

мембранами клітин. Синтез медіатору у корі надниркових залоз підлягає сезонним модуляціям, синтез ГАМК та її рецепція вибірково змінюються за умов стимуляції стероїдогенезу. З'ясування механізмів участі периферичної ГАМК-ергічної системи в модуляції функції надниркових залоз потребують подальшого дослідження.

T.M.Mishunina, V.Ya.Kononenko, A.S.Mikosha, N.D.Trunko

SOME PARAMETERS OF THE ADRENOCORTICAL GABA-ERGIC SYSTEM IN ANIMALS WITH NORMAL AND STIMULATED STEROIDOGENESIS

Activity of glutamate decarboxylase, a GABA synthesis enzyme, and intensity of its reception in the adrenal cortex and hypothalamus of guinea pigs and rats with normal and stimulated steroidogenesis was investigated. It has been shown that in the adrenal cortex there is a metabolic system which provides GABA synthesis from glutamate and mechanisms of GABA reception by plasmatic membranes. Mediator synthesis in the adrenal cortex is subjected to seasonal changes, GABA synthesis and reception selectively vary with administration of ACTH, prolactin and maintenance of animals on a diet with an excess of potassium ions.

V.P.Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism,
Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Балашиов Ю.Г. Флюориметрический микрометод определения кортикостероидов: сравнение с другими методами // Физиол. журн. СССР. — 1990. — 76, № 2. — С. 280—283.
2. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. — Л.: Медицина, 1973. — 141 с.
3. Мишунина Т.М., Кононенко В.Я. Гормональный контроль обмена гамма-аминомасляной кислоты в гипоталамусе и гиппокампе крыс // Укр. биохим. журн. — 1990. — 62, № 6. — С. 71—79.
4. Мишунина Т.М., Кононенко В.Я., Комиссаренко И.В. Влияние ГАМК-ергических препаратов на функциональное состояние гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы у больных болезнью Иценко-Кушинга // Пробл. эндокринологии. — 1991. — 37, № 4. — С. 28—31.
5. Парфенова Е.В. Эндогенные ингибиторы ГАМК-рецепторов постсинаптических мембран // Нейрохимия. — 1986. — 5, № 1. — С. 61—73.
6. Розанов В.А. Сезонные изменения в системе ГАМК головного мозга мышей // Укр. биохим. журн. — 1982. — 54, № 3. — С. 36—40.
7. Al-Badry R., Taha H. Hibernation hypothermia and metabolism in hedgehogs — changes in free amino acids and release compounds // Comp. Biochem. and Physiol. — 1982. — 72, № 3. — P. 541—547.
8. Boyd J., Palmore W.P., Mulrow P. Role of potassium in the control of aldosterone secretion in the rat // Endocrinology. — 1971. — 88, № 36. — P. 556—565.
9. Erdo L., Wolf J. α -Aminobutyric acid outside the mammalian brain // J.Neurochem. — 1990. — 54, № 2. — P. 363—372.
10. Felman K., Tappaz M. Feedback of prolactin on median eminence: Differential effects on gaba and dopamine release // Neuroendocrinology. — 1990. — 52, Suppl. № 1. — P. 161.
11. Gebauer H. Untersuchungen über Anreicherung, Stoffwechsel und Wirkung von α -aminobutter saure (GABA) in der Schilddrüse // Zool. Jahrb. Abt. allg. Zool. und Physiol. Tiere. — 1974. — 78, № 4. — P. 547—559.
12. Gilon P., Bertrand G. The influence of α -aminobutyric acid on hormone release by the mouse and rat endocrine pancreas // Endocrinology. — 1991. — 129, № 5. — P. 2521—2529.
13. Graham I., Aprison M. Distribution of some enzymes associated with the metabolism of glutamine in rat spinal cord // J.Neurochem. — 1969. — 16, № 4. — P. 559—566.
14. Hartree T. Determination of protein: A modification of Lowry method that gives a linear photometric response // Anal. Biochem. — 1972. — 48, № 2. — P. 422—427.
15. Jones M., Gillham B., Altaher A. et al. Clinical and experimental studies in the role of GABA in the regulation of ACTH secretion // Neuropharmacology-Ser. B. — 1984. — 23, № 7. — P. 833—834.
16. Kaplan L., Lopez Costa J.J., Carbone S.E. et al. Neurotransmitters in human term placenta: Biochemistry and immunochemistry // Placenta. — 1989. — 10, № 5. — P. 502—503.
17. Kataoka Y., Gutman Y., Guidotti A. et al. Intrinsic GABAergic system of adrenal chromaffin cells // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Biol. Sci. — 1984. — 81, № 10. — P. 3218—3222.

18. Kitayama S., Morita K., Dohi T. et al. GABA-receptormediated increase of cytosolic Ca^{++} in isolated bovine adrenal chromaffin cells // Biochem. Biophys. Acta. Moll. Cell Res. — 1990. — 1053, № 2—3. — P. 189—194.
19. Locatelli V., Apud J. Prolactin in cerebrospinal fluid increases the synthesis and release of hypothalamic-aminobutyric acid // J.Endocrinol. — 1985. — 106, № 3. — P. 323—328.
20. Nussey S., Price P., Jenkins J. et al. The combined use of sodium valproate and metyrapone in the treatment of Cushing's syndrome // Clin. Endocrinol. — 1988. — 28, № 2. — P. 373—380.
21. Oset-Gasque M., Castro E., Gonzalez M. Mechanisms of 3H- α -aminobutyric acid release by chromaffin cells in primary culture // J.Neurosci. Res. — 1990. — 26, № 2. — P. 181—187.
22. Sautin Yu., Chelnakova I., Tronko N., Mikosha A. Trophic effect and modulation of ACTH-dependent stimulation of steroidogenesis by prolactin in guinea pig adrenal cortex // Endocrinol. Reg. — 1992. — 26, № 1. — P. 35—39.

Ін-т ендокринології та обміну речовин
ім. В.П.Комісаренка АМН України, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 20.07.93

УДК 612.89

В.І.Скок, О.М.Пасічніченко

Ефекти субстанції Р та капсаїцину на синаптичну передачу у периферичних рефлексорних шляхах каудального брижового ганглію щура

В каудальном брыжеечном ганглии (КБГ) крысы были найдены периферические рефлексорные пути, синаптическая передача в которых сохранялась после дегенерации преганглионарных волокон. Для выявления эффектов субстанции Р (СР) и СР-антагониста капсаицина на синаптическую передачу в периферических рефлексорных путях КБГ крысы были исследованы с применением внеклеточной регистрации потенциалов действия от нервов ганглия. Перфузия ганглия раствором, содержащим СР ($5 \cdot 10^{-7}$ и $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л) облегчала передачу, тогда как капсаицин ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) ингибировал ее. Ингибирующий эффект возрастал при стимуляции с высокой частотой периферических нервов.

Вступ

Відомо, що ганглії синаптичної нервової системи здатні регулювати діяльність вісцеральних органів за рахунок дії власних периферичних рефлексів. Вважають, що передача збудження в периферичній рефлексорній дузі ганглію відбувається за допомогою виділення ацетилхоліну з пресинаптичних закінчень аксонів еферентних нейронів. Однак, це твердження переглядається останнім часом у зв'язку з публікацією даних про нові нейротрансмітери, які, можливо, беруть участь у синаптичній передачі збудження. Серед них субстанція Р (СР) є речовиною, властивості якої інтенсивно вивчаються.

Класичним об'єктом для вивчення медіаторів у периферичній рефлексорній дузі є каудальний брижовий ганглії (КБГ) ссавців, оскільки в ньому проходять шляхи багатьох периферичних рефлексів. Дані про наявність таких шляхів між постгангліонарними нервами КБГ (ободовим та

підчервним) були одержані при позаклітинному відведенні потенціалів дії (ПД) від нервів ганглію на котах [3] і морських свинках [4]. Внутрішньоклітинне вивчення КБГ kota [1] та морської свинки [6, 9] також підтверджує наявність замикання периферичних рефлексів у КБГ.

Факти про те, що медіатором синаптичної передачі в КБГ при здійсненні периферичних рефлексів може бути СР, було одержано на гангліях морської свинки [5, 11]. При мікроелектродному вивченні КБГ у цих працях виявлено, що подразнення механорецепторів та хеморецепторів органів тазової та черевної порожнини, а також стимуляція периферичних нервів ганглію з частотою 10—15 Гц викликає повільну деполяризацію нейронів ганглію. Така деполяризація виникала також при аплікації СР до нейронів і блокувалася антагоністами СР [5, 12]. СР знайдено в симпатичних гангліях імунохімічно, в тому числі й у КБГ, у С-терміналах аксонів, джерелом яких є первинні еферентні нейрони [7, 8]. В основному встановлено також механізми синтезу, вивільнення та ферментативної інактивації СР [2, 12]. Більшість зазначених вище досліджень виконано на КБГ морської свинки, КБГ щура не досліджувався. Тому невідомо, наскільки універсальні вищеописані закономірності, і чи не є вони видоспецифічними.

Завданням нашого дослідження було вивчення ролі СР у передачі збудження через КБГ щура по периферичному рефлекторному шляху. У дослідях вивчали електричні реакції цілого ганглію при дії на нього СР і блокатора СР-ергічної передачі капсаїцину. Для контролю участі н-холін-ергічної передачі у ганглії використовували класичний гангліоблокатор — бензогексоній.

Методика

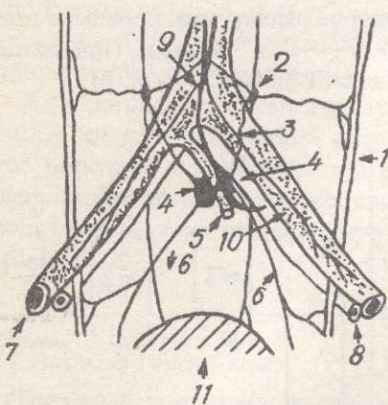
Результати досліджень *in vitro* було одержано на ізольованих краніальних брижових гангліях 16 білих щурів обох статей масою 180—200 г. У гострих експериментах наркотизували тварин уретаном (1 г/кг живої маси, внутрішньочеревинно). Препарати КБГ розміщували в плексигласовій камері об'ємом 3 мл, в яку подавали проточний розчин Тіроде [5] кімнатної температури, насичений карбогеном (95 % кисню та 5 % вуглекислого газу). Досліджувані речовини подавалися у камеру по проточній системі. СР та бензогексоній розчиняли в розчині Тіроде, капсаїцин — у 10 %-вому етанолі, тому в дослідях із ним застосовували контрольний розчин із відповідною концентрацією етанолу.

Експерименти проводили за стандартною електрофізіологічною методикою. Нерви всмоктували в подразнюючу та відповідну піпетки. Використовували хлорсрібні електроди. Супрамаксимальне подразнення здійснювали імпульсами струму від стимулятора ЕСУ-2 через ізолюючий пристрій. Для підсилення та реєстрації ПД застосовували підсилювач змінного струму (УБФ) та осцилограф (С1-93) з фотореєстратором (ФОР-3). У дослідях із хронічною дегенерацією прегангліонарних волокон під гексеналовим наркозом (50—60 мг/кг маси тварин) за стерильних умов здійснювали перерізуку нервів, до складу яких входять прегангліонарні волокна. Після цього в рану вносили біцилін і зашивали її. Тварину для гострого експерименту брали через 7—12 діб після операції.

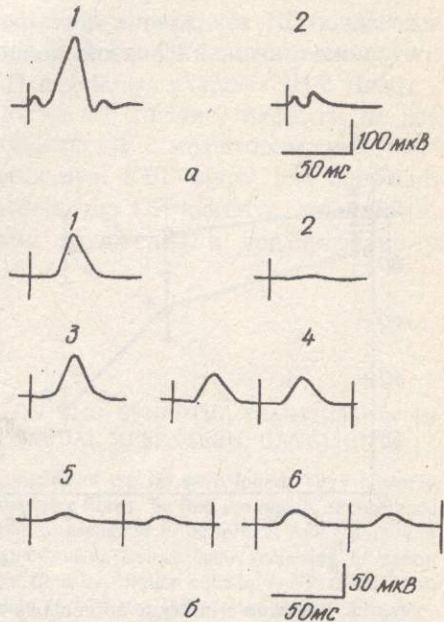
При статистичній обробці результатів підраховували середні значення та помилки середнього ($M \pm m$), а також розраховували вірогідну різницю за критерієм *t* Стюдента. Вірогідними вважали результати при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення

У дослідях по вивченню провідних шляхів КБГ щура (мал. 1) при подразненні лівого і правого підчеревних нервів і відведенні ПД від ободового нерва було отримано синаптичні відповіді з амплітудою 250—300 мкВ і латентним періодом 20—36 мс, які блокувалися бензогексонієм у концентрації $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л (мал. 2, а). Після хронічної дегенерації прегангліонарних волокон лише при подразненні лівого підчеревного нерва ми одержували в ободовому нерві ПД з амплітудою, достатньою для подальших досліджень (50—150 мкВ); ПД блокувалися бензогексонієм (див. мал. 2, б, 1, 2). Як модель у експериментах використовували цей шлях між лівим підчеревним та ободовим нервами.



Мал. 1. Схема топографії та зв'язків каудального брижового ганглію (КБГ) щура: 1 — сечовід; 2 — поперечний вузол; 3 — поперечні черевні нерви; 4 — КБГ (вузлова частина); 5 — каудальна брижова артерія; 6 — підчеревні нерви; 7 — клубова артерія; 8 — клубова вена; 9 — мезентеріальний тракт; 10 — ободовий нерв; 11 — сечовий міхур.



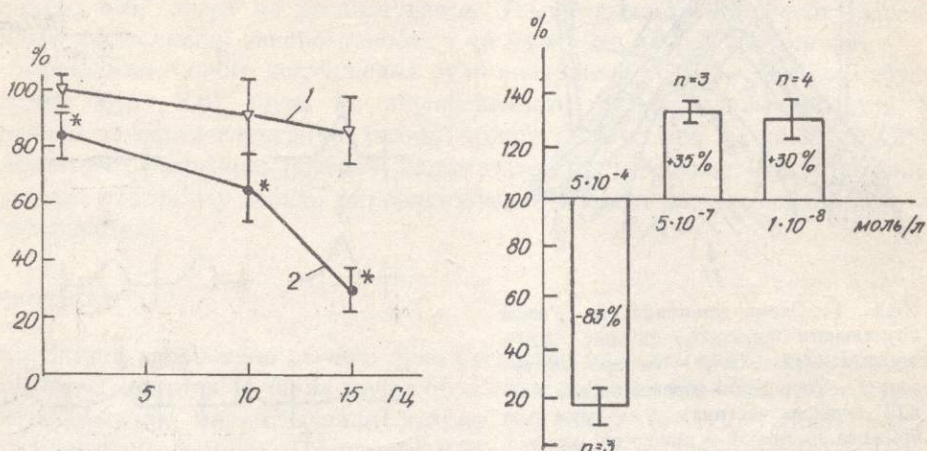
Мал. 2. Електричні відповіді в ободовому нерві каудального брижового ганглію (КБГ) щура при подразненні лівого підчеревного нерва:

а — в ізолюваному КБГ: 1 — частота стимуляції 1 Гц, 2 — через 10 хв під час перфузії КБГ розчином бензогексонію ($1 \cdot 10^{-4}$ моль/л); б — в КБГ після хронічної дегенерації прегангліонарних волокон: 1 — частота стимуляції 1 Гц; 2 — через 10 хв після початку перфузії ганглію розчином бензогексонію ($1 \cdot 10^{-4}$ моль/л); 3, 4 — контроль при частоті подразнення 1 та 15 Гц; 5 — через 40 хв після початку перфузії розчину капсаїцину концентрацією $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л (частота стимуляції 15 Гц); 6 — через 45 хв подальшої перфузії КБГ розчином капсаїцину з додаванням СР ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/л).

Перфузія ізолюваного КБГ щура капсаїцином ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л) призводила до зменшення амплітуди ПД, що реєстрували в ободовому нерві при подразненні імпульсами струму з частотою 1 Гц лівого підчеревного нерва. Це свідчить про те, що капсаїцин у концентрації, достатній для блокування СР-ергічної синаптичної передачі у ганглії [5], здатний також блокувати і холінергічну передачу. Через 40—50 хв після початку перфузії ганглію спостерігали незначне зменшення амплітуди синаптичного ПД порівняно з контрольним, одержаним при частоті стимуляції 1 Гц. Але, коли збільшували частоту стимуляції до 10—15 Гц, то зменшення ставало виразнішим і статистично вірогідним. Так, у контролі протягом 15-секундної стимуляції (15 Гц) амплітуда ПД становила $85,5 \pm 9,0 \%$ ПД ($n=4$), одер-

жаного при стимуляції з частотою 1 Гц, тоді як після перфузії ганглію розчином капсаїцину відносна амплітуда ПД становила $30,0 \pm 5,5 \%$ ($P < 0,05$; $n=4$) контрольної максимальної відповіді (мал. 3). Після відмивки протягом 60—90 хв відносна амплітуда ПД відновлювалася до контрольних значень.

У дослідях на гангліях після хронічної дегенерації прегангліонарних волокон під час 15-секундної супрамаксимальної стимуляції з частотою 15 Гц лівого підчеревного нерва спостерігали майже повний блок синаптичної передачі збудження на ободовий нерв при концентрації капсаїцину в омиваючому розчині $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л (див. мал. 2,б; 5). Пригнічуюча дія капсаїцину частково знімалася при подальшій перфузії КБГ протягом 35—45 хв розчином, в якому знаходилася СР у концентрації $5 \cdot 10^{-7}$ моль/л (мал. 2,б; 6). В інших дослідях СП збуджуючи діяла на синаптичну передачу між периферичними нервами ганглію в діапазоні концентрацій $5 \cdot 10^{-7}$ — $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л. При концентрації $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л амплітуда ПД зменшувалася на 83 % (мал. 4).



Мал. 3. Відносна амплітуда потенціалів дії (% від контрольної максимальної відповіді): 1 — протягом 15-секундної стимуляції (контроль) лівого підчеревного нерва і відведенні від ободового нерва ізолюваного каудального брижового ганглію щура з різною частотою: 1 Гц — 100 %; 10 Гц — $90,7 \pm 10,5 \%$; 15 Гц — $85,5 \pm 9,5 \%$ 2 — після 40-хвилинної обробки ганглію капсаїцином ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/л): 1 Гц — $82,7 \pm 5,6 \%$; 10 Гц — $65,5 \pm 8,5 \%$; 15 Гц — $30,0 \pm 5,5 \%$. Для всіх точок $n=4$, зірочкою позначено вірогідність відмінностей при $P < 0,05$.

Мал. 4. Вплив субстанції Р у концентраціях ($5 \cdot 10^{-4}$, $5 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л) на амплітуду потенціалів дії (ПД), що реєструються в ободовому нерві при подразненні з частотою 1 Гц лівого підчеревного нерва. Контрольний рівень ПД — 100 %. Стопчики відображають зміни амплітуди відповідей (% від контролю), $P < 0,05$. Перфузію здійснювали протягом 45 хв.

З літературних джерел відомо, що СР має збуджуючу дію на симпатичні нейрони, викликаючи їх повільну деполяризацію [5]. Наші результати посередньо підтверджують це.

Капсаїцин викликає зникнення СР із закінчень волокон С-сферентів [10]. Відомо, що СР виділяється з пресинаптичних закінчень при стимуляції периферичних нервів із частотою 10—15 Гц [11]. У наших дослідях при стимуляції з такою частотою капсаїцин пригнічував ПД, які ми реєстрували при проходженні збудження по периферичній рефлексорній дузі КБГ щура. Це явище, ймовірно, пов'язане з зазначеною властивістю блокатора викликати зникнення СР із закінчень нервових волокон, що призводить до усунення модулюючої дії СР на синаптичну передачу при збільшенні частоти стимуляції. Досліди з хронічною деге-

нерацією прегангліонарних волокон демонструють, що вплив капсаїцину на передачу збудження після усунення центральних зв'язків зростає.

Висновки

1. У КБГ щура виявлено периферичні рефлекторні шляхи, синаптична передача в яких здійснюється після дегенерації прегангліонарних волокон.
2. У концентраціях $5 \cdot 10^{-7}$ — $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л СР сприяє полегшенню передачі збудження у периферичному рефлекторному шляху КБГ, що призводить до збільшення амплітуди постсинаптичної відповіді в периферичному нерві ганглію.
3. Капсаїцин пригнічує передачу збудження в периферичному рефлекторному шляху, а при збільшенні частоти стимуляції до 15 Гц він діє сильніше, ніж при стимуляції з частотою 0,5—1 Гц; СР здатна зменшувати пригнічуючу дію капсаїцину.
4. Використання капсаїцину як блокатора СР-ергічної передачі не дає змоги зробити остаточний висновок про те, що СР є медіатором синаптичної передачі у периферичній рефлекторній дузі КБГ щура, але одержані результати дозволяють зробити припущення, що СР виконує, принаймні, роль модулятора в синаптичній передачі збудження в досліджуваному об'єкті.

V.I.Skok, O.M.Pasichnichenko

EFFECTS OF SUBSTANCE P AND CAPSAICIN ON THE SYNAPTIC TRANSMISSION IN PERIPHERAL REFLEX PATHWAYS OF THE RAT CAUDAL MESENTERIC GANGLION

Peripheral nerve pathways in the caudal mesenteric ganglion of the rat were found. They preserve synaptic transmission after degeneration of preganglionic nerve fibres. To find the effects of substance P (SP) and capsaicin, the SP antagonist, on the synaptic transmission in peripheral reflex pathways of the caudal mesenteric ganglion rats were investigated using extracellular recording of action potentials from the ganglion nerves. Perfusion of the ganglion by solution containing SP ($5 \cdot 10^{-7}$ and $1 \cdot 10^{-8}$ mol/l), facilitated the transmission, while capsaicin ($5 \cdot 10^{-5}$ mol/l) inhibited it. The inhibitory effect grew at high-frequency stimulation of peripheral nerves.

A.A.Bogomoletz Institute of Physiology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Булыгин И.А. Периферические рефлексы желудочно-кишечного тракта // Физиол. журн. СССР. — 1978. — 54, № 9. — С. 1245—1258.
2. Вещество Р: Некоторые проблемы химии, биохимии, фармакологии, физиологии и патофизиологии. — Рига: Зинатне, 1984. — 000 с.
3. Ноздрачев А.Д., Безенкина Г.И., Ефимова Н.И. Проводящие пути каудального брыжеечного ганглия кошки // Физиол. журн. СССР. — 1970. — 46, № 4. — С. 543—550.
4. Федорова Л.Д. Проводящие пути каудального брыжеечного ганглия морской свинки // Там же. — 56, № 7. — С. 976—984.
5. Amman R., Dray A., Hankins M.W. Stimulation of afferent fibres of guinea-pig ureter evokes potentials in inferior mesenteric ganglion neurons // J.Physiol. — 1988. — 402, № 8. — P. 543—553.
6. Crowcroft P.J., Szurszewski J.H. A study of inferior mesenteric and pelvic ganglia of the guinea-pig with intracellular electrodes // Ibid. — 1971. — 219, № 2. — P. 421—441.
7. Dalsgaard C.-J., Hokfelt T., Schulzberg M., et al. Origin of peptidecontaining fibers in the inferior mesenteric ganglion of the guinea-pig: immunohistochemical studies with antisera to substance P, enkefalin, vasoactive intestinal polypeptide, cholecystokinin and bombesin // Neuroscience. — 9, № 1. — P. 191—211.