе.

Рис. 3. Зависимость сократительной реакции гладкой мышцы коронарной артерии при действии на нее ацетилхолина (10^{-5} моль/л) от времени воздействия бескальциевым раствором, содержащим ЭГТА (а), и нормальным раствором Кребса, содержащим 10^{-6} моль/л верапамила (б).



ствие ацетилхолина не возникало. При концентрации кофеина в растворе 5 ммоль/л на 5-й минуте еще возникало сокращение, амплитуда которого составляла 50 % исходной, однако уже к 10-й минуте оно исчезало полностью. После устранения кофеина из тестирующего раствора реакции полосок на ацетилхолин полностью восстанавливались уже на 5-й минуте. Кроме того, при переходе от тестирующего раствора с кофеином на нормальный раствор Кребса, содержащий ацетилхолин, крутизна нарастания сокращения значительно уменьшалась по сравнению с исходной, хотя амплитуда его оставалась прежней.

Обсуждение

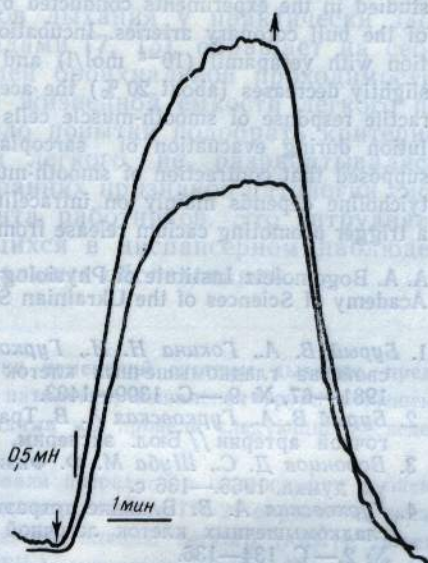
При действии ацетилхолина на гладкомышечные клетки коронарных артерий одновременно с небольшой деполяризацией (5—7 мВ) мышечной мембраны возникало сильное тоническое сокращение. Максимальные электрические и сократительные реакции наблюдались при концентрации медиатора 10^{-5} моль/л. Некоторое уменьшение мышечных реакций, наблюдавшееся при дальнейшем увеличении концентрации ацетилхолина, очевидно, связано с опережением скорости десенситизации холинорецепторов, развития процессов, приводящих к сокращению.

Остаточная реакция мышцы на ацетилхолин после длительного (1 ч) пребывания ее в бескальциевом растворе, содержащем ЭГТА, а также медленное угасание сократительной реакции в таком растворе

(80 % исходной на 10-й минуте и 40 % — на 30-й минуте действия раствора) позволяют думать о значительной роли внутриклеточного кальция в активации мышцы ацетилхолином. Однако кинетика угасания сокращения в бескальциевом, содержащем ЭГТА, растворе сама по себе еще не дает представления о количественном соотношении внеклеточного и внутриклеточного кальция при данном сокращении, так как в бескальциевом растворе кроме устранения наружного кальция потеря мышцей внутриклеточного кальция неизбежна. Тем более, что действие на мышцу блокатора (верапамила) показывает, что верапамил в растворе Кребса, содержащем кальций, не подавляет реакцию мышцы на ацетилхолин, а уменьшает ее на 20 и 50 % при концентрации соответственно 10^{-6} и 10^{-5} моль/л, что также подтверждает предположение о важной роли внутриклеточного кальция в данном сокращении.

Рис. 4. Сокращение гладкой мышцы коронарной артерии, вызванное ацетилхолином (10^{-5} моль/л):

вверху — норма; внизу — на фоне 10^{-6} моль/л верапамила.



Подтверждением предположения о преимущественном значении внутриклеточного кальция в активации сокращения, вызванного ацетилхолином, является тот факт, что мышца, саркоплазматический ретику-

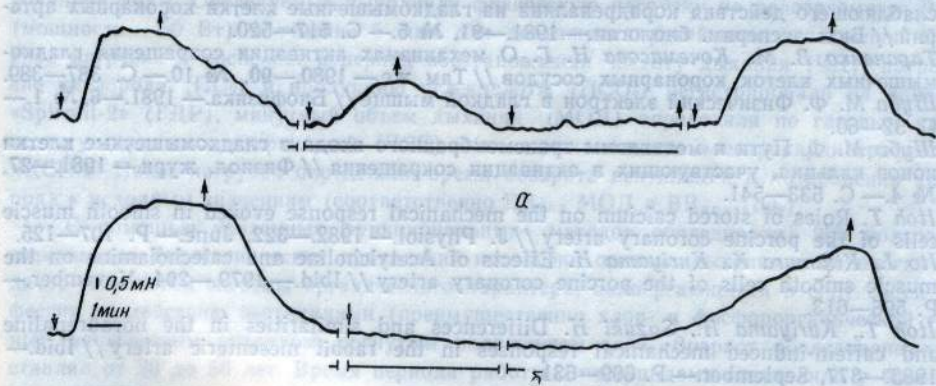


Рис. 5. Сократительные реакции гладкой мышцы коронарной артерии на ацетилхолин (10^{-5} моль/л) на фоне опорожнения внутриклеточных запасников кофеином разной концентрации:

а — 5 ммоль/л; б — 10 ммоль/л. Действие кофеина отмечено чертой под сократительной активностью. Начало и конец действия ацетилхолина отмечены стрелками.

лум которой предварительно опорожнен кофеином и которая находится при этом в нормальном растворе Кребса, содержащем кальций, не реагирует на ацетилхолин.

Таким образом, учитывая, что верапамил (10^{-6} моль/л) уменьшает сокращение только на 20 % в нормальном растворе Кребса и на столько же уменьшает в течение 10 мин действия бескальциевого раствора, кальций, вышедший из саркоплазматического ретикулума, активирует не менее 80 % сократительной реакции на ацетилхолин. Следовательно, саркоплазматический ретикулум является важнейшим звеном в цепи событий сопряжения возбуждение — сокращение в гладких мышцах коронарных артерий при действии на них ацетилхолина.

SIGNIFICANCE OF INTRACELLULAR CALCIUM IONS IN THE DEVELOPMENT OF ACETYLCHOLINE-INDUCED CONTRACTION OF SMOOTH MUSCLES OF CORONARY ARTERIES

S. V. Verkhoglyadov

Electric and contractile responses of smooth-muscle cells to acetylcholine have been studied in the experiments conducted by the sucrose gap method on smooth-muscle cells of the bull coronary arteries. Incubation of smooth-muscle cells for 10 min in the solution with verapamil (10^{-6} mol/l) and in calcium-free solution with EGTA (1 mmol/l) slightly decreases (about 20 %) the acetylcholine-induced contraction amplitude. No contractile response of smooth-muscle cells to acetylcholine is observed in normal Krebs solution during evacuation of sarcoplasmic reticulum by caffeine (5-20 mmol/l). It is supposed that contraction of smooth-muscle cells of coronary arteries in response to acetylcholine depends mainly on intracellular calcium. Extracellular calcium may serve as a trigger promoting calcium release from intracellular binding sites.

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

1. Бурый В. А., Гокина Н. И., Гурковская А. В. Электрические и сократительные свойства гладкомышечных клеток мозговых артерий // Физиол. журн. СССР.— 1981.—67, № 9.— С. 1399—1403.
2. Бурый В. А., Гурковская А. В. Трансмембранные ионные токи в гладкой мышце легочной артерии // Бюл. эксперим. биологии.— 1980.—96, № 11.— С. 519—521.
3. Воронцов Д. С., Шуба М. Ф. Физический электротон нервов и мышц.— Киев: Наук. думка, 1966.—136 с.
4. Гурковская А. В. Влияние тетраэтиламмония на электрофизиологические свойства гладкомышечных клеток легочной артерии // Бюл. эксперим. биологии.— 1977.— № 2.— С. 134—136.
5. Гурковская А. В., Бурый В. А. Биофизические свойства гладких мышц эластических артерий // Биофизика.— 1977.—22, № 4.— С. 676—679.
6. Никитина Е. И. Действие норадреналина и ионов калия на электрическую и сократительную активность гладкомышечных клеток коронарных артерий // Физиол. журн. СССР.— 1980.—66, № 10.— С. 1493—1499.
7. Никитина Е. И., Кочемасова Н. Г., Тараненко В. М., Шуба М. Ф. О механизме ослабляющего действия норадреналина на гладкомышечные клетки коронарных артерий // Бюл. эксперим. биологии.— 1981.—91, № 5.— С. 517—520.
8. Тараненко В. М., Кочемасова Н. Г. О механизмах активации сокращения гладкомышечных клеток коронарных сосудов // Там же.— 1980.—90, № 10.— С. 387—389.
9. Шуба М. Ф. Физический электрон в гладкой мышце // Биофизика.— 1981.—6, № 1.— С. 52—60.
10. Шуба М. Ф. Пути и механизмы трансмембранного входа в гладкомышечные клетки ионов кальция, участвующих в активации сокращения // Физиол. журн.— 1981.—27, № 4.— С. 533—541.
11. Itoh T. Roles of stored calcium on the mechanical response evoked in smooth muscle cells of the porcine coronary artery // J. Physiol.— 1982.—322, June.— P. 107—125.
12. Ito J., Kitamura K., Kuriyama H. Effects of Acetylcholine and catecholamine on the muscle smooth cells of the porcine coronary artery // Ibid.— 1979.—294, November.— P. 596—613.
13. Itoh T., Kuriyama H., Suzuki H. Differences and similarities in the noradrenaline and caffeine-induced mechanical responses in the rabbit mesenteric artery // Ibid.— 1983.—377, September.— P. 609—631.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца,
АН УССР, Киев

Поступила 03.04.87

УДК 616.24—008.4—02:616.12—008.331:632—95—02

Возможности раннего выявления нарушений системы дыхания у лиц, работающих с пестицидами

И. Е. Колпаков, В. П. Безуглый, Л. М. Каскевич

Раннее выявление отрицательных эффектов токсического воздействия пестицидов на организм работников сельского хозяйства является одной из актуальных проблем по предотвращению развития в организме людей этой профессиональной категории патологического процесса. За-