

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 611.61.61.617.621

К. В. Казарян, В. Ц. Ванцян, А. С. Тираян, Р. Р. Акопян

Роль Na^+ – Ca^{++} -обменного механизма в регуляции гистамином спонтанной активности мочеточника

(Представлено академиком НАН Армении В.В.Фанарджяном 17/VIII 1998)

Механизм регуляции гистамином пейсмекерной активности мочеточника морской свинки и кошки соответствует специфическому воздействию на медленнопротекающие процессы ритмогенеза. В частности, управляемые гистамином рецепторы модулируют, с одной стороны, плато компонент сложного потенциала действия, а с другой – натриевую, первую фазу медленноволновой активности (1,2). Вместе с тем известно, что отмеченные компоненты спонтанного ритмогенеза мочеточника обеспечиваются Na^+ – Ca^{++} -обменным механизмом (3,4), принимающим непосредственное участие и в регуляции кальциевого гомеостаза клетки (5,6). При этом показана также эффективная роль этой транспортной системы в выведении кальция из клеток мочеточника при увеличении его исходного уровня (7).

Исходя из хеморегуляции гистаминными рецепторами Na^+ – Ca^{++} -обменного механизма при возникновении и формировании Na^+ -зависимых компонентов спонтанной активности мочеточника нами сделана попытка изучить данное взаимоотношение в условиях повышенного содержания внутриклеточной концентрации ионов Ca^{++} .

Работа выполнена в условиях *in situ* на кошках массой 3-4 кг, наркотизированных нембуталом (55-60 мг/кг). Мочеточник денервировали путем перерезки корешков чревного и тазового нервов. Внутриартериальную перфузию почек проводили введением стеклянных канюль в почечную артерию и почечную вену соответственно для подачи и оттока растворов. Скорость перфузирующих растворов была постоянной и равнялась 20 – 25 мл/мин. Температуру растворов поддерживали около 36-37°C.

Активность пейсмекерной области мочеточника регистрировали с помощью монополярного шарикового серебряного электрода, погруженного в участок пиелоуретерального соустья. Распространяющиеся спайковые разряды отводили биполярными электродами из средних отделов мочеточника.

Исследование потенциалов действия мочеточника морской свинки проводили на изолированных препаратах, выделенных из животных, массой 350-400 г. После изоляции препараты выдерживали в растворе Кребса при температуре 36-37°C в течение одного часа, а затем переносили в соответствующие камеры "сахарозного мостика". Через все камеры с постоянной скоростью протекали растворы при температуре 36°C. Потенциалы регистрировали каломельными электродами.

Нормальный раствор Кребса имел следующий состав (ммоль/л): NaCl – 120,4, KCl – 5,9, Ca Cl₂ – 2,5, NaHCO₃ – 15,5, NaH₂PO₄ – 1,2, MgCl₂ – 1,2, глюкоза – 11,5. Раствор сахарозы, приготовленный на тридистиллированной воде, а также раствор KCl были изотоничны нормальному раствору Кребса. В безнатриевом растворе NaCl замещали осмотически эквивалентным количеством сахарозы. Гистамин вводили непосредственно в раствор Кребса в концентрации 10⁻⁵ моль/л.

Приведение записи отдельных экспериментов представляют собой данные регистрации на 8-10 животных.

Известно, что потенциал действия гладкомышечных клеток мочеточника состоит из быстрых осцилляций кальциевых токов и растянутой во времени платообразной фазы, представляющей собой медленные входящие натриевые токи (2,8) (рис.1,1). В безнатриевой среде при этом наблюдаются простые пиковые потенциалы действия, которые в течение 10-15 мин исчезают (9) (рис.1,2). В период времени генерации спайков наблюдается 8-10-кратное увеличение внутриклеточной концентрации ионов Ca⁺⁺(6).

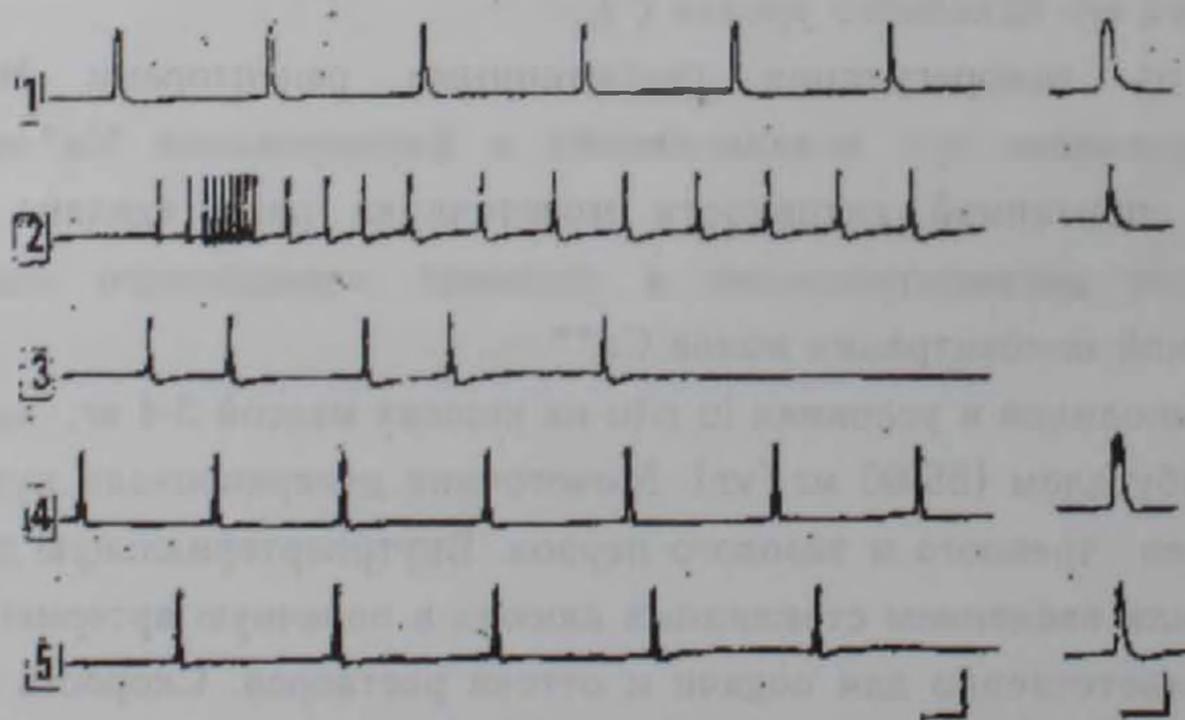


Рис.1. Восстановление активности мочеточника морской свинки в натриевой среде в присутствии гистамина (10⁻⁵ моль/л). 1 – спонтанная активность в нормальном растворе Кребса; 2 – начало действия безнатриевого раствора; 3 – ингибирование активности в безнатриевом растворе; 4 – восстановление активности при добавлении 20 ммоль/л ионов Na⁺ в безнатриевый раствор в присутствии гистамина; 5 – через 6 мин. Калибровка: 8 с, 40 мВ и 2 с, 40 мВ.

В таком случае последующее добавление в среду ионов Na^+ создает большой концентрационный градиент по этим ионам, направленный в клетку, и обеспечивает активацию $\text{Na}^+-\text{Ca}^{++}$ -обменного механизма. Более того, ионы Na^+ позволяют включить и другие натриевые системы транспорта этих ионов (Na^+ -каналы проводимости, Na^+-K^+ -насос), и поэтому возможно восстановление всей активности в целом.

В настоящем исследовании восстановление активности наблюдалось в гистаминной среде. Как видно из рис.1,3, отмечается значительное влияние данного физиологически активного соединения на картину восстановленного ритмогенеза. В эксперименте (рис.1) концентрация ионов Na^+ в среде соответствовала 20 ммоль/л и была достаточной для генерации устойчивой и длительной спайковой активности гладкомышечной ткани мочеточника. Амплитуда спайков и ритмика активности при этом были несколько меньше по сравнению с таковыми в нормальном растворе Кребса (9). В настоящих же экспериментах влияние гистамина выражалось, с одной стороны, увеличением амплитуды потенциала действия (на $6 \pm 0,6 \%$) и их частоты генерации ($1,2 \pm 0,2$ раза), а с другой – изменением конфигурации восстановленных спайков (рис.1,4). Вновь образованная фаза плато потенциала действия была достаточно растянута во времени. Согласно проведенным ранее исследованиям, потенциалы действия с фазой плато подобной длительности обычно наблюдались в растворе Кребса (138 ммоль/л ионов Na^+). В последующем в течение 6-8 мин конфигурация потенциалов действия изменялась, уменьшались длительность и амплитуда потенциала действия, исчезли осцилляции, сужались фазы плато (рис.1,5).

Исходя из данных о регуляции гистамином натриевых механизмов медленноволновой активности (1,10) нами проведена серия экспериментов, подобная вышеописанному на мочеточнике кошки.

Медленные пейсмекерные колебания мембранных потенциалов в виде синусоидальных волн наблюдаются, как правило, из пиелоуретерального соустья мочеточника кошки (рис.2,1, верхняя кривая). Из всех остальных областей мочеточника вплоть до мочевого пузыря регистрировали спайковые разряды (рис.2,1, средняя и нижняя кривые). При замене крови на раствор Кребса наблюдалось четкое разделение фаз медленной волны, независимо от исходной конфигурации волны при кровотоке (рис.2,2), изменялась и характеристика колебаний, уменьшалась частота ритмики за счет увеличения длительности первой фазы. Полное удаление ионов Na^+ из наружной среды не приводит к подавлению активности. Гладкомышечная ткань мочеточника, как правило, сохраняет способность генерировать медленноволновую активность еще в течение 13-15 мин. Наблюдаемые волны представляют собой как бы только вторую фазу колебаний (рис.2,3), зарегистрированную в растворе Кребса. Со временем они становятся реже до полного исчезновения.

Вместе с тем известно, что добавление в среду хотя бы 20 ммоль/л ионов натрия легко восстанавливает эту активность (3).

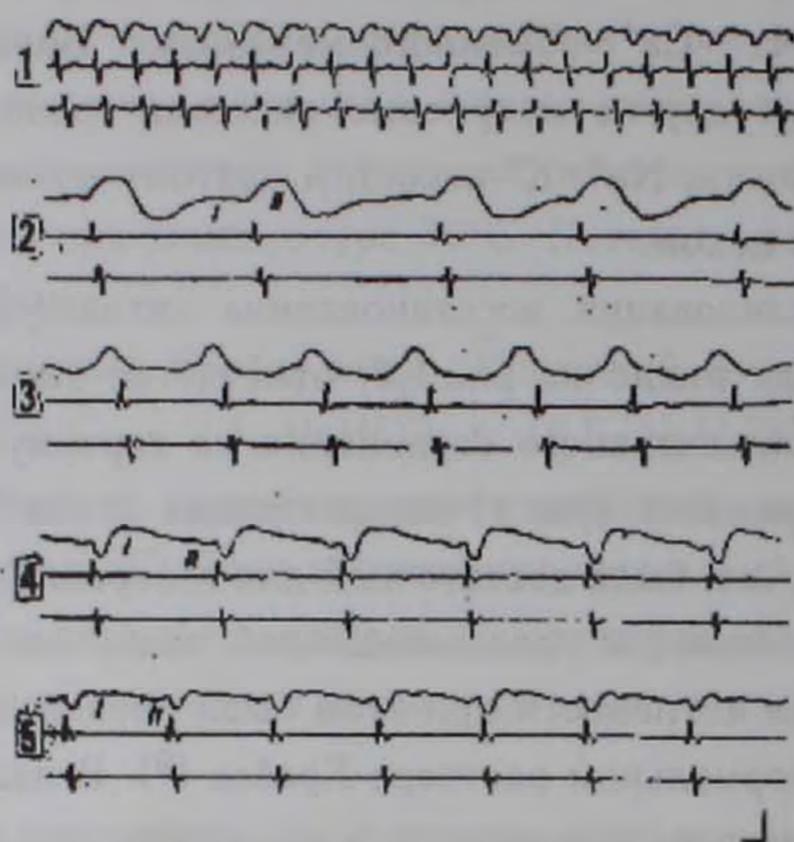


Рис. 2. Восстановление медленноволновой активности мочеточника кошки в натриевой среде в присутствии гистамина (10^{-5} моль/л). Верхняя кривая — пейсмекерная, средняя и нижняя кривые соответственно средняя и околопузырная области мочеточника. 1 — спонтанная активность при кровотоке; 2 — перфузия раствора Кребса; 3 — безнатриевый раствор; 4 — восстановление ингибированной в безнатриевой среде активности в растворе Кребса в присутствии гистамина; 5 — через 8 мин. Калибровка: 2 с, 2 мВ.

В настоящих экспериментах ингибированная активность восстанавливалась при смене безнатриевого раствора на раствор Кребса с гистамином (рис. 2, 4). В течение 3-5 мин возникала медленноволновая активность с проходящими спайковыми разрядами. Первая натриевая фаза волны при этом была заметно выпуклой, сравнительно с таковой в безгистаминной среде (сравни рис. 2, 2 с 2, 4). Однако в течение 8-10 мин амплитуда этой фазы уменьшалась (рис. 2, 5) и в дальнейшем регистрировалась активность, типичная для наблюдаемой в растворе Кребса.

Известно, что миогенная активность мочеточника является результатом взаимодействия нескольких электрогенных транспортных систем (8, 11, 12), обеспечивающих перемещение ионов Na^+ и Ca^{++} через мембрану клеток. $\text{Na}^+-\text{Ca}^{++}$ -обменная система при этом наряду с регуляцией медленных Na^+ -чувствительных компонентов активности является также механизмом, выводящим избыточное количество ионов Ca^{++} из клетки. Показано также, что стимуляция гистамином H1-рецепторов обеспечивает значительное обогащение внутриклеточного содержимого ионами Ca^{++} (13, 14). В таком случае наблюдаемые в работе выраженные фаза-плато потенциала действия, а также первую фазу медленноволновой активности, естественно, можно связать с вышеописанными экспериментальными условиями, позволяющими стимулировать работу обменного механизма в режиме противогradientного выведения Ca^{++} из клеток.

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод, что хеморегуляция гистаминными рецепторами как спонтанно генерируемых потенциалов действия, так и медленноволновых колебаний осуществляется посредством их влияния на $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$ систему.

Институт физиологии им. Л.А.Орбели НАН Армении

Ք. Վ. ՂԱԶԱՐՅԱՆ, Վ. Յ. ՎԱՆՑՅԱՆ, Ա. Ս. ՏԻՐԱՅԱՆ, Ռ. Ռ. ՀԱԿՈՔՅԱՆ

Հիստամինի միջոցով նատրիում-կալցիում փոխանակման մեխանիզմի դերը միզաձորանի ինքնաբուխ ակտիվության կարգավորման գործում

Աշխատանքում ուսումնասիրվել է ներբջջային միջավայրում բարձր կոնցենտրացիա ունեցող կալցիումի իոնների ազդեցությունը կատվի և ծովախառուկի միզաձորանի ինքնաբուխ ակտիվության կարգավորման վրա հիստամինի միջոցով: Ցույց է տրվել, որ հիստամինի (10^{-5} մմոլ/լ) ներարկումը ոչ նատրիումական արտաքին միջավայր մի կողմից մեծացնում է օսցիլյացիաների քանակը գործողության պոտենցիալի վրա, մյուս կողմից նկատելիորեն կարճացնում է երկու տիպի ինքնաբուխ ակտիվությունների (դանդաղալիքային և սպայկային) գեներացիայի ժամանակը: Ակտիվության վերականգնումը նատրիումական լուծույթում (20 մմոլ/լ) հիստամինի առկայության դեպքում փոխում է ակտիվության կոնֆիգուրացիան: Ռիթմոգենեզի ցուցանիշների (հաճախականացում, ամպլիտուդի մեծացում) նկատելի բարելավման հետ միասին նկատվում է ինչպես գործողության պոտենցիալի պլատո ֆազայի, այնպես էլ դանդաղ ալիքների վրա նատրիումական առաջին ֆազայի երկարում:

Ուսումնասիրությունների արդյունքները թույլ են տալիս ենթադրելու հիստամինային ռեցեպտորների միջոցով նատրիում-կալցիում փոխանակման մեխանիզմի կարգավորման մասին, միզաձորանի ինքնաբուխ ակտիվության առանձին կոմպոնենտների առաջացման և ձևավորման ժամանակ:

ЛИТЕРАТУРА – ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ К.В.Казарян, В.Ц.Ванцян, А.С.Тираян и др., Физиол. журн. им. И.М.Сеченова, т.83 (8), с.121-126 (1997). ² M.F.Shuba, J. Physiol. (L.), v.264 (3), p.853-864 (1977). ³ К.В.Казарян, В.Ц.Ванцян, С.М.Мартirosов, Физиол. журн. СССР, т.75 (3), с.391-396 (1989). ⁴ К.В.Казарян, А.С.Оганесян, Р.Р.Акопян, Физиол. журн. им. И.М.Сеченова, т.79 (1), с.105-111 (1993). ⁵ P.J.Aaronson, C.D.Benham, J. Physiol., v.416, p.1-18 (1989). ⁶ V.K.Kazarian, H.S.Hovhannissian, G.A.Gevorkian et al., Gen. Physiol. and Biophysics., v.10, p.163-174 (1991). ⁷ К.В.Казарян, А.С.Оганесян, Г.А.Геворкян, Физиол. журн. СССР, т.77 (7), с.76-82 (1991). ⁸ V.A.Bury, M.F.Shuba, Transmembrane ionic currents in smooth muscle cells of ureter during excitation. Eds. E.Bülbring, M.F.Shuba, N.Y., Raven Press, 1976. ⁹ К.В.Казарян, А.С.Оганесян, А.С.Тираян, Физиол. журн. СССР, т.75 (6), с.845-850 (1989). ¹⁰ С.Т.Kirkpatrick, J. Physiol. (L.), v.244, p.263-281 (1975). ¹¹ К.В.Казарян, А.С.Тираян, В.Ц.Ванцян и др., Физиол. журн. СССР, т.73 (6), с.738-744 (1987). ¹² K.V.Kazarian, S.M.Martirosou, N.I.Markevish, VEBO, v.22, p.175-186 (1989). ¹³ P.Chambers, D.E.Neal, J.I.Gillespie, Exp. Physiol., v.81 (4), p.553-564 (1996). ¹⁴ T.L.Noah, A.N.Paradiso, M.C.Madden et al., Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol., v.5 (5), p.484-492 (1991).