

ль/л; по осі ординат — від-
%), протягом 30 хв супро-
збільшенням інтенсивності
муму при концентрації ко-
перевищуючи контрольний

них досліджень дозволяють
ул — секреція пепсиногену
ітинний кальцій. Функціо-
ає, очевидно, в підтриманні
в секретії. Серед лужнозе-
к посередника в спряженні
властивістю, хоча і в знач-

TRUSION

n extrusion by isolated guinea pig
dium, containing EGTA (0.25 mM).
specific activator of Ca^{2+} release
centrations over 0.125 mM increased
oline. The interdependence between
ation in the medium had S-shaped
extrusion already in the first minutes
her cations (Sr^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+}) it
sinogen extrusion. Thus, it can be
part in the activation of pepsinogen
ists in the support of reactivity of.

он. ии оттитде еі, ондизро
сттиновр иминсг в нск'в
(.иі ст монйудемалви)

еские особенности хронамперомет-
рографическое определение кисло-
мк, 1968.— С. 25—48.
эзоцитоз.— М.: Высш. шк., 1987.—

8. Роль кальция в экструзии пище-
поджелудочной железы // Физиол.

узии пищеварительных ферментов:
ис... канд. биол. наук.— Львов,

кого действия неорганических сое-
ь.— М.: Наука, 1986.— 256 с.
мости нейрональной мембраны.—

ия активности ферментов // Биохи-
кровского, М.: Медицина, 1969.—

брами и его последствия // Био-
118—136.
елез.— М.: Изд-во Моск. ун-та,

ne on intracellular calcium during
// J. Physiol (Gr. Brit.).— 1988.—

g isolated glands from the Rabbit
N 1—P. 150—159.

13. Dormer R., Rown G., Doughney C. Intracellular Ca in pancreatic acinar cells: regulation and role in stimulation of enzyme secretion // Biosci. Repts.— 1987.— 7, N 4.— P. 333—344.
14. Fabiato A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum // Amer. J. Physiol.— 1983.— 245.— P. C1—C14.
15. Kim D., Okada A., Smith T. Control of cytosolic calcium activity during low sodium exposure in cultured chick heart cells // Circ. Res.— 1987.— 61, N 1.— P. 29—41.
16. Martonosi A. Mechanisms of Ca release from sarcoplasmic reticulum of skeletal muscle // Physiol. Rev.— 1984.— 64, N 8.— P. 1240—1320.
17. Williams J., Burnham D. Calcium and stimulus—secretion coupling in pancreatic acinar cells // Calcium Biol. Sust. Proc. 67 th. Annu. Mech. Fed. Amer. Soc. Environ. Biol., Chicago, Ill., 10—15 Apr., 1983.— New York, London, 1985.— P. 83—91.
18. Yoshida T., Kanno T. The role of extracellular calcium in the secretory response of the exocrine pancreas to secretin and forskolin // Biomed. Res.— 1987.— 8, N 4.— P. 233—240.

Львів. ун-т ім. І. Франка
М-ва вищ. і серед. спец. освіти України

Матеріал надійшов
до редакції 10.06.91

УДК 577.352.5:612.822

П. М. Шевчук, І. С. Магура

Вплив кофеїну на електричні реакції ацинарних клітин підшлункової залози собаки

Исследовали электрические реакции ацинарных клеток поджелудочной железы собаки на действие фармакологических веществ (кофеина, новокаина, рутениевого красного), влияющих на высвобождение Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума. Полученные результаты позволяют предположить наличие в ацинарных клетках поджелудочной железы двух механизмов высвобождения Ca^{2+} из внутриклеточного депо: с помощью Ca^{2+} -индуцированного механизма и с помощью инозитол-1,4,5-трифосфата. Обнаружено участие Na, Ca-обмена в регуляции концентрации внутриклеточного Ca^{2+} в ацинарных клетках поджелудочной железы.

Вступ

Іони Са, що містяться всередині клітини, забезпечують зв'язок між стимуляцією і секрецією в секреторних клітинах травного тракту. Стимуляція цих клітин нейромедіаторами і гормонами призводить до підвищення концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} [15, 16, 25], що в свою чергу викликає активацію Са-залежних іонних каналів і призводить до зміни мембранного потенціалу і вхідного опору ацинарних клітин. Необхідною умовою розуміння особливостей функціонування даного різновиду секреторних клітин є з'ясування ролі двох шляхів надходження Ca^{2+} в цитозоль: із позаклітинного середовища і внутрішньоклітинного депо. В умовах, близьких до природних, важливим місцем депонування Ca^{2+} всередині клітини є ендоплазматичний ретикулум.

Відомо два основних механізми індукції вивільнення Ca^{2+} із ендоплазматичного ретикулуму: вивільнення Ca^{2+} під впливом Ca^{2+} (Ca^{2+} -індукований вихід Ca^{2+}) — цей механізм виявлений в саркоплазматичному ретикулумі скелетних м'язів і міокарда [10, 11]; вивільнення Ca^{2+} під впливом інозитол-1,4,5-трифосфату [6]. З метою вивчення Ca^{2+} -індукованого вивільнення Ca^{2+} із ендоплазматичного ретикулуму ми провели дослід з кофеїном, який знижує в декілька тисяч разів порогову концентрацію Ca^{2+} , необхідну для індукції виходу Ca^{2+} із ретикулума [9].

© П. М. ШЕВЧУК, І. С. МАГУРА, 1992

Досліди проведені на ацинусах підшлункової залози собаки. Перфузію ацинусів в камері здійснювали при температурі 37 °C розчином Кребса такого складу (ммоль/л): NaCl — 120,7; KCl — 5,9; NaHCO₃ — 15,5; NaH₂PO₄ — 1,2; MgCl₂ — 1,2; CaCl₂ — 2,5; глюкоза — 11,5 (pH — 7,2—7,4).

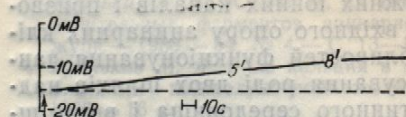
Внутрішньоклітинне відведення від ацинарних клітин здійснювали за допомогою скляних мікроелектродів, заповнених KCl (2,5 моль/л). Мікроелектрод включали в мостову схему, що дозволяло використовувати його не тільки для відведення, але і для поляризації досліджуваної секреторної клітини з метою визначення її вхідного опору. Для цього пропускали де- чи гіперполяризуючі імпульси струму. Вимірювання мембранного потенціалу і реєстрацію його змін на фотопері УФ-67 здійснювали за допомогою підсилювача постійного струму, на виході якого знаходились гальванометри шлейфного осцилографа НО-30А. Виміри здійснювали з точністю до 1 мВ.

Визначали такі характеристики мембран: мембранний потенціал і вхідний опір ацинарних клітин. У випадку визначення вхідного опору через мікроелектрод пропускали де- чи гіперполяризуючі електричні імпульси (0,1—1,0 нВ, 3с). Спад напруги на мікроелектроді повністю компенсувався мостовою схемою. Таким чином, зареєстровані зміни мембранного потенціалу відповідали зміні напруги тільки на опорі мембрани клітини. Тривалість реєстрації без помітного пошкодження клітини в більшості випадків досягала 1 год.

Результати та їх обговорення

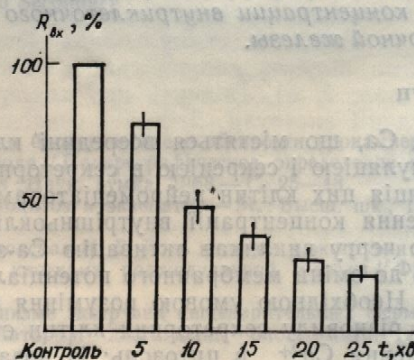
Зареєстрований в ацинарних клітинах підшлункової залози собаки мембранний потенціал був в межах $-12,0 \div -27,5$ мВ ($-19,2 \text{ мВ} \pm 0,62 \text{ мВ}$, $n=348$, $P<0,03$).

При вивченні впливу фізіологічно активних речовин на електричні реакції ацинарних клітин виявлено, що ацетилхолін в концентрації 10^{-7} моль/л викликає деполяризацію мембрани на $3,8 \text{ мВ} \pm 0,4 \text{ мВ}$ ($n=14$, $P<0,05$) і зменшення вхідного опору. На 3-й хвилині дії ацетилхоліну на ацинарні клітини вхідний опір в порівнянні з контролем складав 54,1 %, на 6-й хвилині — 47,5 %, на 9-й хвилині — 22,3 %, на 12-й хвилині —



Мал. 1. Зміна мембранного потенціалу ацинарних клітин підшлункової залози собаки під впливом ацетилхоліну (10^{-7} моль/л).

Мал. 2. Зміна відносного вхідного опору ($R_{вх}$) ацинарних клітин підшлункової залози собаки під впливом кофеїну (5 ммоль/л).



12,0 %. Дія ацетилхоліну була зворотною (мал. 1). Стрілкою позначено момент початку дії ацетилхоліну, штриховою лінією — вихідне значення мембранного потенціалу).

Введення у зовнішній розчин карбахолу (10^{-6} моль/л) викликало деполяризацію мембрани на $4,6 \text{ мВ} \pm 0,64 \text{ мВ}$ ($n=12$, $P<0,05$) і помітне зниження вхідного опору ацинарних клітин. Отримані дані свідчать, що на 3-й хвилині дії карбахолу вхідний опір в порівнянні з

контролем складав 66,4 43,8 %. Відмивання аци призводило до відновлення. Аналогічні електричні собаки викликає пента

Отримані результати, проведені на аци мишей [2, 20, 21]. Окр роди, а саме холецисто поляризацію плазматич залози шурів і мишей залози свиней ацетилхо викликають гіперполяри вом цих гормонів в аци свинки і кроликів спо ча брани, яка потім змінює

Зв'язування нейром кає вивільнення Ca^{2+} і цьому відіграє інозитол внутрішньоклітинного і викликають деполяриза підшлункової залози со щення надходження Ca^{2+} цю Ca -залежних несел пі для Na^+ , K^+ , Rb^+ , L [14]. В літературі прив на ацинарні клітини пі лежні хлорні канали [2 відкривання—закриванн при позитивних потенціа слізних залоз вони ві тинного Ca^{2+} 2 мкм 0,1 мкмоль/л [12].

При введенні в нор буваються незначна деп вхідного опору ацинарні ацинарні клітини вхідні 78 0 %, на 10-й хвилині хвилині — 27 %, на 25-й контрольні виміри до п клітини досліджували і ліну не призводила до клітин.

Зменшення вхідного спостерігали і в безкал пригнічення трансмембр сутності блокатора Ca^{2+} електричні реакції ацив ся. В присутності Ni^{2+} нявся від такого в норм мані при використанні L

Виявлено, що післ (10^{-6} моль/л) не вплив нарних клітин підшлунк цей феномен обумовлені

На мал. 3, а показ карбахол після поперед були отримані при насту

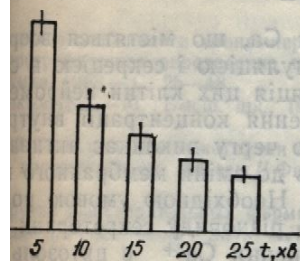
Результати провед про те, що кофеїн викл рішньоклітинного Ca^{2+}

вої залози собаки. Перфузію ратури 37 °C розчином Кребса 20,7; KCl — 5,9; NaHCO₃ — 2,5; глюкоза — 11,5 (рН—

ацинарних клітин здійснюва- заповнених KCl (2,5 моль/л). у, що дозволяло використо- те і для поляризації дослід- значення її вхідного опору. изуючі імпульси струму. Ви- грацію його змін на фотопа- ідсилювача постійного стру- метри шлейфного осцилогра- до 1 мВ.

ран: мембранний потенціал ку визначення вхідного опо- гіперполяризуючі електрич- ти на мікроелектроді повні- ім чином, зареєстровані змі- ніні напруги тільки на опорі без помітного пошкодження

ідшлункової залози собаки 0,0÷—27,5 мВ (—19,2 мВ± ивних речовин на електрич- ацетилхолін в концентрації мембрани на 3,8 мВ±0,4 мВ



клітин підшлункової залози собаки

арних клітин підшлункової залози

(мал. 1). Стрілкою позначе- ковою лінією — вихідне зна- лу (10⁻⁶ моль/л) виклика- мВ (n=12, P<0,05) і по- клітин. Отримані дані свід- хідний опір в порівнянні з

контролем складав 66,4 %, на 6-й хвилині — 52,0 %, на 9-й хвилині — 43,8 %. Відмивання ацинарних клітин нормальним розчином Кребса призводило до відновлення вихідного мембранного потенціалу і опору. Аналогічні електричні реакції ацинарних клітин підшлункової залози собаки викликає пентагастрін в концентрації 10⁻⁷ моль/л.

Отримані результати знаходяться у відповідності з даними дослі- дів, проведених на ацинарних клітинах підшлункової залози шурів і мишей [2, 20, 21]. Окрім ацетилхоліну, деякі гормони пептидної при- роди, а саме холецистокінін, гастрін, бомбезін, викликають також де- поляризацію плазматичної мембрани ацинарних клітин підшлункової залози шурів і мишей [21, 23]. В ацинарних клітинах підшлункової залози свиней ацетилхолін і вказані вище гормони пептидної природи викликають гіперполяризацію плазматичної мембрани [15]. Під впли- вом цих гормонів в ацинарних клітинах підшлункової залози морської свинки і кроликів спочатку настає деполяризація плазматичної мем- брани, яка потім змінюється гіперполяризацією [18, 21].

Зв'язування нейромедіатора з поверхневими рецепторами викли- кає вивільнення Ca²⁺ із внутрішньоклітинних депо. Важливу роль в цьому відіграє інозитол-1,4,5-трифосфат [6]. Підвищення концентрації внутрішньоклітинного іонізованого кальцію стимулює серію явищ, що викликають деполяризацію плазматичної мембрани ацинарних клітин підшлункової залози собаки, а також шурів і мишей, вхід Na⁺, підви- щення надходження Ca²⁺ із позаклітинного середовища [24] і актива- цію Ca-залежних неселективних катіон-каналів. Такі канали проники- лі для Na⁺, K⁺, Rb⁺, Li⁺ [13, 14]. Їх провідність складає 30—35 пСм [14]. В літературі приводяться дані про те, що при дії ацетилхоліну на ацинарні клітини підшлункової залози шурів активуються Ca-за- лежні хлорні канали [26], які характеризуються повільною кінетикою відкриття—закриття. Імовірність їх відкриття підвищується при позитивних потенціалах. Їх провідність складає 2 пСм. В клітинах слізних залоз вони відкриваються при концентрації внутрішньоклі- тинного Ca²⁺ 2 мкмоль/л і закриваються при концентрації 0,1 мкмоль/л [12].

При введенні в нормальний розчин Кребса 5 ммоль/л кофеїну від- буваються незначна деполяризація мембрани (до 3 мВ) і зменшення вхідного опору ацинарних клітин. Так, на 5-й хвилині дії кофеїну на ацинарні клітини вхідний опір в порівнянні з контролем складав 78,0 %, на 10-й хвилині — 47,0 %, на 15-й хвилині — 36,0 %, на 20-й хвилині — 27 %, на 25-й хвилині — 22,0 % (мал. 2. Перший стовпчик— контрольні виміри до початку дії кофеїну). Дію кофеїну на ацинарні клітини досліджували на протязі 25—30 хв. Наступна дія ацетилхо- ліну не призводила до виникнення електричної реакції ацинарних клітин.

Зменшення вхідного опору ацинарних клітин під час дії кофеїну спостерігали і в безкальцієвому розчині, що містив ЕГТА. В умовах пригнічення трансмембранного входу Ca²⁺ (досліди проводили в при- сутності блокатора Ca-каналів Ni²⁺) ефект кофеїну (5 ммоль/л) на електричні реакції ацинарних клітин підшлункової залози не усував- ся. В присутності Ni²⁺ (1 ммоль/л) ефект кофеїну помітно не відріз- нявся від такого в нормальному розчині Кребса. Аналогічні дані отри- мані при використанні La³⁺ (1 ммоль/л).

Виявлено, що після впливу кофеїну наступна дія карбахола (10⁻⁶ моль/л) не впливає на мембранний потенціал і провідність аци- нарних клітин підшлункової залози собаки. Можливе припущення, що цей феномен обумовлений виснаженням Са-депо внаслідок дії кофеїну.

На мал. 3, а показано електричну реакцію ацинарних клітин на карбахол після попередньої дії на них кофеїну. Подібні результати були отримані при наступній дії пентагастріну (10⁻⁷ моль/л; мал. 3, б).

Результати проведених досліджень узгоджуються з уявленням про те, що кофеїн викликає тимчасове підвищення концентрації внут- рішньоклітинного Ca²⁺ внаслідок вивільнення його із ендоплазматич-

ного ретикулуму [3, 11]. У відповідності з даними Шуби і співавторів [4], вплив кофеїну призводить до збільшення частоти спонтанних Са-активованих К-струмів гладком'язових клітин тонкої кишки морської свинки.

В клітинах, що мають механізм Na, Са-обміну, пригнічення активності Na, К-помпи поряд з підвищенням концентрації внутрішньоклітинного Na^{2+} призводить до накопичення в клітині іонізованого кальцію, що в свою чергу збільшує секвестрацію Ca^{2+} ендоплазматичним ретикулумом. Виявлено, що пригнічення активності Na, К-помпи у баїном або безкалієвим розчином Кребса призводить до підсилення дії



Мал. 3. Електрична реакція ацинарних клітин підшлункової залози собаки на дію карбахолу (а, 10^{-6} моль/л) і пентагастріну (б, 10^{-7} моль/л) після попередньої дії кофеїну (5 ммоль/л).

Мал. 4. Гіперполяризація мембрани ацинарних клітин підшлункової залози собаки у відповідь на дію кофеїну (а, 5 ммоль/л і ацетилхоліну (б, 10^{-7} моль/л) в безнатрієвому розчині (стрілками відзначено момент початку дії кофеїну — а і ацетилхоліну — б).

кофеїну на вхідний опір ацинарних клітин. На 5-й хвилині дії безкалієвого розчину Кребса, що містить 5 ммоль/л кофеїну, вхідний опір в порівнянні з контролем складав 62,0 %, на 9-й хвилині — 34,0 %, на 12-й хвилині — 18,0 %. В присутності убаїну (10^{-5} моль/л) вхідний опір в порівнянні з контролем на 5-й хвилині дії кофеїну складав 53,0 %, на 9-й хвилині — 35,0 %, на 12-й хвилині — 26,0 %.

У зв'язку з цим важко виключити участь Na, Са-обміну в регуляції концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} в ацинарних клітинах. Наявність Na, Са-обмінної системи виявлено в везикулах плазматичної мембрани підшлункової залози щурів [5]. Максимальна здатність транспортувати Ca^{2+} натрій-кальцієвим обмінником в 10 разів нижче здатності транспортувати Ca^{2+} АТФ-залежною Са-помпою [5]. Na, Са-обмін відіграє незначну роль у виведенні Ca^{2+} із ацинарних клітин підшлункової залози [17].

Відомо, що видалення Na^{+} із позаклітинного середовища призводить до зростання концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} [7]. У зв'язку з цим ми досліджували вплив безнатрієвого розчину на електричні реакції ацинарних клітин. Іони Na в розчині Кребса заміщували іонами трис-(оксиметил)-амінометану. Результати дослідів показали, що дія безнатрієвого розчину супроводжується гіперполяризацією мембрани на 8–9 мВ і зменшенням вхідного опору ацинарних клітин в порівнянні з контролем до 57,0 %. Введення кофеїну (5 ммоль/л) в безнатрієвий розчин призводило до подальшої гіперполяризації мембрани на 12–14 мВ (мал. 4, а) і значного зменшення вхідного опору.

З аналогічними фактами ми зустрілися при дослідженні дії ацетилхоліну, карбахолу і пентагастріну в умовах безнатрієвого середовища (мал. 4, б). Карбахол (10^{-6} моль/л) в таких умовах викликає гіперполяризацію мембрани на $10,5 \text{ мВ} \pm 1,1 \text{ мВ}$ ($n=12$, $P<0,05$) і зменшення вхідного опору секреторних клітин. В безнатрієвому розчині, що містять пентагастрін (10^{-7} моль/л), амплітуда гіперполяризації мембрани складала $11,7 \text{ мВ} \pm 0,6 \text{ мВ}$ ($n=10$, $P<0,05$). По мірі

дії гормона вхідний опір. Результати проведених нормального розчині під Ca^{2+} викликає зростання Na^{+} , і K^{+} , і при цьому (відбувається деполяризація) ефект підвищення проникливості клітки гіперполяризацію.

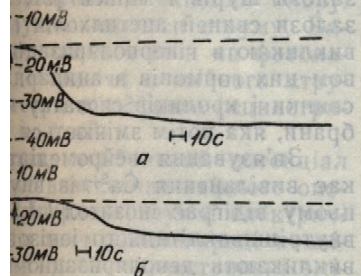
Проведені дослідження фізіологічно активні рин), напевно, викликають внутрішньоклітинного Ca^{2+} , що в свою чергу впливає на вхідних калієвих каналів. В підшлунковій залозі щурів високої (250 пСм) і низької (25 пСм) вхідною умовою відкриваються каналі і концентрації іонів кальцію. Каналі селективні до K^{+} , Rb^{+} , Cs^{+} і відіграють важливу роль в регуляції вхідного опору клітинах.

Одним із блокаторів кальцієвого ретикулуму є титрат. Введення до зовнішнього розчину титрату в концентраціях пригнічує вихідний опір нейронів виноградної лозви і ацинарних клітин анергетики і кофеїн застосовують в анестезії. Результати показав, що наявність кофеїну в електричних реакції ацинарних клітин. Цьому сумісна дія кофеїну на вхідний опір до 120–130 мВ. Введення 1 ммоль/л лідокаїну чи новокаїну зменшує електричних реакції ацинарних клітин.

Новокаїн також пригнічує вхідний опір підшлункової залози у зв'язку з тим, що новокаїн зменшує вхідний опір Ca^{2+} [11], пригнічення вхідного опору ацинарних клітин може бути викликано не тільки іонами Ca^{2+} , але і Ca^{2+} -індукованою гіперполяризацією ретикулуму ацинарних клітин.

Блокатором вивільнення кальцію з ретикулуму є також полікатіонні речовини, що перешкоджає виходу кальцію з ретикулуму в скелетних м'язів, підвищує вхідний опір клітин червоної крові в концентрації 10⁻⁵ моль/л. Результати проведені дослідів червоної крові в концентрації 10⁻⁵ моль/л підшлункової залози собаки у зв'язку з тим, що новокаїн зменшує вхідний опір ацинарних клітин. Цьому сумісна дія кофеїну на вхідний опір до 120–130 мВ. Введення 1 ммоль/л лідокаїну чи новокаїну зменшує електричних реакції ацинарних клітин.

Таким чином, результати дослідів показують, що впливають на вхідний опір ацинарних клітин підшлункової залози собаки у зв'язку з тим, що новокаїн зменшує вхідний опір ацинарних клітин. Цьому сумісна дія кофеїну на вхідний опір до 120–130 мВ. Введення 1 ммоль/л лідокаїну чи новокаїну зменшує електричних реакції ацинарних клітин.



дшлункової залози собаки на дію 7 моль/л) після попередньої дії ко-

гин підшлункової залози собаки у ліну ($6, 10^{-7}$ моль/л) в безнатріє-атку дії кофеїну—*a* і ацетилхо-

н. На 5-й хвилині дії безкальцієвої кофеїну, вхідний опір в 9-й хвилині — 34,0 %, на кальцієву (10⁻⁵ моль/л) вхідний опір — 26,0 %.

тинного середовища призводило до збільшення концентрації іонів кальцію в цитоплазмі клітинного Ca^{2+} [7]. У натрієвого розчину на електродному потенціалі в розчині Кребса заміщувався натрій іонами кальцію. Результати дослідів показують, що в присутності гіперполяризаційного опору ацинарних клітин натрієвого розчину заміщення іонів кальцію кофеїну (5 ммоль/л) в присутності гіперполяризації мембрани призводить до зменшення вхідного опору. Це свідчить про те, що в клітинах при дослідженні дії ациномових безнатрієвих середовищ в таких умовах викликає збільшення амплітуди потенціалу (1,1 мВ ($n=12$, $P<0,05$)) і частоти потенціальних коливань (0,1 Гц ($n=10$, $P<0,05$)). В безнатрієвому розчині збільшення амплітуди потенціалу (1,1 мВ ($n=10$, $P<0,05$)) і частоти потенціальних коливань (0,1 Гц ($n=10$, $P<0,05$)). По мірі збільшення концентрації кальцію в розчині зменшується амплітуда потенціалу (0,5 мВ ($n=10$, $P<0,05$)) і частота потенціальних коливань (0,05 Гц ($n=10$, $P<0,05$)).

дії гормона вхідний опір зменшувався до 5—6 % відносно контролю. Результати проведених дослідів дозволяють припустити, що коли в нормальному розчині підвищення концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} викликає зростання проникності плазматичної мембрани для Na^+ , і K^+ , і при цьому домінує ефект Na^+ на мембранний потенціал (відбувається деполяризація), то в безнатрієвому розчині домінує ефект підвищення проникності плазматичної мембрани для K^+ , що викликає гіперполяризацію.

Проведені дослідження показали, що в умовах безнатрієвого середовища фізіологічно активні речовини (ацетилхолін, карбахол, пентагастрін), напевно, викликають помітне збільшення концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} , що в свою чергу викликає активацію Ca -залежних калієвих каналів. В плазматичній мембрані ацинарних клітин підшлункової залози щурів і мишей виявлені Ca -залежні калієві канали високої (250 пСм) і низької (20—30 пСм) провідності [14, 22]. Необхідною умовою відкриття цих каналів є зміна мембранного потенціалу і концентрації іонізованого кальцію [15, 21]. Ці канали високо-селективні до K^+ , Rb^+ , регулюються гормонами і нейромедіаторами і відіграють важливу роль в поєднанні стимул — відповідь в секреторних клітинах.

Одним із блокторів Ca^{2+} -індукованого виходу Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулу скелетних м'язів є місцеві анестетики [11]. Введення до зовнішнього розчину новокаїну і тетракаїну в мілімолярних концентраціях пригнічувало вивільнення Ca^{2+} із внутрішньоклітинних депо нейронів виноградного слимака [1]. В наших досліджах місцеві анестетики і кофеїн застосовували одночасно. Аналіз отриманих результатів показав, що новокаїн в концентрації 1 ммоль/л пригнічує електричні реакції ацинарних клітин, що викликані дією кофеїну. При цьому сумісна дія кофеїну і новокаїну супроводжувалася збільшенням вхідного опору до 120—130 % в порівнянні з контролем. Застосування 1 ммоль/л лідокаїну чи тримекаїну не призводило до пригнічення електричних реакцій ацинарних клітин у відповідь на дію кофеїну.

Новокаїн також пригнічував електричні реакції ацинарних клітин підшлункової залози у відповідь на дію ацетилхоліну (10^{-7} моль/л). У зв'язку з тим, що новокаїн вибірково пригнічує Ca^{2+} -індукований вихід Ca^{2+} [11], пригнічення місцевим анестетиком електричних реакцій ацинарних клітин може бути наслідком того, що при дії ацетилхоліну відбувається не тільки інозитол-1,4,5-трифосфатіндуковане вивільнення Ca^{2+} , але і Ca^{2+} -індуковане вивільнення Ca^{2+} із ендоплазматичного ретикулу ацинарних клітин.

Блокатором вивільнення Ca^{2+} із внутрішньоклітинних депо являється також полікатіонний барвник рутенієвий червоний [19]. Ця речовина перешкоджає виходу Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулулу скелетних м'язів, підвищуючи при цьому ефективність дії Са-помпи [8]. Результати проведених нами дослідів показали, що рутенієвий червоний в концентрації 1 ммоль/л пригнічує електричні реакції підшлункової залози собаки у відповідь на дію кофеїну. На підставі отриманих результатів можна припустити, що рутенієвий червоний утруднює вивільнення Ca^{2+} індуковане кофеїном.

Таким чином, результати дослідів при застосуванні фармакологічних речовин, що впливають на ендоплазматичний ретикулум (кофеїну, новокаїну, рутенієвого червоного) дозволяють припустити наявність в ацинарних клітинах підшлункової залози собаки Ca^{2+} -індукованого механізму вивільнення Ca^{2+} із внутрішньоклітинних депо.

RESPONSES

caïne, ruthenium red) which influenced the electrical responses of dog pancreatic microelectrodes. These drugs were on endoplasmic reticulum. Membrane re observed in the presence of caffeine. responses of acinar cells to caffeine. are two mechanisms of Ca^{2+} release is: Ca^{2+} -induced one and using inosi-

С. Л. Механизмы изменения кон- юв виноградної улитки с участием гич. мембраны.—1987.—4, № 9.—

тилохлина на электрическую и секре- телудочной железы // Физиол. журн.

. Сравнительный анализ действия ге- освобожения Ca^{2+} в саркоплазматич- огич. мембраны.—1986.—3, № 11.—

вне активаторов и блокаторов высво- трансмембранные ионные токи изоли- -1990.—7, № 3.—С. 317—325. transport in plasma membrane of rat 5.—87, N 2.—P. 107—119. te a novel second messenger in cellular 92.—P. 315—318.

in frog atrial trabeculate by a redu- p // J. Physiol.—1979.—327, N 2.—

of rapid Ca -release from isolated ske- membranes // Biochem. and Biophys.

reticulum // J. Physiol. Rev.—1977.—

pling of isolated cardiac with disrupt- cyclic and tonic contractions // Circ.

sarcoplasmic reticulum of skeletal 0.—1320.

ident channels // Trends in neuroscien-

trends in isolated patched of plasma ni // Nature.—1982.—299, N 5944.—

dependent cation channels in mouse —79.—P. 293—300.

on G. T. Quantification of Ca^{2+} -acti- ing pancreas acinar cells // Nature.—

calcium in fura-2 loaded rat paro- 17362—17369.

n mobilizing hormones activate the r cells // J. Membrane Biol.—1988.—

cells. Membrane potential and resis- d.—1974.—238, N 1.—P. 145—158. d sarcoplasmic reticulum // J. Biol.

20. Petersen O. H. Electrophysiology of mammalian gland cells // Physiol. Rev.—1976.—56, N 2.—P. 535—577.
21. Petersen O. H., Findlay I. Electrophysiology of the pancreas // Ibid.—1987.—67, N 3.—P. 1054—1116.
22. Petersen O. H., Suzuki K. Patch-clamp studies of K^{+} -channels in guinea-pig pancreatic acinar cells // J. Physiol.—1986.—378.—62 p.
23. Petersen O. H., Ueda N. Pancreatic acinar cells: effect of acetylcholine, pancreozymin, gastrin and secretin on membrane potential and resistance in vivo and in vitro // J. Physiol.—1975.—257, N 3.—P. 461—471.
24. Powers R. E., Johnson P. C., Houlihan M. J. et al. Intracellular Ca^{2+} -levels and amy- lase secretion in quin-2 loaded mouse pancreatic acini // Amer. J. Physiol.—1985.—248, N 5. Pt. 1.—C. 535—541.
25. Streb H., Irvine F., Berridge M. J., Schulz I. Release of Ca^{2+} from a nonmitochondrial intracellular store in pancreatic acinar cells by inositol-1,4,5-trisphosphate // Nature.—1983.—306, N 5971.—P. 67—69.
26. Wakul M. The effects of acetylcholine, inositol triphosphate and Ca^{2+} on Cl^{-} current in single mouse pancreatic acinar cells // J. Physiol.—1989.—410.—P. 180.

Наук.-дослід. ін-т фізіології
Київ, ун-та ім. Т. Г. Шевченка
М-ва вищ. та серед. спец. освіти України

Матеріал надійшов
до редакції 25.12.90

УДК 612.323

Г. М. Барашкова, П. К. Климов, В. Л. Куранова,
В. Н. Калихевич, З. А. Ардемасова, Л. В. Резник, С. И. Чуркина

Влияние регуляторных пептидов на всасывание воды в толстой кишке лягушки

Препарат ізольованої товстої кишки жаби заповнювали розчином Рінгера, розбавленим дистильованою водою, ставили у склянку з нормальним розчином Рінгера, зважували кожні 30 хв і визначали осмотичну проникність для води слизового і серозного шарів кишки. Потім до розчину Рінгера додавали один з пептидів і продовжували дослід. Встановлено, що бомбезин, нейротензин, енкефалини, субстанція Р, соматостатин, пітіутрин здібні змінювати усмоктування рідини з порожнини товстої кишки, коли концентрація розчину Рінгера у порожнині і з боку її серозної поверхні однакова. Бомбезин й нейротензин гальмували, у той час як енкефалини стимулювали усмоктування рідини. Ці ефекти залежали від транспорту іонів. Усмоктування рідини, що відбувалося за осмотичним градієнтом, послаблювалося бомбезином, субстанцією Р і стимулювалося соматостатином. Більш складні пептид-пептидні взаємозв'язки спостерігалися при використанні пітіутрину та інших пептидів. Показано участь цАМФ у ефектах бомбезина.

Введение

Дистальный отдел пищеварительного канала — толстая кишка — обеспечивает многие важные функции в поддержании гомеостаза. Одна из них заключается в транспорте ионов и воды из полости кишки через слизистую и серозную оболочки. Активному и пассивному транспорту натрия, калия, хлора и других ионов посвящено множество выполняемых ежегодно работ [2—9], всасыванию воды через эпителий толстой кишки — значительно меньше и даже в специальных изданиях сведений по этому вопросу нет.

© Г. М. БАРАШКОВА, П. К. КЛИМОВ, В. Л. КУРАНОВА, В. Н. КАЛИХЕВИЧ,
З. А. АРДЕМАСОВА, Л. В. РЕЗНИК, С. И. ЧУРКИНА, 1992