

16. Klein L. E., Hsiao P. et al. *Endocrinology*, 115, 3, 1018, 1984.
17. Limber G. K., Roy Dawts. *Seymour Bakerman Blood*, 36, 111, 1970.
18. Marinetti G. V., Stolz E. *Biochem et Biophys Acta*, 21, 168, 1957.
19. Ohnishi T., Kowamura H. *J. Biochem.*, 56, 377, 1964.
20. Schnolman C., Erwin V. G., Greenwalt J. W. *J. Ceel. Biol.*, 32, 719, 1967.
21. Swann Alan. *J. Pharmacol. and Exp. Ther.*, 228, 2, 324, 1981.
22. Ventura C., Guernieri C. *Calalarera Ital. J. Biochem.*, 31, 4, 267, 1985.
23. Verna R. et al. *Prostaglandins*, 27, 72, 1984.

Поступило 9.III 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 7, 1988 г.

УДК 612.73.612.468

ИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ МЕДЛЕННЫХ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ КОЛЕБАНИЙ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА МОЧЕТОЧНИКА

К. В. КАЗАРЯН, В. Ц. ВАНЦЯН

Институт физиологии им. Л. А. Орбели АН АрмССР, Ереван

Показано подавление медленноволновой спонтанной активности гладкомышечных клеток мочеточника в безнатриевой среде, а также в присутствии ингибиторов Na-K-насоса и блокаторов Ca-каналов в каналах проводимости.

Ցույց է տրվում միգաներանի հարթ մկանային բջջիկների զանգաղ ալիքների սպոնտան աերիֆուլյան իոնազուցում կատրիանի բաղադրարկյան, թելանե նաև Na-K սոսանի ինհիբիտորների և Ca-ի իոնների բլոկատորների ներդրարկյան պարտակներում անցողական կանալներում:

In Na-free solution and also at presence of Na-K pump inhibitors and Ca ion blockers in conduction canals the suppression of slow wave spontaneous activity of smooth muscular cells was shown.

Мочеточник—гладкомышечные клетки—пейсмейкерная зона—насос—каналы проводимости.

Известно, что спонтанная электрическая активность гладкомышечных клеток пейсмейкерной области мочеточника представляет собой строго ритмичные колебания разности электрохимических потенциалов на мембране в виде медленных волн. Последние являются локальным процессом, предшествуют спайковым, распространяющимся разрядам и имеют эндогенную природу [7]. Фаза деполяризации медленной волны, как правило, имеет двухкомпонентную структуру [10, 13, 14]. В работах, посвященных ионной природе возникновения волны, определяющая роль отводится таким мембранным транспортным системам, как насосные механизмы и каналы проводимости [9, 12, 15].

Целью настоящей работы явилось исследование роли некоторых катионов в возникновении как медленной волны в целом, так и при формировании отдельных ее фаз.

Материал и методика. Работу выполняли на кошках массой 3—4 кг в условиях острых опытов. Мочеточник денервировали путем перерезки корешков чревного и тазового нервов. Внутривенную перфузию почек осуществляли при помощи

стеклянных канюль, вводимых в почечную артерию (art. renalis) и почечную вену (ven. renalis) соответственно для подачи и оттока изучаемых нами растворов, скорость которых была постоянной и равнялась 20—25 мл/мин. Температура растворов была равна 36—37°.

Для регистрации биоэлектрической активности пейсмекерной области мочеточника монополярный серебряный электрод с шариковой головкой (диаметр кончика 0,5 мм) погружали в участок пилеоретерального соустья. Индифферентный электрод помещали в толще паренхимы почки ближе к активному электроду.

Растворы для перфузии готовили на основе нормального раствора Кребса следующего состава: NaCl—120,4; KCl—5,9; NaHCO₃—15,5; CaCl₂—2,5; MgCl₂—1,2; NaH₂PO₄—1,2; глюкоза—11,5 ммоль/л дистиллированной воды.

В безнатриевои растворе и в растворах с уменьшенным количеством ионов натрия, NaCl, NaHCO₃ и NaH₂PO₄ заменяли осмотически эквивалентным количеством сахарозы KHC₂O₄ и KH₂PO₄ соответственно.

В безкальциевом растворе KCl заменяли соответствующим количеством NaCl, а в бескальциевом CaCl₂ заменяли сахарозой.

Растворы с увеличенной концентрацией ионов Ca готовили на основе измененного раствора Кребса следующего состава: NaCl—12,4; KCl—5,9; CaCl₂—2,5; MgCl₂—1,2; глюкоза—11,5 ммоль/л дистиллированной воды. pH растворов доводили до 7,4 титрованием KOH с сохранением общей концентрации K⁺ в среде. Препараты верапамил, оубаин и марганец добавляли в нормальный раствор Кребса в соответствующих концентрациях.

Результаты и обсуждение. Медленные потенциалы из пейсмекерной зоны мочеточника имели частоту 18—20 колебаний в мин и амплитуду

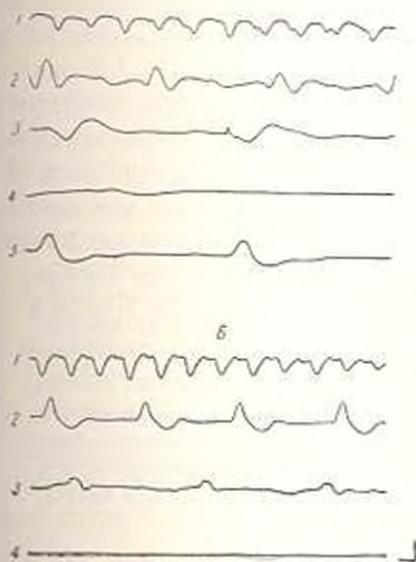


Рис. 1.

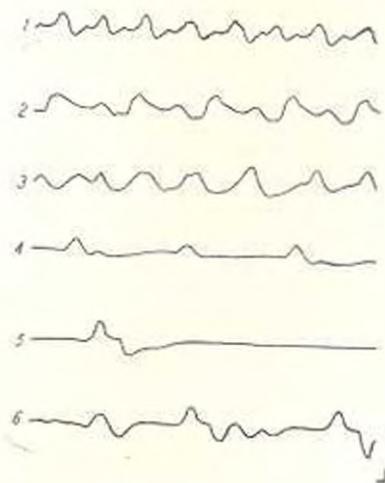


Рис. 2.

Рис. 1. Влияние бескальциевой среды (А) и оубаина (Б) на медленнополновую активность мочеточника. А 1.—активность, зарегистрированная до перфузии. 2.—раствор Кребса; 3.—бескальциевый раствор (через 35—40 мин); 4.—бескальциевый раствор через 40—50 мин; 5.—раствор Кребса. Б 1.—активность, зарегистрированная до перфузии; 2.—раствор Кребса; 3.—раствор Кребса с оубаином (через 15 мин); 4.—раствор Кребса с оубаином (позже, чем через 15 мин); калибровка—1,5 мВ; 1 сек.

Рис. 2. Влияние безнатриевой среды на медленнополновую активность мочеточника. 1.—активность, зарегистрированная до перфузии; 2.—раствор Кребса; 3, 4, 5.—безнатриевая среда: начальный эффект, через 10—15 мин, через 20—25 мин; 6.—раствор Кребса; калибровка 1 мВ; 1 сек.

туду 1—3 мв (рис. 1—3, 1). Перфузирующий нормальный раствор Кребса изменял характеристики параметров, чаще всего увеличивая амплитуду и уменьшая частоту колебаний (рис. 1—3, 2).

Возможную роль электрогенного $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -насоса [3, 8] в возникновении медленноволновой активности гладких мышц мочеочника определяли путем применения блокаторов насоса бескальневой среды, оубаина. В бескальневом растворе через 40—50 мин начиналось постепенное подавление активности (рис. 1 А—3, 4). При переключении на раствор Кребса активность восстанавливалась, как правило, в течение 20—30 мин (рис. 1 А, 5).

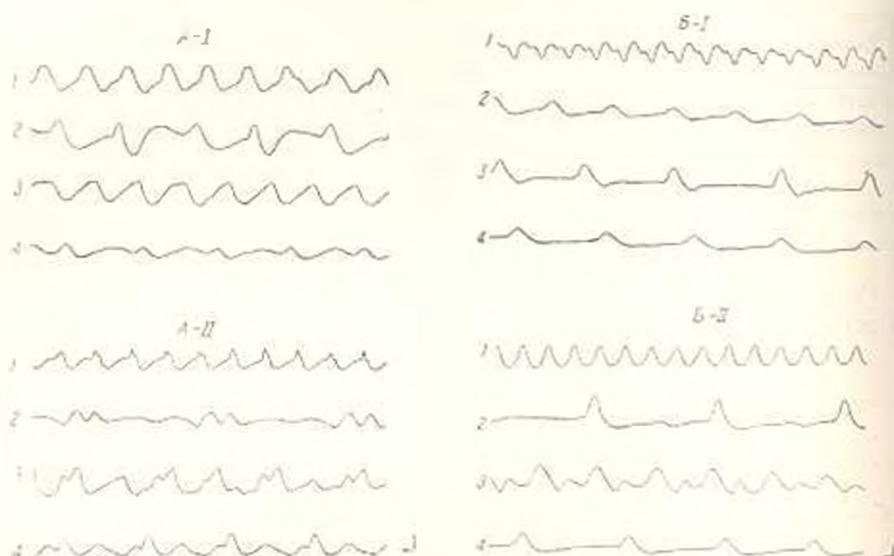


Рис. 3. Влияние ионов натрия (А) и кальция (Б) на медленнополноволновую активность мочеочника. А. I. 1.—активность, зарегистрированная до перфузии; 2.—раствор Кребса; 3.—активность при уменьшении концентрации ионов натрия до 30 мМ; 4.—раствор Кребса. А II. 1.—активность, зарегистрированная до перфузии; 2.—раствор Кребса; 3.—активность при увеличении концентрации ионов натрия до 60 мМ; 4.—раствор Кребса; калибровка—1 мв, 1 сек. Б. I. 1.—активность, зарегистрированная до перфузии; 2.—раствор Кребса; 3.—активность при увеличении концентрации ионов кальция до 5 мМ; 4.—раствор Кребса. Б. II. 1.—активность, зарегистрированная до перфузии; 2.—раствор Кребса; 3.—активность, при уменьшении концентрации ионов кальция до 1,5 мМ; 4.—раствор Кребса; калибровка—1 мв, 1 сек.

Аналогичная картина наблюдалась также при добавлении оубаина (10^{-5} моль/л) в раствор Кребса (рис. 1 Б). На 15—20 мин действия ингибитора активность блокировалась (рис. 1 Б-3). Удаление оубаина не во всех случаях приводило к восстановлению активности.

Для гладкомышечных клеток двенадцатиперстной кишки Коппор и соавт. [9] флюктуации потенциала связывают с периодически включающимся и выключающимся Na-K -насосом. В то же время, согласно другим авторам [15], возникновение колебательных процессов на мембранах кишечных клеток обеспечивается не только Na-K -насосом. Подтверждая данные указанных авторов, приведенные результаты по-

казывают необходимость присутствия в мембранах клеток мочеточника Na-K-насоса для генеза медленных волн.

Относительно малая величина мембранного потенциала гладкой мускулатуры сравнительно с поперечнополосатыми и нервными волокнами обеспечивается высокой проницаемостью к ионам Na [6, 15]. Поэтому нельзя исключить влияния этих ионов и на колебания потенциала мочеточника. Определение роли этих ионов в формировании медленных волн изучалось путем их удаления из наружной среды либо при изменении их концентрации в перфузирующем растворе Krebsa.

В безнатриевой среде наблюдалось кратковременное повышение активности, однако через 3—4 мин она снижалась и начиная с 10—12 мин подавлялась, отмечались лишь низкоамплитудные неритмичные флюктуации потенциала (не приведено). При увеличении же концентрации ионов Ca в безнатриевой среде до 4 мМоль/л (рис. 2) медленноволновая активность наблюдается еще 15—20 мин. При этом деполаризационная фаза колебаний представляет собой как бы только второй компонент волны (рис. 2—3, 4). Исчезнувшую активность легко восстановить добавлением хотя бы 20 мМоль/л ионов Na в перфузирующий раствор (рис. 2, 6).

Исчезновение первой фазы можно наблюдать уже при уменьшении концентрации ионов Na в перфузирующем растворе до 30 мМоль/л (рис. 3А—1). При этом первая фаза настолько укорачивается, что как бы сливается со второй, образуя волну синусоидальной конфигурации (рис. 3А—1, II, 3). При 60 мМоль/л ионов Na в наружном растворе наряду со второй фазой регистрируется и первая, однако она несколько укорочена (рис. 3А—II, 3).

Таким образом, наряду с Na-K-насосом каналы проводимости для ионов натрия являются необходимым звеном для создания медленноволновой активности. При этом они обеспечивают также существование первого компонента деполаризационной фазы волны.

В ионной природе электрической активности гладкомышечных клеток немаловажная роль отводится кальциевым каналам проводимости [2, 7]. Изучение роли ионов Ca при возникновении двухфазных колебаний потенциала нами проводилось при удалении этих ионов из наружного раствора применением антагонистов ионов Ca в каналах проводимости (верапамил— $4,4 \cdot 10^{-6}$ Моль/л и марганца—1 мМоль/л), а также путем концентрационных изменений в перфузирующем растворе Krebsa.

В каждом из первых трех случаев наблюдалось полное подавление активности (не приведено), и колебания восстанавливались в нормальном растворе Krebsa.

Увеличение концентрации ионов Ca в перфузирующем растворе до 5 мМоль/л приводит к урежению частоты и увеличению амплитуды второй фазы волны (рис. 3Б—1, 3). При этом, как видно из рисунка, увеличение продолжительности колебания связано с удлинением первого компонента волны. И, наоборот, при уменьшении концентрации кальция (до 1,5 мМоль/л) отмечается учащение активности за счет уменьшения длительности первой фазы и уменьшения амплитуды второго компонента волны (рис. 3, Б—II, 3).

Эти результаты подтверждают ведущую роль кальциевых каналов проводимости в возникновении колебаний мембранного потенциала. При этом, если ионы натрия обеспечивают первую фазу волны, то ионы кальция, формируя вторую фазу, в то же время определенным образом влияют на первую, регулируя ее продолжительность.

Трансмембранный вход ионов Са в клетку как при генерации потенциалов действия, так и медленной волны будет увеличивать содержание ионизированного кальция. Поэтому помимо каналов проводимости для выведения ионов кальция должны быть специализированные системы. Постулируется два таких механизма: кальциевый насос [11] и $\text{Na}^+\text{Ca}^{2+}$ -антипорт [5]. Поскольку, как показали приведенные результаты, небольшие концентрации ионов натрия (20 мМоль/л) достаточны для восстановления устойчивого ритма, можно допустить, что неравномерное распределение ионов Са между клеткой и средой будет регулировать вход ионов натрия в клетку. К такой системе можно отнести $\text{Na}^+\text{Ca}^{2+}$ -антипортный механизм. Тогда последний, обеспечивающий циркуляцию ионов между клеткой и средой, может быть определенным образом связан с Na-K-насосом и каналами проводимости для ионов натрия и кальция, поэтому в свою очередь будет играть опосредованную роль при возникновении медленных волн. Однако все эти предположения требуют экспериментального подтверждения. Приведенные же результаты позволяют заключить, что рассмотренные выше три транспортные системы—Na-K-насос, Na- и Са-каналы проводимости—являются отдельными звеньями единой мембранной системы, обеспечивающей флуктуации потенциала мочеочечника. Ингибирование каждого звена в отдельности приводит к исчезновению всей волны. Формирование первой фазы волны обеспечивается ионами Na и Са, в то время как вторую фазу определяют ионы кальция.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакунц С. А. Вопросы физиологии мочеочечников. Л., 1970.
2. Бурый В. А., Шуба М. Ф. Физiol. ж. СССР, 60, 8, 1288—1297, 1974.
3. Казарян К. В., Тираян А. С. ДАН АрмССР, 79, 3, 223—226, 1984.
4. Казарян К. В., Тираян А. С., Вацян В. Ш., Мартirosов С. М. Физiol. ж. СССР, 73, 6, 738—744.
5. Aickin C. C., Bradine A. F. and Burdyga Th. V. J. Physiol. (London), 347, 411—430, 1984.
6. Bälbring E. Physiol. Rev., 42, 5, 5, 160—178, 1962.
7. Bälbring E., Tomita T. In: Calcium and cellular function. Ed. Cuthbert A. W. (London). Macmillan, 249—260, 1970.
8. Costeels R., Drongmans C. and Hendricks H. J. Physiol., 217, 2, 297—314, 1971.
9. Connor J. A., Prosser C. L. and Williams W. J. J. Physiol. (London), 240, 3, 671—701, 1974.
10. Et-Sharkawy T. Y., Dantel E. E. Amer. J. Physiol., 229, 3, 1287—1298, 1975.
11. Grover A. K., Kwan C. J., Oakes P. J. Amer. J. Physiol., 248, 5, 149—156, 1985.
12. Job D. D. Amer. J. Physiol., 217, 5, 1534—1511, 1969.
13. Ohba, Sakamoto A., Tomita T. J. Physiol. (London), 267, 1, 167—183, 1977.
14. Sacamoto J., Tomita T. J. Physiol. (London), 326, 329—339, 1982.
15. Tomita T., Watanabe H. Phil. Trans. R. Soc. (London), 265, 73—85, 1973.

Поступило 10.III 1988 г.