

**ОСОБЕНОСТИ НА КОНТРАКТИЛНИТЕ ОТГОВОРИ КЪМ
ЕЛЕКТРОСТИМУЛАЦИЯ ПРИ ГЛАДКИ МУСКУЛИ ИЗОЛИРАНИ ОТ ПЛЪХОВЕ С
ПОВИШЕНО ВЪТРЕКОРЕМНО НАЛЯГАНЕ**

В. Турийски, Р. Ардашева, П. Василев, А. Кръстев
Медицински Университет-Пловдив, Фармацевтичен факултет
Бул. „В. Априлов” 15а, 4000 Пловдив, България, valone@abv.bg

**ELECTRO STIMULATION OF ISOLATED SMOOTH MUSCLES - PECULIARITIES IN
ABDOMINAL HYPERTENSION RATS**

V. Turiiski, R. Ardasheva, P. Vassilev, A. Krastev
Department of Biophysics, Medical University of Plovdiv, Bulgaria

ABSTRACT

The present study considers changes in reactivity of gastro-intestinal smooth muscles, isolated from abdominal hypertension rats, compared to normal ones. As a reactivity-test an electro-stimulation (2Hz, and 15 Hz, 1000 μ s; 1s; 50 V) was applied. Contractile responses obtained in control preparations consist of two phases – initial contraction and second – relaxation. The first has myogenic origin but second is likely to be with predominant neuronal character. The tissues isolated from rats with abdominal hypertension have shown specific reactivity to electrostimulation probably sequence of hypoxia-produced membrane functional disturbances .

Key words: abdominal hypertension, rat, electrostimulation

Материали и методи

Гладкомускулни (ГМ) препарати от стомах и илеум бяха изолирани от плъхове Wistar: контролна група (15 бр.) и моделна група – плъхове с изкуствено повишено вътрекоремно налягане (ИПВКН)(10бр.). Преди експериментите плъховете бяха отглеждани при еднакви условия съгласно изискванията на Наредба №20 за работа с експериментални животни.

Вътрекоремното налягане бе повишавано по следната схема:анестезиране на животното с ксилазин и кетамин, извършване на пневмоперитонеум с абокат и фиксиране на абоката към кожата,куплиране на система на повишено налягане с абоката и плавно (10 min) повишаване на ВКН до 25mm/Hg, контролирано чрез сфигмоманометър.

Директна електростимулация на изолирани ГМ бе осъществена чрез фиксирането им върху държач с четири сребърни електрода в тъканна вана с temperиран и аериран разтвор на Кребс (37⁰C, 95%O₂ + %CO₂). Съкратителната реактивност бе регистрирана чрез тензодатчици Swema (Stockholm, Sweden)и записвана върху хартия чрез рекордер Linsseis след усилване на сигнала.

Изследването на реактивността на ГМ тъкани се осъществяваше при различни съчетания от честота (2,4,10, 15 и 20 Hz) и продължителност на дразнеш импулс (50 и1000 μ s), групирани в пакети от 1 s. Амлитудата на всеки отделен импулс е 50 V.

В хода на експериментите, с цел изясняване на отделни механизми стоящи с основата на ГМ реакции, в тъканната вана бяха добавяни съответните антагонистии блокатори: Tetrodotoxin (TTX),Ipratropium, Hexamethonium, Propranolol иPhentolamine.

*забележка: напрежението от 50 V е на изхода на стимулатора при ненатоварена верига. В тъканна вана с разтвор на Krebs ефективното напрежение на дразнене е 30 V.

Статистическа обработка

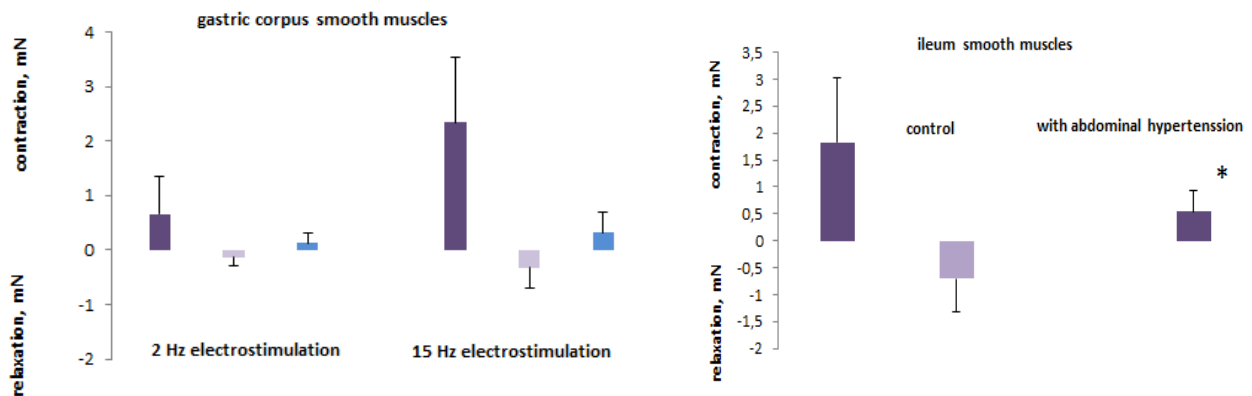
Експерименталните данни бяха обработени с програмен продукт STATISTIKA, резултатите са представени като средна стойност плюс средноквадратична грешка, като критерий за достоверност по Стюдънт е прието $p < 0,05$.

Резултати

1. Механични отговори на изолирани ГМ от стомах и илеум на плъх към директна електростимулация

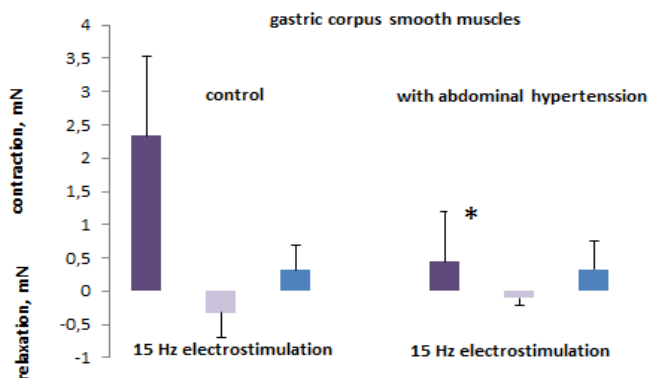
1.1. Прилагането на директна електростимулация върху препарати от контролни животни предизвиква многофазна контрактилно-релаксационна реакция, амплитудите на отделните компоненти нарастват пропорционално с честотата и продължителността на отделния импулс. На фиг. 1 а и б и в са показани реакции на дразнение с 2и 15 Hz при препарати от gastric corpus и ileum: при препаратите от стомах тя се изразяваше в инициален контрактилен пик ($0,66 \pm 0,70 \text{ mN}$) и ($2,34 \pm 1,37 \text{ mN}$) съответно, последван от продължителна релаксация ($0,13 \pm 0,17 \text{ mN}$) и ($0,32 \pm 0,38 \text{ mN}$) съответно, и понякога втора продължителна контракция ($0,28 \pm 0,24 \text{ mN}$) и ($0,32 \pm 0,31 \text{ mN}$). При чревните се наблюдаваше механичен отговор само при дразнение с 15 Hz-ови импулси, изразяващ се в инициален контрактилен пик ($1,82 \pm 1,19 \text{ mN}$), последван от релаксация ($0,71 \pm 0,85 \text{ mN}$).

1.2.



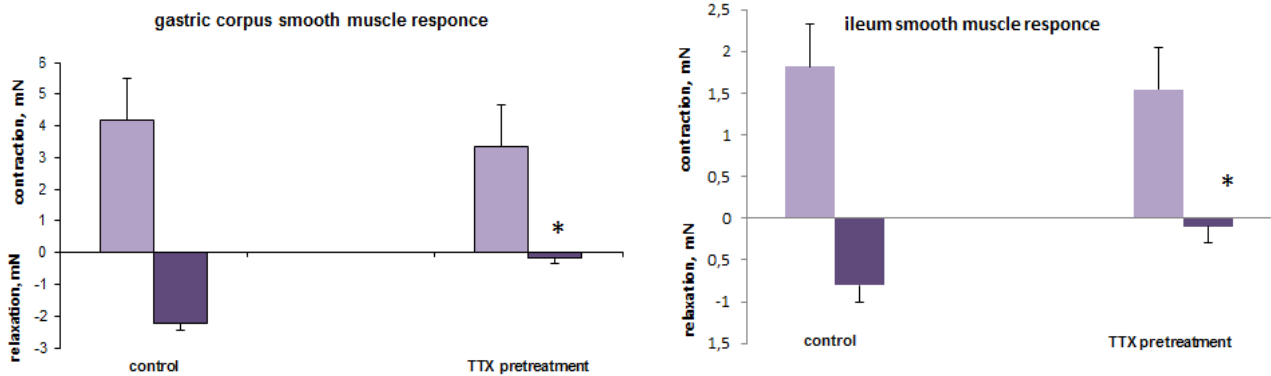
Фиг. 1а,б. Реакции на електростимулация, при контролни препарати от стомах и контролни + ПВКН-плъхове за препарати от илеум (* $p = 0.03$)

1.3. Върху изолираните от плъхове с ИПВКН препарати бяха осъществени идентични дразнения. Механични отговори се наблюдава само при дразнение с 15 Hz-ови импулси. Големината на първата фаза достоверно бе намалена до $0,44 \pm 0,76 \text{ mN}$, наблюдава се тенденция към намаление на реакцията при втората фаза ($-0,10 \pm 0,12 \text{ mN}$) и неотличаваща се трета фаза ($0,33 \pm 0,42 \text{ mN}$) при препаратите от стомах и еднофазна контрактилна от $0,54 \pm 0,65 \text{ mN}$ при тези от илеум (фиг 2 и 1б)



Фиг.2 Реакции на електростимулация, при контролни и ПВКН-плъхове за препарати от стомах (* $p = 0.03$)

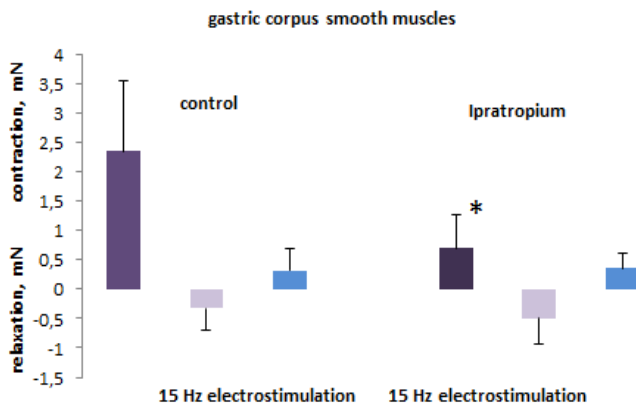
Отдиференцирането на миогенните от неврогенни компоненти в съкратителните отговори на изолираните гладки мускули бе осъществено емпирично, чрез прилагане на тетродотоксин (ТТХ). Бяха използвани електрически импулси със следните характеристики: 15 Hz, 1000 μ s, с продължителност 1 s и големина на импулса 50 V. При контролна реакция от $4,18 \pm 1,2$ mN (контракtilна фаза) / $2,24 \pm 0,77$ mN (релаксационна фаза), след прилагане на ТТХ ($5 \cdot 10^{-8}$ mol/l) първата фаза в реакцията не бе повлияна ($3,35 \pm 1,3$ mN), докато втората бе достоверно редуцирана към $0,16 \pm 0,2$ mN (фиг.3а). Аналогична бе модификацията на отговорите при чревните препарати (фиг.3б).



Фиг.3а,б. Реакции на електростимулация (15 Hz, 1000 μ s, 50 V), в норма и след третиране с $5 \cdot 10^{-8}$ mol/l ТТХ. На фона на блокатора се наблюдава достоверно (* $p = 0.03$) редуциране на релаксационната компонента

2. Реакции на електростимулация на фон на Ipratropium.

Предварителното третиране с мускаринов антагонист Ipratropium ($1 \cdot 10^{-5}$ mol/l) доведе достоверно инхибиране на първата фаза на ГМ (препарати от стомах-контролни животни), отговор към дразнение с 15 Hz до $0,7 \pm 0,57$ mN, докато останалите фази не бяха модулирани. При същия тип препарати изготвени от плъхове с ПВКН Ipratropium не променя достоверно механичните отговори (фиг.4). Изолираните препарати от илеум и от двете групи животни не променяха механичните си отговори към електростимулация на фон на $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l Ipratropium.



Фиг.4. Реакции на електростимулация в норма и след третиране с $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l Ipratropium. На фона на блокатора се наблюдава достоверно (* $p = 0.03$) редуциране на контракtilната компонента

3. Реакции на електростимулация на фон на Hexamethonium.

Премедикирането с N- холиноантагониста Hexamethonium ($1 \cdot 10^{-5}$ mol/l) не влияеше върху големината на механичните отговори при двата типа ГМ препарати и за двете групи плъхове.

4. Реакции на електростимулация на фон на Propranolol и Phentolamine.

Едновременното приложение на адreno-антагонистите Propranolol (1.10^{-5} mol/l) и Phentolamine (1.10^{-5} mol/l) не предизвика промени в големината на механичните отговори при ГМ препарати от стомах и илеум и за двете групи плъхове.

ОБСЪЖДАНЕ

Контрактилните отговори на изолирани от плъши стомах и илеум препарати към директна електростимулация са честотно зависими и имат сложна миогенно-неврогенна природа. Електростимулацията с ниска честота провокира доминиращо невронално дразнение и резултатите ни сочат, че при това механичните отговори са с достоверно по-ниска амплитуда от тези при високи честоти. Механичните реакции са дву- или трифазни, като нашите експерименти доказват, че първоначалния контрактилен пик е с миогенна природа, докато последващата релаксация има смесен характер с доминираща неврогенна компонента. Появяващата се понякога трета възбудна фаза е вероятно също със смесен характер. Горните заключения са аргументирани от следните наблюдения: липса на влияние на блокирането на невроналните Na – канали върху инициалния пик и почти почти пълното му премахване след приложение на мускаринов блокатор; достоверно инхибиране на втората фаза чрез ГТХ и липса на влияние на последния върху първата фаза на реакцията.

Отсъствието на достоверни промени в контрактилните реакции на фона на Hexamethonium, Propranolol и Phentolamine налага мнение за неучастие на N-холинергични и адренергични рецептори в реализацията на отговорите.

Отсъствието на първата фаза в отговора при препаратите изолирани от плъхове с ПВКН е закономерно с оглед структурните изменения, наблюдавани в клетките и тъканите на стомашночревния тракт [E. Eleftheriadis et al. 1996], в това число гладкомускулните клетки отговорни за мотилитета. Хипоксичните ефекти от ПВКН водят до промени в мембранната функционалност и пермеабилитет [Lozen Y, 1999], което предполага промени и във възбудимостта и контрактилната активност. В основата на процеса биха могли да бъдат нарушена йонна проводимост на мембранните канали, както и десенситизация на рецепторите поради конформационна или секвестрационна активност в следствие променени механични структурни характеристики на мембраната [Towfigh S et al. 2000].

Втората фаза на ГМ отговор е доминирана от участието на невронални структури. Тенденцията към редуцирането и при препаратите изолирани от плъхове с ПВКН е индикация за нарушена рецепторна функционалност поради гореспоменатите мембранни изменения и вероятни директни интрамурални невронални увреждания.

Литература

1. E. Eleftheriadis, K. Kotzampassi, K. Papanotas, N. Heliadis, K. Sarris. Gut Ischemia, Oxidative Stress, and Bacterial Translocation in Elevated Abdominal Pressure in Rats. World Journal of Surgery 1996, 20(1): 11-16
2. Lozen Y. Intraabdominal hypertension and abdominal compartment syndrome in trauma: pathophysiology and interventions. AACN Clin Issues. 1999;10:104-112.
3. Towfigh S, Heisler T, Rigberg D, et al. Intestinal ischemia and the gut-liver axis: an in vitro model. J Surg Res. 2000;88:160-164.

Експериментите са реализирани при работа по Научен проект на МУ-Пловдив № 07/2010. Техническата реализация е със съдействието на доц. П. Загорчев и инж. Р. Николов