

О. М. АВАКЯН

К МЕТОДУ ИЗУЧЕНИЯ ФУНКЦИИ ИЗОЛИРОВАННОЙ АРТЕРИИ УХА КРОЛИКА

В 1965 г. Ландэ и Ранд [8] показали, что изолированная артерия уха кролика является хорошим тест-объектом для изучения адренергических механизмов. В последующем в лабораториях Ландэ [9—11, 14] и Гиллеспи [1, 5, 12] этот тест-объект использовался для количественного определения катехоламинов, а также исследования их выделения и захвата нервными и мышечными элементами сосудов.

Задачей настоящего исследования было выяснение значимости методических особенностей, принятых в вышеуказанных лабораториях, и, с учетом их, разработка доступного метода, отвечающего схеме «постганглионарный симпатический нерв—гладкая мышца сосудов».

Описание метода. Перфузия осуществлялась насосом постоянного объема системы Watson-Marlow*. Головка насоса состоит из вращающихся роликов, которые путем давления на гибкую трубку обеспечивают одностороннее движение жидкости. Объем нагнетаемой жидкости регулировался изменением скорости вращения головки. В наших опытах сосуды перфузировались раствором Кребса в объеме 3,5—5 мл/мин, что обеспечило перфузионное давление, равное 30—40 мм Hg.

Следует отметить, что для перфузии изолированных сосудов использование насоса системы Хаятина [2, 3] нецелесообразно, так как пузырьки кислорода (воздуха), пропускаемые через перфузируемую жидкость, накапливаются в резиновом колпачке рабочей головки насоса и приводят к постепенному уменьшению объема нагнетаемой жидкости.

На рис. 1 приведено схематическое изображение установки для перфузии изолированных артерий, собранной в нашей лаборатории. Из рисунка следует, что изменение просвета перфузируемой артерии приводит к изменению давления, что регистрируется манометром Кондона [7] на закопченной ленте кимографа. В отличие от установок, принятых в лабораториях Гиллеспи и Ландэ, наша имеет две особенности. Температура раствора Кребса, поступающего в стакан для перфузируемой жидкости и в стакан для изолированного органа, с помощью змеевика поддерживалась на 37°C (это было предпринято потому, что небольшие изменения температуры перфузируемой жидкости в этих объемах приводили к изменению тонуса сосуда и его реакции на нервное раздраже-

* Насос был сконструирован в ИТОХ совместно с К. С. Лусаряном.

ние). Расположение подогревающего змеевика после перфузионного насоса, принятое в лаборатории Ландэ, нецелесообразно, так как увеличивает объем «мертвого пространства», вследствие чего свежая перфузируемая жидкость доходит до артерии с опозданием. Кроме того, аэрировался не только перфузируемый раствор Кребса, но и раствор в ста-

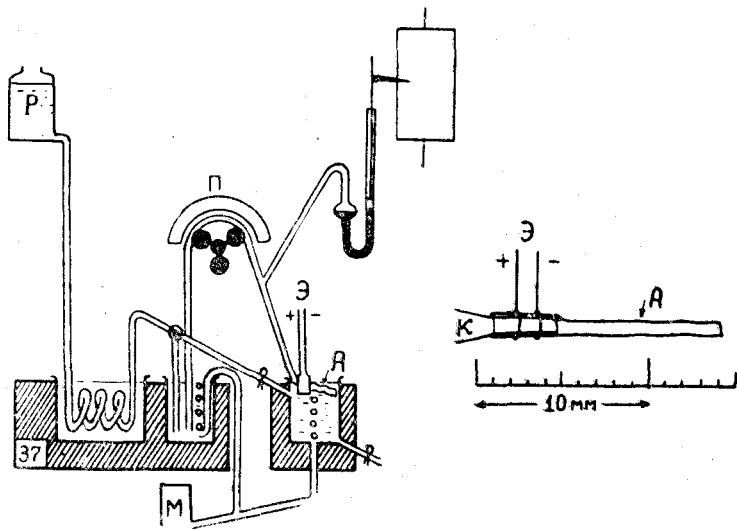


Рис. 1. Схема установки для перфузии изолированной артерии. А—отрезок артерии, Р—раствор Кребса, М—микрокомпрессор, Э—кольцевой электрод, П—перфузионный насос, К—полиэтиленовая канюля.

чане, в который погружен орган. По нашим наблюдениям, это способствует более стабильным реакциям на нервное раздражение.

На описанной выше установке нами проводились опыты на 58 отрезках центральной артерии уха кролика (вес 1,5—2,5 кг) обоих полов. Наше внимание в основном было обращено на создание таких условий, при которых отрезок артерии имел бы стабильный исходный тонус и реагировал значительной, легко воспроизводимой и постоянной пресорной реакцией на введение норадреналина и на раздражение периартериальных симпатических нервов в течение всего эксперимента. Такое состояние оценивалось как нормальное функционирование сосуда.

Изучалось влияние различных факторов на нормальное функционирование сосуда.

Наркоз животного. В лаборатории Гиллесли животное наркотизируется внутривенным введением нембутала (60 мг/кг), а в лаборатории Ландэ—внутрибрюшинным введением уретана (1,75 г/кг). Нами поставлены опыты на отрезках артерий кроликов, наркотизированных обоими способами, а также на артериях кроликов, забитых воздушной эмболией (в/в 30—40 см³ воздуха) или кровопусканием. Во всех этих опытах наблюдалось нормальное функционирование сосудов. Поэтому в после-

дующем, с целью упрощения метода, кролики забивались воздушной эмболией.

Применение гепарина. В лаборатории Ландэ за 1—2 мин до канюлирования центральной артерии внутривенно вводился гепарин в дозе 1,000 ед. [8]. От этого мы отказались, так как кровь или тоненькая нить сгустка крови, которая может образоваться в просвете сосуда, легко выталкивается током жидкости в течение первых же секунд перфузии.

Сроки использования отрезков артерии. Артерию можно отсепаровать непосредственно после удаления уха или через 24—30 час. после помещения уха в холодильник (+4°C). По функциональным характеристикам эти артерии не отличаются друг от друга. Более длительный срок хранения (3—4 дня) резко отражается на функции сосудов.

Обогащение перфузируемой жидкости кислородом. Перфузия артерии раствором Кребса, не обогащенным кислородом, и раствором, обогащенным чистым кислородом, приводит к резкому снижению реакции сосудов на электрическое раздражение и на катехоламины. Обогащение путем пропускания через раствор смеси кислорода (95%) с 5% углекислым газом (с помощью кислородного ингалятора ИП-1) или воздуха (микрокомпрессором МК-1) привело к одинаковому результату: за первые 30—60 мин перфузии наблюдалось постепенное повышение реакции сосуда на норадреналин и на электрическое раздражение, потом наступала фаза стабилизированных ответных реакций (2—3 часа), а в последующем — постепенное их уменьшение. Учитывая это, в последующих опытах через раствор пропускались пузырьки воздуха.

Состав перфузируемой жидкости. В лаборатории Гиллеспи применяется раствор Кребса следующего состава: NaCl—118 мМ, KCl—5,9 мМ, CaCl₂—2,5 мМ, MgSO₄—1,8 мМ, KH₂PO₄—1,2 мМ и глюкоза—0,2% в 1 л. В лаборатории Ландэ пользуются бикарбонатным раствором Кребса, который содержит в 1 л NaCl—118 мМ, KCl—5,5 мМ, CaCl₂—2,5 мМ, MgSO₄—0,55 мМ, NaHCO₃—15 мМ, KH₂PO₄—0,9 мМ и глюкозы—5,5 мМ [13]. В наших опытах оба раствора одинаково хорошо обеспечивали нормальное функционирование сосуда и в этом плане заметно не отличались друг от друга.

Электрическое раздражение периаартериальных нервов осуществлялось стимулятором Disa Electronic и платиновыми кольцевыми (диаметр—1,6 мм) электродами Берна-Ранда [6]. Для выяснения оптимальных характеристик импульсного тока проводилась серия опытов с изменением каждого параметра от подпороговых до супрамаксимальных значений. Результаты математической обработки опытов, осуществленных на 5—6 отрезках артерий, приведены на рис. 2. Как видно из рис. 2А, импульсный ток напряжением 1в приводит к заметному прессорному эффекту. Последний становится выраженным при амплитуде прямоугольных импульсов, равной 3 в. Дальнейшее повышение напряжения импульсов до 10 в и более не приводит к статистически достоверному усилению прессорного эффекта. На этом основании при проверке влияния других характеристик мы выбирали оптимальное напряжение

прямоугольных импульсов, равное 3—5 в. Увеличение длительности их от 0,1 мс до 1 мс (рис. 2Б) приводит к нарастанию прессорного эффекта до максимальных величин. Исходя из этих наблюдений, в последующем нами использовались прямоугольные импульсы длительностью 1—3 мс.

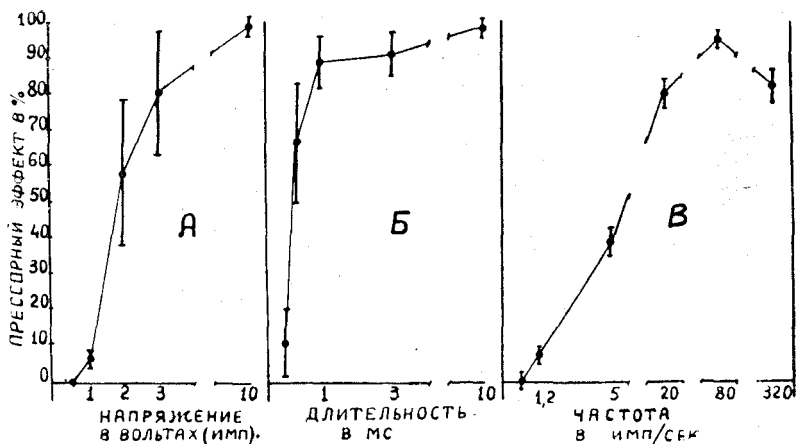


Рис. 2. Зависимость прессорного эффекта от напряжения, длительности и частоты прямоугольных импульсов. По оси абсцисс—прессорный эффект в % к максимальной реакции. По оси ординат: А—изменение напряжения от 0,5 до 10 в (20 имп/сек, 3 мс), Б—изменение длительности импульсов от 0,1 до 10 мс (5 в, 20 имп/сек), В—изменение частоты импульсов от 0,3 до 320 имп/сек (5 в, 3 мс).

Как видно из рис. 2В, кривая зависимости реакции от частоты не крутая и достигает максимума при 80 имп/сек. Оптимальной оказалась частота 20 имп/сек, которая использовалась в последующих опытах. Таким образом, оптимальная реакция на периаартериальное раздражение наступает при следующих характеристиках импульсного тока: частота—5—20 имп/сек, длительность импульсов—1—3 мс, напряжение—3—5 в. Длительность раздражения в наших опытах колебалась в пределах 10—30 сек. Раздражения наносились один раз через каждые 5—10 мин. В пользу того, что сокращение сосуда при периаартериальном раздражении действительно осуществляется через симпатические нервы, свидетельствуют опыты с исмелином, при добавлении которого в перфузируемую жидкость (в концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ — $1 \cdot 10^{-5}$ г/мл) полностью снимается реакция сосуда на нервное раздражение, в то время как на норадреналин после кратковременного усиления она восстанавливается до исходного уровня, не изменяясь до конца эксперимента (рис. 3). Естественно, что симпатолитическое действие исмелина при концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ развивается быстрее, чем при концентрации $1 \cdot 10^{-6}$. Развившись, оно оказывается настолько стойким, что после отмывания сосуда свежим раствором Кребса еще длительное время не проходит.

Реакция изолированной артерии на норадреналин очень выраженная, что и послужило основанием для ее предложения в качестве чувствительного тест-объекта для количественного определения катехола-

Շորչղարկերակային սիմպատիկ ներվաթելերի էլեկտրական գրգռումը հնարավորություն էնձեռեց բացահայտել անոթի կծկման ռեակցիայի և իմպուլսային հոսանքի հաճախականության, տեղություն և լարման միջև եղած օրինաչափությունները: Անոթի օպտիմալ կծկում ստացվում է հետևյալ բնույթն ունեցող իմպուլսային հոսանք օգտագործելիս. հաճախականությունը՝ 5—20 իմպուլս մեկ վայրկյանում, տեղությունը՝ 1—3 միլլիվայրկյան և լարումը՝ 3—5 վոլտ: Նորադրենալինի ներարկումը (5—50 միլլիմիկրոգրամ) առաջացնում է անոթի ուժեղ կծկում: Մեր փորձերում սիմպատիկ հատկությամբ օժտված իսմելին դեղանյութը ($1 \cdot 10^{-6}$ — $1 \cdot 10^{-7}$ գ/մլ) լրիվ արգելակեց անոթի պատասխան կծկումը էլեկտրական գրգռման հանդեպ, առանց փորբացնելու նորադրենալինի ազդեցությունը:

Այսպիսով, ճագարի ականջային զարկերակը համապատասխանում է «ետհանգուցային սիմպատիկ ներվաթել-անոթի հարթ մկան» սխեմային և շատ հարմար ու հասարակ օբյեկտ է ադրեներգիկ մեխանիզմներն ուսումնասիրելու համար:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Авакян О. М. Биол. журн. Армении, **22**, 2, 1969.
2. Хаятин В. М. Физиологический журнал СССР, **44**, 7, 1958.
3. Хаятин В. М., Данчаков В. М., Цатуров В. Л. Бюлл. эксп. биол. мед., **45**, 2, 1958.
4. Avakian O. M., Gillespie J. S. J. Physiol. **191**, 1, 1967.
5. Avakian O. M., Gillespie J. S. Br. J. Pharmac. Chemother. **32**, 1, 1968.
6. Burn J. H., Rand M. J. J. Physiol. **150**, 1, 1960.
7. Condon N. E. Br. J. Pharmac. Chemother. **6**, 1, 1951.
8. De la Lande J. S., Rand M. J. Aust. J. Exptl. Biol. Med. Sci. **43**, 4, 1965.
9. De la Lande J. S., Harvey J. A. J. Pharm. Pharmacol. **17**, 9, 1965.
10. De la Lande J. S., Cannell V. A., Waterson J. G. Br. J. Pharmac. Chemother. **28**, 3, 1966.
11. De la Lande J. S., Waterson J. G. Nature, **214**, 5085, 1967.
12. Gillespie J. S. J. Physiol. **187**, 2, 1966.
13. Hrdina P., Garattini S. J. Pharm. Pharmacol. **19**, 10, 1967.
14. Waterson J. G., Smaile D. E. Aust. J. Exptl. Biol. Med. Sci. **45**, 2, 1967.