

Исследование неадренергического торможения в гладких мышцах толстой кишки человека при болезни Гиршпрунга

В. П. Загороднюк, И. А. Владимирова, С. А. Черноволенко, М. Ф. Шуба

Известно, что при болезни Гиршпрунга в толстой кишке человека нет Ауэрбахового и Мейснерового сплетений или они недоразвиты на ее определенном (суженном) участке в результате врожденной патологии [2]. Нарушение перистальтики этого суженного участка кишечника, по мнению одних авторов, обусловлено гиперактивностью возбуждающих холинергических нервов, приводящей к спазмированию гладких мышц [13, 18], по мнению других, — это нарушение связано с недостатком тормозящих влияний энтеральной нервной системы (адренергических или неадренергических) и нарушением спонтанной ритмической активности гладких мышц [11, 12, 14, 15]. При исследовании действия местиаторов ацетилхолина и норадреналина на гладкие мышцы (ГМ) суженного участка толстой кишки не обнаружено каких-либо отличий по сравнению с действием на ГМ нормального участка [17]. В данной работе исследовали особенности тормозящей неадренергической нервно-мышечной передачи и действия АТФ (предполагаемого медиатора) и норадреналина на ГМ толстой кишки человека при болезни Гиршпрунга.

Методика

Исследования проводили с помощью модифицированного метода одинарного сахарозного мостика [1] на изолированных мышечных полосках толстой кишки детей в возрасте от 2 до 7 лет, оперированных по поводу болезни Гиршпрунга. Для опыта использовали мышечные полоски, вырезанные из нормального и суженного участков ректосигмовидной зоны толстой кишки. Оценкой тяжести болезни Гиршпрунга служили результаты клинических наблюдений. У двоих детей была отмечена тяжелая форма заболевания, когда суженная зона прослеживалась на большом участке (30 см) кишки.

Синаптические потенциалы вызывали раздражением интрамуральных нервных образований ГМ прямоугольными толчками электрического тока длительностью 0,5—1 мс. Бескальциевый раствор содержал 6 ммоль/л $MgCl_2$ для стабилизации мембраны и 0,5 ммоль/л ЭГТА. Во все растворы добавляли атропин (10^{-6} моль/л) с целью устранения возможных влияний возбуждающих холинергических нервов.

Результаты

В ответ на одиночное супрамаксимальное интрамуральное раздражение в гладкомышечных клетках нормального участка ректосигмовидной зоны толстой кишки детей, оперированных по поводу болезни Гиршпрунга, генерируются тормозящие синаптические потенциалы (ТСП), амплитуда которых в среднем составляет $(6,8 \pm 0,7)$ мВ ($n=6$). ТСП сопровождаются расслаблением мышечных полосок кольцевого слоя толстой кишки, проявляющих в большинстве случаев спонтанную электрическую и сократительную активность. Аппликация АТФ (10^{-3} моль/л) вызывает гиперполяризацию мембран и расслабление мышечных полосок кольцевого слоя нормального участка ректосигмовидной зоны толстой кишки больных болезнью Гиршпрунга (рис. 1, а). Исследования, проведенные на 17 мышечных полосках кольцевого слоя суженного участка ректосигмовидной зоны толстой кишки больных болезнью Гиршпрунга, показали, что ТСП не возникают в ответ на одиночное и ритмическое (10 Гц) интрамуральные раздражения или значительно уменьшена амплитуда ТСП (до 1,3 мВ), наблюдаемая в одной мышечной полоске. Вместе с тем эффект АТФ (10^{-3} моль/л)

в этом случае практически не изменяется по сравнению с нормой (рис. 1, б). Лишь в случаях тяжелой формы заболевания у двух больных ($n=4$) гиперполяризующий эффект АТФ был слабо выражен в ГМ суженного участка по сравнению с нормальным. Необходимо отметить, что в большинстве случаев ($n=14$) кольцевые мышечные полоски суженного участка ректосигмовидной зоны толстой кишки были спонтанно неактивными.

Исследуемые интертениальные мышечные полоски продольного слоя нормального участка ректосигмовидной зоны толстой кишки детей с болезнью Гиршпрунга не проявляли спонтанной электрической и сократительной активности ($n=6$). Одинокое интрамуральное раздражение вызывает ТСП амплитудой в среднем $(1,5 \pm 0,6)$ мВ. Аппликация АТФ (10^{-3} моль/л) и норадреналина (10^{-5} моль/л) на разные

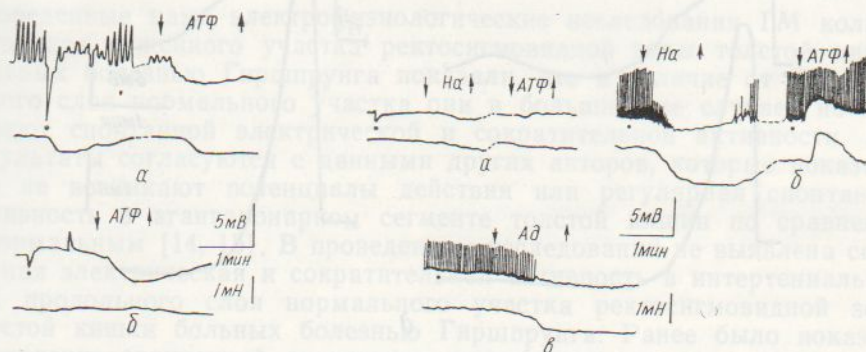


Рис. 1. Интрамуральное раздражение ГМ и действие АТФ (10^{-3} моль/л) на мышечные полоски кольцевого слоя ректосигмовидной зоны толстой кишки человека при болезни Гиршпрунга:

а — нормальный, б — суженный участок кишки. На этом и последующих рисунках точкой обозначено одинокое интрамуральное раздражение; на верхней кривой — электрические, на нижней — сократительные реакции ГМ.

Рис. 2. Интрамуральное раздражение ГМ и действие АТФ, аденозина и норадреналина на мышечные полоски продольного слоя ректосигмовидной зоны толстой кишки человека при болезни Гиршпрунга:

а — нормальный; б, в — суженный участок кишки; аппликация АТФ и аденозина (Ад) в концентрации 10^{-3} моль/л, норадреналина (На) — 10^{-5} моль/л.

мышечные полоски продольного слоя толстой кишки вызывает незначительную гиперполяризацию или не изменяет существенно мембранный потенциал в ГМ (рис. 2, а). Исследования, проведенные на 21 мышечной полоске продольного слоя суженного участка ректосигмовидной зоны толстой кишки больных болезнью Гиршпрунга, показали, что в большинстве случаев ($n=14$) они спонтанно неактивны, тогда как в остальных случаях наблюдалась непрерывная спонтанная активность, вызывающая тетаническое сокращение мышечных полосок. Необходимо отметить, что спонтанная активность в ГМ продольного слоя суженного участка толстой кишки наблюдалась в основном в мышечных полосках ($n=4$), взятых у больного, в ГМ кольцевого слоя которого был зарегистрирован ослабленный ТСП. На всех исследуемых полосках продольного слоя суженного участка толстой кишки больных болезнью Гиршпрунга не обнаружено ТСП при однократном и ритмическом (10 Гц) интрамуральных раздражениях. Аппликация норадреналина (10^{-5} моль/л) и аденозина (10^{-3} моль/л), как и в нормальном участке, вызывает тормозящий эффект — незначительную гиперполяризацию и расслабление ГМ продольного слоя суженного участка толстой кишки больных. Вместе с тем при действии АТФ (10^{-3} моль/л) на мышечные полоски ($n=16$) продольного слоя суженного участка толстой кишки тех же больных в большинстве случаев ($n=11$) наблюдается возбуждающий эффект — деполяризация мембраны с потенциалами действия, вызывающими сокращение ГМ (рис. 2, б). Лишь в мышечных полосках у больных тяжелой формой заболевания ($n=$

=5) при аппликации АТФ (10^{-3} моль/л) не наблюдается существенных эффектов.

Возбуждающее действие АТФ подвержено быстрой десенситизации в ГМ продольного слоя суженного участка толстой кишки больных болезнью Гиршпрунга. Несмотря на наличие АТФ (10^{-3} моль/л) в пер-

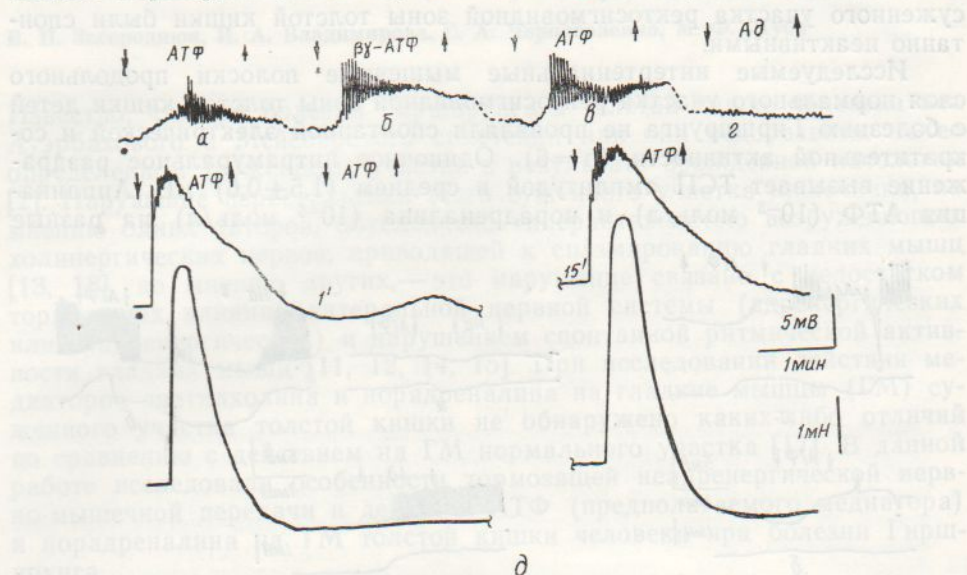


Рис. 3. Действие АТФ, β -, γ -метилден-АТФ и аденозина (АД) на ГМ продольного слоя суженного участка ректосигмовидной зоны толстой кишки человека при болезни Гиршпрунга:

а — АТФ ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л); б — β -, γ -метилден-АТФ (10^{-4} моль/л); в — АТФ (10^{-3} моль/л) и г — аденозин (10^{-3} моль/л) на мембранный потенциал одной и той же мышечной полоски; д — эффект АТФ (10^{-3} моль/л) на электрическую и сократительную активность ГМ и ее повторные действия через 1 и 15 мин после первоначального.

фузируемом растворе, возбуждающий эффект исчезает в течение 1—2 мин. Вторая аппликация АТФ через 1—2 мин после первой оказывается неэффективной ($n=10$). Полное восстановление возбуждающего действия АТФ происходит в среднем за 10 мин пребывания мышечной полоски в растворе Кребса (рис. 3, д). Медленно гидролизующиеся аналоги АТФ — α -, β -метилден-АТФ и β -, γ -метилден-АТФ являются более эффективными, чем АТФ, при возбуждении ГМ продольного слоя кишечника. На рис. 3 показан один из примеров действия АТФ и β -, γ -метилден-АТФ на одну и ту же

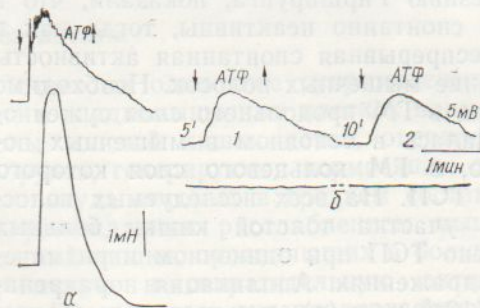


Рис. 4. Изменение мембранного потенциала и сократительной активности ГМ продольного слоя суженного участка ректосигмовидной зоны толстой кишки человека при болезни Гиршпрунга:

а — в стандартном растворе Кребса; б — в бескальциевом растворе Кребса (1 — 5-я минута, 2 — 10-я минута).

мышечную полоску продольного слоя суженного участка толстой кишки больного болезнью Гиршпрунга, из которого видно, что β -, γ -метилден-АТФ на порядок эффективнее АТФ. При действии АТФ (10^{-3} моль/л) на мышечные полоски продольного слоя суженного участка ректосигмовидной зоны толстой кишки больных болезнью Гиршпрунга в бескальциевом растворе Кребса, содержащем 0,5 ммоль/л ЭГТА и 6 ммоль/л Mg^{2+} , вызывает только деполяризацию мембраны ГМ без

потенциалов действия, которая сохраняется при последующих аппликациях АТФ. Сокращение мышечной полоски в этом случае не наблюдается уже при первой аппликации АТФ в бескальциевом растворе (рис. 4). В связи с тем, что АТФ является хелатором Ca^{2+} и Mg^{2+} , необходимо было проверить, не связано ли возбуждающее действие АТФ с ее способностью к хелатированию двухвалентных катионов. Для этого в растворе Кребса увеличивали концентрацию Ca^{2+} и Mg^{2+} до 5 и 6 ммоль/л соответственно. Однако возбуждающий эффект АТФ (10^{-3} моль/л) в этом растворе практически не изменялся по сравнению с контролем.

Обсуждение

Проведенные нами электрофизиологические исследования ГМ кольцевого слоя суженного участка ректосигмовидной зоны толстой кишки больных болезнью Гиршпрунга показали, что в отличие от ГМ кольцевого слоя нормального участка они в большинстве случаев не проявляют спонтанной электрической и сократительной активности. Эти результаты согласуются с данными других авторов, которые показали, что не возникают потенциалы действия или регулярная спонтанная активность в аганглионарном сегменте толстой кишки по сравнению с нормальным [14, 15]. В проведенном исследовании не выявлена спонтанная электрическая и сократительная активность в интертениальных ГМ продольного слоя нормального участка ректосигмовидной зоны толстой кишки больных болезнью Гиршпрунга. Ранее было показано проявление спонтанной активности мышечными полосками кольцевого слоя нормальных участков кишечника человека, в то время как интертениальные ГМ продольного слоя толстой кишки ее не проявляли [6, 10]. Непрерывную спонтанную электрическую и сократительную активность ГМ продольного и кольцевого слоев мы обнаруживали в основном в мышечных полосках больного, в ГМ кольцевого слоя которого регистрируется ослабленный ТСП, т. е. в случае неполного аганглиоза (гипоганглиоза). Увеличенная электрическая и моторная активность ГМ суженного участка толстой кишки при болезни Гиршпрунга по сравнению с нормой показана также другими исследователями [8, 13]. По нашему мнению, наблюдаемые различия в активности ГМ суженного участка в наших опытах и опытах других исследователей могут быть связаны с разной выраженностью изменений интрамуральных нервных сплетений ГМ в этом участке толстой кишки при данном заболевании. При небольшой зоне аганглиоза или гипоганглиозе участка толстой кишки больного в этом суженном сегменте может наблюдаться увеличенная по сравнению с нормой спонтанная электрическая и сократительная активность ГМ вследствие недостаточности тормозящих влияний на них со стороны неадренергических нейронов миэнтерального нервного сплетения, хотя мышечная ткань еще не подвержена значительным изменениям. Известно, что в норме тормозящие неадренергические нейроны постоянно активны и с помощью механизма ритмовождения обеспечивают регулярную ритмическую активность ГМ желудочно-кишечного тракта [19]. В то же время в случаях тяжелой формы заболевания, когда зона аганглиоза охватывает сравнительно большой участок толстой кишки больного болезнью Гиршпрунга, гладкомышечная стенка его будет подвержена значительным дистрофическим изменениям [5], что несомненно приведет к нарушению спонтанной активности ГМ.

Как показали наши исследования, интрамуральное раздражение ГМ нормального участка кишечника больных болезнью Гиршпрунга вызывает генерацию неадренергических ТСП, ионная и медиаторная природа которых ранее подробно изучена нами на ГМ нормальных участков кишечника человека [3, 4]. В ГМ суженного участка толстой кишки больных болезнью Гиршпрунга при интрамуральном раздражении мышечных полосок кольцевого и продольного слоев не происходит гене-

рации ТСП. Вероятно, одной из причин этого заболевания является то, что ГМ суженного участка толстой кишки лишены главным образом неадренергической тормозящей иннервации, как это предполагают и другие исследователи [11, 14]. Наши результаты и данные литературы показывают, что денервация ГМ суженного участка ректосигмовидной зоны толстой кишки больных болезнью Гиршпрунга относится в основном к тормозящим неадренергическим нервным волокнам. В связи с этим представляют интерес результаты действия АТФ, как предполагаемого медиатора неадренергических нервов, на эти ГМ. Из полученных результатов видно, что ответ АТФ в ГМ кольцевого слоя суженного участка толстой кишки практически не отличается от контрольного. Лишь в мышечных полосках больных тяжелой формой заболевания, по-видимому, вследствие развития дистрофических изменений ГМ наблюдается ослабление эффекта АТФ. Вместе с тем действие аппликации АТФ на мышечные полоски продольного слоя суженного участка толстой кишки, в отличие от такового на мышечные полоски нормального участка одного и того же больного и действия норадреналина и аденозина, вызывает в большинстве случаев возбуждающий эффект. Медленно гидролизуемые аналоги АТФ — α -, β -метил-АТФ и β -, γ -метил-АТФ оказались более эффективными, чем АТФ, при возбуждающем действии на ГМ продольного слоя суженного участка толстой кишки больных. Ранее на ГМ трахеи и кишечника было показано, что α -, β -метил-АТФ и β -, γ -метил-АТФ, в отличие от АТФ, не способны стимулировать синтез простагландин [7]. Кроме того, нами показано, что индометацин и тетродотоксин не оказывают существенного влияния на возбуждающее действие АТФ в ГМ продольного слоя тонкой и толстой кишок человека [3, 4]. В данной работе установлено, что возбуждающее действие АТФ не связано с ее способностью к хелатированию Ca^{2+} и Mg^{2+} , как это предполагается для ГМ матки крысы [9]. Полученные результаты свидетельствуют о существовании на мембране ГМ продольного слоя толстой кишки человека возбуждающихся АТФ рецепторов. Ионный механизм возбуждающего действия АТФ на ГМ продольного слоя толстой кишки человека, вероятно, обусловлен увеличением проницаемости мембраны для Na^+ . На это указывают данные, свидетельствующие об уменьшении сопротивления мембраны ГМ во время возбуждающего действия АТФ на ГМ продольного слоя толстой кишки человека [4], и сохранении деполяризации, вызываемой АТФ в бескальциевом растворе Кребса. Деполяризация мембраны при действии АТФ на ГМ продольного слоя матки мыши также обусловлена увеличением проводимости мембраны к Na^+ [16].

Таким образом, в результате проведенных экспериментов установлено, что основной отличительной чертой мышечных полосок суженного участка ректосигмовидной зоны толстой кишки больных болезнью Гиршпрунга является в большинстве случаев неспособность ГМ генерировать ТСП в ответ на интрамуральное раздражение и угнетение спонтанной электрической и сократительной активности гладкомышечных клеток. Кроме того, обнаружено увеличение относительной плотности возбуждающихся АТФ рецепторов в ГМ продольного слоя суженного участка толстой кишки по сравнению с нормальным участком.

STUDIES OF NONADRENERGIC INHIBITION IN SMOOTH MUSCLES OF THE HUMAN LARGE INTESTINE WITH HIRSCHSPRUNG'S DISEASE

V. P. Zagorodnyuk, I. A. Vladimirova, S. A. Chernovolenko, M. F. Shuba

The modified sucrose-gap method has been used to study the electrical and mechanical activity, inhibitory nonadrenergic nerve-muscle transmission and ATP action on smooth muscles of the normal and narrow segments in the human large intestine with Hirschsprung's disease. In most cases inhibitory nonadrenergic synaptic potentials in response to intramural stimulation and inhibition of the spontaneous electrical and contractile