

ted to change in the model of food anaphylaxis in 37 guinea pigs, 26 rats and 12 rabbits orally sensitized with hen egg protein and they are estimated prior to and after the allergy development.

Medical Institute, Ministry of Public Health
of the Ukrainian SSR, Lvov

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабенко Г. О. Визначення мікроелементів і металоферментів у клінічних лабораторіях.— Київ: Здоров'я, 1968.— 187 с.
2. Воронцов И. М., Матальгина О. А. Болезни, связанные с пищевой сенсибилизацией у детей.— Л.: Медицина, 1986.— 272 с.
3. Инструкция по определению глютамино-аспаргиновой и глютамино-алатаниновой трансаминаз (аминотрансфераз) в сыворотке крови человека.— Москва, 1972.— 87 с.
4. Каграманова К. А., Ермольева З. В. Сравнительная характеристика методов определения активности лизоцима // Антибиотики. 11, № 10.— С. 917—919.
5. Левицкий А. П., Марченко А. И., Рыбак Т. Л. Сравнительная оценка трех методов определения активности фосфатаз слюны человека // Лаб. дело.— 1973.— № 10.— С. 624—625.
6. Мелешко В. Е., Тимошко М. Ф., Мысаковец А. Г., Велозо М. П. Микрометод определения ЦИК в биологических жидкостях // Рад. предл. № 1587.— Львов.— 1987.
7. Мелешко В. М., Тимошко М. Ф., Гордий Л. Д., Мысаковец А. Г. Действие интала на анафилактический шок у кроликов // Иммунология и аллергия.— Киев, 1989.— Вып. 23.— С. 124—125.
8. Сиверина О. Б., Басевич В. В., Басова Р. В. и др. Метод количественного определения церулоплазмينا // Лаб. дело.— 1986.— № 10.— С. 618—621.
9. Шатерников В. А., Марокко И. Н., Пятницкий И. Н. и др. Экспериментальное воспроизведение пищевой анафилаксии // Вопр. питания.— 1982.— № 2.— С. 27—34.
10. Шатерников В. А. Роль пищевых белков в иммунологических и аллергических реакциях // Вест. АМН СССР.— 1986.— № 11.— С. 34—38.
11. Фишов И. Л. Механизм взаимосвязи активности H^+ -АТФазы митохондрий от функционального состояния дыхательной цепи: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Пушкино, 1983.— 17 с.
12. Carini C., Brostoff J. Evidence for circulating IgE complexes in food allergy // Ricer. clin. Lab.— 1987.— 17, N 4.— P. 309—322.
13. Schneider W., Hoogeboom J. Ultracellular distribution of enzymes // J. Biol. Chem.— 1950.— 183, N 1.— P. 123—128.
14. Weigle W., Cocharane C., Dixon F. Anaphylactogenic properties of soluble antigen—antibody in the guinea-pig and rabbit // J. Immunol.— 1960.— 85.— P. 469—477.
15. Woodward G. E., Ery E. D. The determination of blood glytation // J. Biol. Chem.— 1932.— 97.— P. 465—482.

Львов. мед. ин-т
М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил
в редакцию 24.09.90

УДК 612.73.62

В. П. Загороднюк, Е. Я. Баев, М. С. Яременко

Угнетающее влияние жирных кислот на электрическую и сократительную активность гладких мышц

В настоящее время установлена высокая модулирующая активность свободных жирных кислот (ЖК) по отношению к функционированию различных систем организма. В результате биохимических исследований показано, что ЖК могут прямо активировать или угнетать различные транспортные АТФазы [5, 7], стимулировать Na^+ — Ca^{2+} -обмен и пассивную проницаемость различных мембран для Ca^{2+} [6, 9]. Кроме того, одним из свойств ЖК является способность повышать электропроводность липидных мембран, а следовательно, разобщать окислительное фосфорилирование [3]. Увеличение концентрации ЖК

© В. П. ЗАГОРДНЮК, Е. Я. БАЕВ, М. С. ЯРЕМЕНКО, 1991

в клетках и кровеносном русле может происходить вследствие изменения внутренней агонистстимулируемой или базальной активности фосфолипазы и поступления из внешней среды в качестве продуктов гидролиза жиров или содержимого различных природных вод. ЖК из внешней среды почти без изменений могут проникать во внутреннюю среду организма через энтеральный барьер и действовать на органы и ткани-мишени, в том числе и на гладкие мышцы (ГМ). Вместе с тем, действие ЖК на ГМ практически не изучено. В единственной работе [8] показано, что ЖК могут прямо активировать K^+ -каналы изолированного участка мембраны ГМ желудка жабы и таким образом быть сигнальными молекулами, в частности, для регуляции ионных каналов клеточной мембраны. В связи с вышесказанным, нами исследовалось действие некоторых ЖК на гладкомышечные препараты воротной вены, тонкой кишки и желчного пузыря.

Методика

Электрическую активность изолированных мышечных полосок тонкой кишки и желчного пузыря морской свинки, а также воротной вены крысы регистрировали с помощью метода сахарозного мостика [1], сократительные реакции этих мышц — с помощью механотрона 6Мх4С. В опытах использовали натриевые соли ЖК: уксусной, оксималяной, каприновой, пальмитиновой, сульфопальмитиновой и олеиновой. Смесь свободных ЖК (C_7 — C_9) растворяли с помощью этанола. В этих случаях в контрольную среду предварительно добавляли этанол в концентрации, которая соответствовала применяемой для растворения ЖК в растворе Кребса. Максимальная концентрация спирта составляла не более 0,2 %. Результаты обрабатывали статистически.

Результаты

Большинство из исследуемых ЖК оказывали угнетающее влияние на электрическую и сократительную активность ГМ тонкой кишки, желчного пузыря и воротной вены, при этом эффективность угнетающего действия ЖК зависела от длины углеродной цепи их молекул.

Короткоцепочные ЖК — уксусная (C_2) и оксималяная (C_4), хотя и обладали наибольшей растворимостью, в концентрации менее 0,5 ммоль/л не оказывали существенного влияния на спонтанную сократительную активность ГМ воротной вены. Лишь в концентрации 0,5—10 ммоль/л уксусная кислота вызывала незначительное уменьшение частоты и амплитуды спонтанных сокращений ГМ. Оксималяная кислота, начиная с концентрации 1 ммоль/л, незначительно увеличивала амплитуду и уменьшала частоту сокращений ГМ (таблица, рис. 1, а, б).

Минимальная концентрация смеси ЖК (C_7 — C_9), снижающая амплитуду сокращений ГМ толстой кишки, составляла 0,20—0,28 ммоль/л. Эти кислоты в концентрации более 0,7 ммоль/л, как правило, полностью угнетали сокращение ГМ.

Каприновая кислота (C_{10}) была примерно на порядок более эффективной, чем смесь кислот C_7 — C_9 . Так, минимальная ее концентрация, вызывающая уменьшение частоты и, в большинстве случаев, амплитуды сокращений ГМ воротной вены, составляла 0,025 ммоль/л (рис. 1, а, б, 2). В концентрации 0,25—0,5 ммоль/л эта ЖК вызывала полное угнетение спонтанной электрической и сократительной активности ГМ.

Исследование ЖК с длинной углеродной цепью показало зависимость их эффекта от меры насыщенности молекулы кислоты. Так, пальмитиновая кислота ($C_{16:0}$) в максимально растворимой концентрации не оказывала заметного влияния на функционирование ГМ. Сульфопальмитиновая кислота (аналог $C_{16:0}$), которая растворялась в инкубационной среде до концентрации 0,2—0,3 ммоль/л, также не вы-

зывала видимых изменений активности ГМ. Вместе с тем, ненасыщенная олеиновая кислота ($C_{18:1}$) уже в концентрации $5 \cdot 10^{-7}$ моль/л оказывала угнетающее действие на спонтанную сократительную активность ГМ воротной вены (см. рис. 1, а, б, таблицу), а более 0,025 ммоль/л вызывала полное ее угнетение. Необходимо отметить, что обнаруженная высокая эффективность каприновой и олеиновой

кислот может иметь важное физиологическое значение в регулировании возбудимости гладкомышечных клеток. При сравнении действия ЖК C_{10} и $C_{18:1}$ на ГМ воротной вены (см. рис. 2) видно различие их угнетающего действия. Частота сокращений ГМ снижается при увеличении концентрации обеих исследуемых кислот (см. рис. 1, 2). Вместе с тем, при действии ЖК $C_{18:1}$ наблюдается первоначальное увеличение амплитуды фазных сокращений ГМ, тогда как ЖК C_{10} в большинстве случаев сразу угнетает амплитуду ГМ (см. рис. 1, 2).

Рис. 1. Относительные (% контроля) приращение амплитуды (а) и снижение частоты (б) сокращений гладких мышц воротной вены крысы в зависимости от концентрации (ммоль/л) жирных кислот.

Угнетение спонтанной активности и расслабление ГМ под влиянием высоких концентраций короткоцепочных ЖК и относительно незначительных концентраций ЖК $C_{18:1}$ обусловлено развиваемой гипер-

Сократительная активность гладкой мышцы (ГМ) воротной вены в зависимости от длины углеводной цепи и концентрации, влияющей на ГМ, жирной кислоты ($M \pm m$)

Жирная кислота	Амплитуда	Частота
C_2 , ммоль/л:		
0,5 (6)	$-7,0 \pm 2,3^*$	$-6,9 \pm 2,5^*$
1,0 (6)	$-11,8 \pm 2,4^{***}$	$-9,7 \pm 4,0^*$
5,0 (8)	$-19,6 \pm 6,5^{**}$	$-17,7 \pm 5,2^{**}$
10,0 (7)	$-24,0 \pm 8,7^*$	$-29,4 \pm 9,5^{**}$
C_4 , ммоль/л:		
0,5 (6)	$+5,6 \pm 2,9$	$-3,4 \pm 2,9$
1,0 (8)	$+10,8 \pm 3,8^{**}$	$-8,0 \pm 3,5^*$
5,0 (9)	$+15,5 \pm 5,6^*$	$-14,9 \pm 4,9^{**}$
10,0 (9)	$+11,4 \pm 4,5^*$	$-10,7 \pm 4,6^*$
C_{10} , ммоль/л:		
0,01 (6)	$-8,4 \pm 5,6$	$-4,3 \pm 1,7^*$
0,025 (7)	$-9,7 \pm 3,5^*$	$-9,6 \pm 3,6^*$
0,05 (11)	$-12,5 \pm 3,9^{**}$	$-13,5 \pm 2,3^{***}$
0,1 (8)	$-14,1 \pm 5,7^*$	$-16,4 \pm 5,5^{**}$
0,25 (6)	$-28,9 \pm 8,4^{**}$	$-93,5 \pm 9,4^{**}$
0,5 (6)	$-42,9 \pm 4,5^{**}$	$-54,9 \pm 7,3^{***}$
$C_{18:1}$, ммоль/л:		
0,0005 (6)	$+5,7 \pm 2,0^*$	$-10,8 \pm 3,8^*$
0,001 (6)	$+27,5 \pm 7,6^{**}$	$-38,8 \pm 2,7^{***}$
0,01 (6)	$+38,8 \pm 10,3^{**}$	$-51,5 \pm 6,7^{***}$
0,025 (6)	$+44,5 \pm 17,6^*$	$-72,0 \pm 6,8^{***}$

Примечания: в скобках указано число мышечных полосок; * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

поляризацией мембраны ГМ. При этом она сопровождается уменьшением амплитуды анэлектротонических потенциалов ГМ (рис. 3), что свидетельствует о повышении общей ионной проводимости мембраны. Эта гиперполяризация сохранялась в бескальциевом растворе Кребса, в котором ионы Са были замещены ионами Mg как при первой, так и при последующих аппликациях. Кроме того, гиперполяризация мембраны и расслабление ГМ, вызванные ЖК, не уменьшались

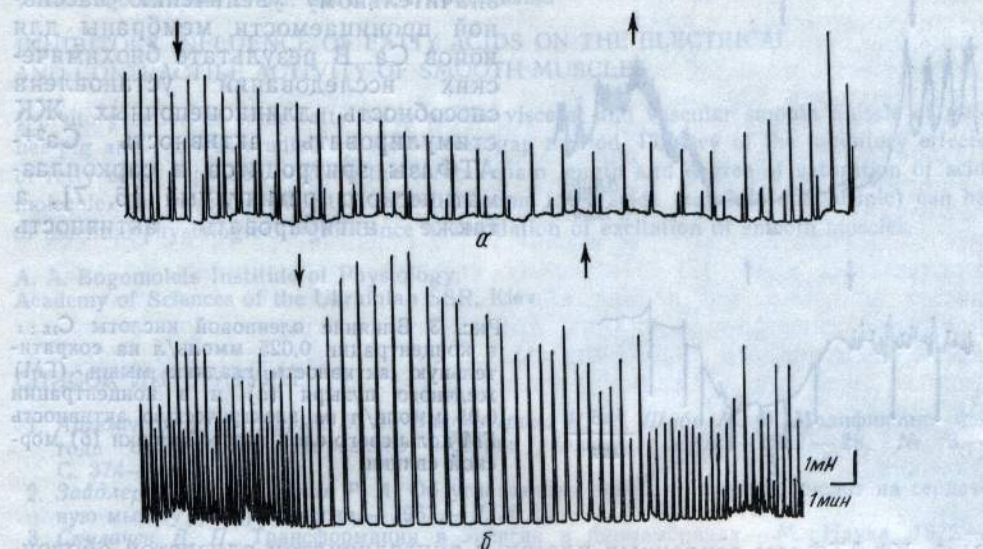


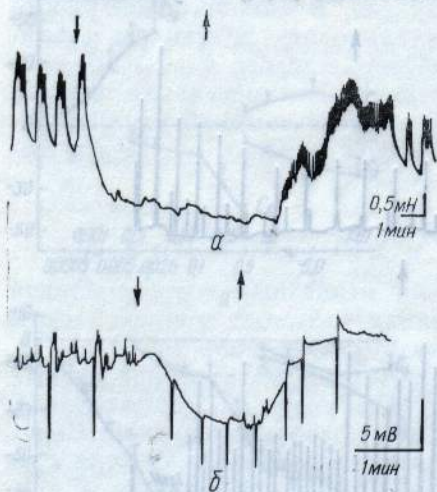
Рис. 2. Влияние жирных кислот C_{10} (0,1 ммоль/л, а) и $C_{18:1}$ (0,01 ммоль/л, б) на спонтанную сократительную активность гладких мышц воротной вены крысы.

на фоне действия блокатора натриевых каналов — тетродотоксина (10^{-7} моль/л), который угнетал холинергические возбуждающие и неадренергические тормозящие синаптические потенциалы ГМ.

Обсуждение

В проведенном исследовании обнаружено отчетливое угнетающее влияние ЖК на сосудистые и висцеральные ГМ. Результаты опытов с использованием тетродотоксина, блокирующего проведение импульсов по интрамуральным нервным волокнам, показали, что этот эффект ЖК является следствием прямого их действия на гладкомышечные клетки. Обнаруженная недавно способность некоторых длинноцепочных ЖК прямо активировать K^+ -каналы мембраны изолированных гладкомышечных клеток желудка жабы [8] также свидетельствует о способности ЖК прямо действовать на протеиновые и (или) липидные участки в мембране гладкомышечной клетки. Наблюдаемая гиперполяризация мембраны ГМ при действии ЖК в наших опытах, очевидно, связана с повышением проводимости мембраны для ионов К, на что указывает уменьшение амплитуды анэлектротонических потенциалов ГМ. Сохранение гиперполяризации при замене внеклеточных ионов Са ионами Mg, в нашем случае, а также данные о том, что ЖК активируют калиевый ток без ионов Са во вне- и внутриклеточных растворах, содержащих 5 ммоль/л ЭГТА [8], позволяют считать, что Ca^{2+} -зависимые K^+ -каналы, по-видимому, не участвуют в этих реакциях. Вместе с тем, необходимо отметить, что ЖК в пороговых концентрациях, вызывавших уменьшение частоты сокращений ГМ в наших экспериментах, заметно не изменяли мембранный потенциал ГМ. По-видимому, это действие ЖК не связано с их прямым мембранным эффектом на K^+ -проводимость, а обусловлено скорее всего изменением каких-то внутриклеточных процессов. Короткоцепочные ЖК могут,

очевидно, легко проникать внутрь клетки и изменять внутриклеточную концентрацию ионов Ca вследствие их Ca -хелатирующих свойств [3]. Для длинноцепочных ЖК на сарколеммальной мембране сердечной мышцы было показано [9], что они, будучи высоко гидрофобными, могут сравнительно быстро (в течение 1,5 с) включаться в мембранный бислой, а это в свою очередь приводит к кратковременной стимуляции $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обмена и



значительному увеличению пассивной проницаемости мембраны для ионов Ca . В результате биохимических исследований установлена способность длинноцепочных ЖК стимулировать активность Ca^{2+} -АТФазы эритроцитов и саркоплазматического ретикулума [6, 7], а также ингибировать активность

Рис. 3 Влияние олеиновой кислоты $\text{C}_{18:1}$ в концентрации 0,025 ммоль/л на сократительную активность гладких мышц (ГМ) желчного пузыря (а) и в концентрации 0,05 ммоль/л на электрическую активность ГМ кольцевого слоя толстой кишки (б) морской свинки.

Na^+ , K^+ -АТФазы сердечных клеток и эпителиоцитов слизистой оболочки тонкой кишки [5, 4]. Приведенные выше результаты, а также обнаруженное нами различие действия ЖК, в частности C_{10} и $\text{C}_{18:1}$, на амплитуду сокращений ГМ (уменьшение и увеличение соответственно), отражают сложный и неоднозначный механизм действия ЖК на ГМ и требует дальнейшего детального исследования.

Эффективность угнетающего действия ЖК существенно зависит от длины углеродной цепи молекулы кислоты. Наши результаты согласуются с данными о значительном увеличении депрессивного действия ЖК, когда число углеродных атомов превышает 9, как это обнаружено при действии ЖК на натриевый ток мембраны гигантского аксона кальмара [11] или сократимость предсердия крысы [2]. Некоторые исследователи [10] полагают, что эффективность угнетающего действия короткоцепочных ЖК, в частности на возбудимость нейронов моллюсков, обусловлена их различной способностью изменять текучесть плазматической мембраны. Так или иначе, большинство исследователей связывают эффективность действия ЖК в различных системах с их физическими свойствами в водных растворах или мембранных структурах, а не с селективностью их связывающих участков к ЖК. В этом плане показательным является значительное различие влияния насыщенных и ненасыщенных длинноцепочных ЖК. Так, в большинстве случаев, в отличие от насыщенных — миристиновой, пальмитиновой и стеариновой ЖК, ненасыщенные — пальмитиновая, олеиновая, линолевая и другие ЖК являются значительно более эффективными при действии на различные объекты и ткани [2, 8, 9], что наблюдается и в наших экспериментах.

Выводы

1. Большинство исследуемых жирных кислот оказывает прямое угнетающее действие на ГМ, проявляющееся в гиперполяризации мембраны, угнетении спонтанной электрической и сократительной активности и расслаблении ГМ тонкой кишки, желчного пузыря морской свинки и воротной вены крысы.

2. Эффективность угнетающего действия жирных кислот зависит от длины углеродной цепи и меры насыщенности молекулы кислоты. Обнаруженный угнетающий эффект некоторых жирных кислот (каприновой и олеиновой) может иметь существенное физиологическое значение в регуляции возбудимости гладкомышечных клеток.

V. P. Zagorodnyuk, E. Ya. Baev, M. S. Yaremko

INHIBITORY INFLUENCE OF FATTY ACIDS ON THE ELECTRICAL AND CONTRACTILE ACTIVITY OF SMOOTH MUSCLES

Inhibitory action of some fatty acids on the visceral and vascular smooth muscle of guinea-pig and rat was studied by the sucrose-gap method. Potency of the inhibitory effects of fatty acids depended both on the carbon chain length and degree of saturation of acid molecule. The revealed inhibitory effect of some fatty acids (caprinic and oleinic) can be of essential physiological significance in regulation of excitation of smooth muscles.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Артеменко Д. П., Бурый В. А., Владимирова И. А., Шуба М. Ф. Модификация метода одинарного сахарозного мостика // Физиол. журн.—1982.—28, № 3.—С. 374—380.
2. Зайдлер Я. И., Дулицкая Р. А. Об угнетающем действии жирных кислот на сердечную мышцу // Кардиология.—1967.—7, № 12.—С. 50—54.
3. Скулачев В. П. Трансформация в энергии в биомембранах.—М.: Наука, 1972.—203 с.
4. Яременко М. С., Ивасивка С. В., Попович И. Л. и др. Физиологические основы лечебного действия воды Нафтуся.—Киев: Наук. думка, 1989.—144 с.
5. Bidard J., Rossi B., Renaud J., Lazdunski M. A search for an «ouabain-like» substance from the electric organ of *Electrophorus electricus* which led to arachidonic and related fatty acids // Biochim. et biophys. acta.—1984.—769, N 1.—P. 245—252.
6. Messineo F. C., Rathier M., Watras J. M. et al. Fatty acid effects on sarcoplasmic reticulum function in vitro // Myocardial ischemia and lipid metabolism: Proc. Int. Soc. Heart Res. (Rome, 1983).—New York, London, 1984.—P. 127—134.
7. Niggli V., Adunyah E. S., Carafoli E. Acidic phospholipids, unsaturated fatty acids, and limited proteolysis mimic the effect of calmodulin on the purified erythrocyte Ca-ATP-ase // J. Biol. Chem.—1981.—256, N 12.—P. 8588—8592.
8. Ordway R. W., Walsh J. V., Singer J. J. Arachidonic acid and other fatty acids directly activate potassium channels in smooth muscle cell // Science.—1989.—244, N 4909.—P. 1176—1179.
9. Philipson K. D., Ward R. Effects of fatty acids on Na^+ - Ca^{2+} exchange and Ca^{2+} permeability of cardiac sarcolemmal vesicles // J. Biol. Chem.—1985.—260, N 17.—P. 9666—9672.
10. Suleymanian M. A., Takenaka T., Stamboltsyan K. V., Ayrapetyan S. The effects of short-chain fatty acids on neuronal membrane functions of *Helix pomatia*. 1 Electrical Properties // Cell. Mol. Neurobiol.—1986.—6, N 2.—P. 151—163.
11. Takenaka T., Horie H., Hori H. et al. Inhibitory effects of myrmicacin on the sodium channel in the squid giant axon // Proc. Jap. Acad. Sci.—1981.—57, N 3.—P. 314—317.

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

Материал поступил
в редакцию 06.06.90