

РОЛЬ ИОНОВ НАТРИЯ В ГИСТАМИННОЙ РЕГУЛЯЦИИ СПОНТАННОЙ АКТИВНОСТИ МОЧЕТОЧНИКА

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

*/Институт физиологии им. Л.А.Орбели НАН Армении/
375028 Ереван, ул. Орбели, 22*

Ключевые слова: гистамин, мочеточник, спонтанная активность, потенциал действия, фаза плато, медленноволновая активность

Данные литературы [4,8,13] свидетельствуют о наличии в гладкомышечных клетках мочеточника электрогенного Na^+ - Ca^{++} -обменного механизма, принимающего непосредственное участие как в создании пейсмейкерной активности в целом, так и формировании отдельных компонентов обоих типов спонтанного ритмогенеза (медленноволновые колебания, быстрая спайковая активность в виде потенциала действия). Вместе с тем для клеток мочеточника показано участие Na^+ - Ca^{++} -антипорта также и в обеспечении клеточного кальциевого гомеостаза [7,12]. Нагружение мышц ионами кальция позволяет выявить условия, при которых наиболее выражена роль обменного механизма в генезе натрийчувствительных фаз пейсмейкерной активности (первая фаза медленных волн и фаза плато потенциала действия).

Ранее было показано [5,18], что регуляция гистамином спонтанного ритмогенеза мочеточника осуществляется при модуляции отмеченных компонентов активности. Данный факт, естественно, может послужить основой для предположения о контроле гистаминными рецепторами Na^+ - Ca^{++} -обменной системы.

Целью настоящей работы является изучение регуляции гистаминными рецепторами отдельных компонентов спонтанной активности мочеточника морской свинки и кошки в условиях повышенного содержания ионов Ca^{++} в клетке.

Материал и методы

В условиях *in situ* работа выполнена на кошках массой 3–4 кг, наркотизированных нембуталом (55–60 мг/кг). Путем перерезки корешков чревного и тазового нервов мочеточник денервировали. Внутриаортальную перфузию почек проводили внедрением стеклянных канюль в почечную артерию и почечную вену соответственно для подачи и оттока

растворов. Скорость перфузируемых 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 мочеточников 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; CaCl₂ – 2,5; NaHCO₃ – 15,5; NaH₂PO₄ – 1,2; MgCl₂ – 1,2; глюкоза – 11,5. Раствор сахарозы, приготовленный на тридистиллированной воде, а также раствор хлористого калия 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.

Приведенные записи отдельных экспериментов представляют собой данные регистрации на 8–10 животных.

Результаты и обсуждение

Известно, что гладкомышечная ткань мочеточника морской свинки способна генерировать спайковую активность в безнатриевой среде, обеспечивая при этом вход ионов кальция в клетку [2,6]. В период генерации спайков наблюдается 8–10-кратное увеличение внутриклеточной концентрации кальция и уменьшение концентрации ионов натрия в клетке [12].

Согласно проведенным ранее экспериментам, влияние гистамина (10⁻⁵ моль/л) на сложный потенциал действия мочеточника морской свинки выражается не только удлинением натриевой фазы плато, но и увеличением числа кальциевых осцилляций, наложенных на них [5], что может косвенно указывать на гистаминную регуляцию кальциевых систем переноса. На рис. 1 представлено модулирующее действие гистамина на форму спайков, генерируемых в безнатриевом растворе. Добавление гистамина в эту среду сразу же изменяло картину активности (рис. 1, 3). Амплитуда спайков, как правило, имела тенденцию к небольшому увеличению (на 12±0,3%), и каждый потенциал действия представлял собой вспышки пиков, которые быстро изменяли конфигурацию и исчезали со временем (рис. 1, 3–5). Результаты настоящих экспериментов показали, что введение гистамина в среду заметно укорачивает интервал времени, в

течение которого наблюдается генерация спайков до 5–7 мин. Согласно приведенным ранее данным [12], в безгистаминном растворе Кребса данный промежуток времени соответствовал 10–15 мин. Таким образом, отмечается определенная регуляция гистамином кальциевых систем проводимости.

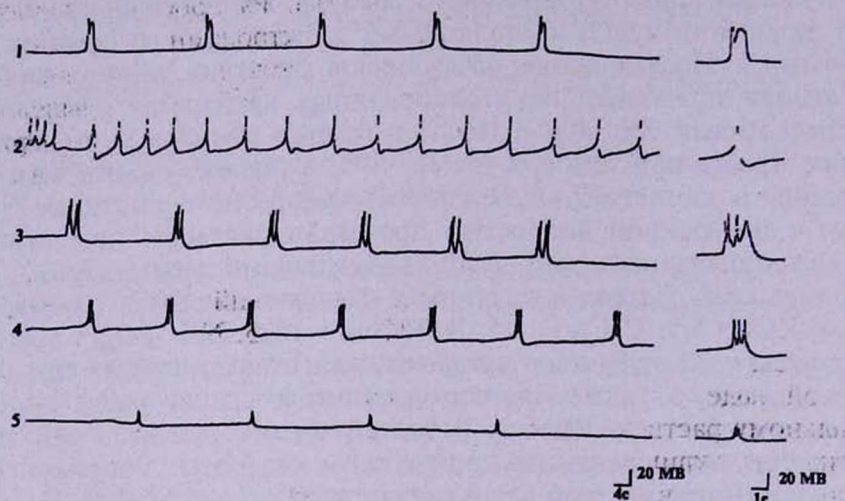


Рис. 1. Спонтанная активность мочеточника морской свинки в безнатриевом растворе в присутствии гистамина (10^{-5} моль/л):

1 — спонтанная активность в нормальном растворе Кребса; 2 — начало действия безнатриевого раствора; 3 — добавление гистамина в безнатриевый раствор; 4, 5 — через 3 и 5 мин соответственно. Калибровка: 4 сек, 20 мВ и 1 сек, 20 мВ

Ранее было показано, что последующее введение в наружную среду ионов Na^+ восстанавливает генерацию спайков. Действительно, ионы Na^+ позволяют включить натриевые системы транспорта этих ионов (Na^+ -каналы проводимости, Na^+ - K^+ -насос, а также Na^+ - Ca^{++} -обменный механизм в режиме противогradientного выведения ионов Ca^{++} из клеток), обеспечивающие ритмогенез [13]. Амплитуда восстановленных потенциалов действия и их ритмика при этом несколько уменьшались по сравнению с таковыми в норме [2].

Добавление гистамина в натриевую среду (20 ммоль/л ионов Na^+) позволило показать значительное влияние данного физиологически активного соединения на картину восстановленного ритмогенеза по сравнению с вышеописанными данными для безгистаминной среды [2]. Как видно на рис. 2, 1 и 2, 4, амплитуды потенциалов действия несколько возрастали (на $6 \pm 0,6\%$), частота их генерации также имела небольшую тенденцию к увеличению ($1,2 \pm 0,2$ раза). Модулирующая роль гистамина выражалась и в изменении формы восстановленных спайков: отмечалось

возникновение пиков на вершине потенциалов действия (рис. 2, 4), а вновь образованная фаза плато имеет длительность, подобную таковой для потенциалов действия в растворе Кребса. Проведенные ранее исследования [4] показали, что потенциал действия мочеточника морской свинки с фазой плато подобной длительности обычно наблюдается при концентрациях натрия в наружной среде 60–80 ммоль/л. Описанные изменения конфигурации потенциала действия регистрировались, как правило, в течение первых 6–8 мин, а в последующем рассматриваемые показатели активности заметно ухудшались: уменьшались амплитуда и длительность потенциалов действия, а также число осцилляций и становился реже ритм (рис. 2, 5).

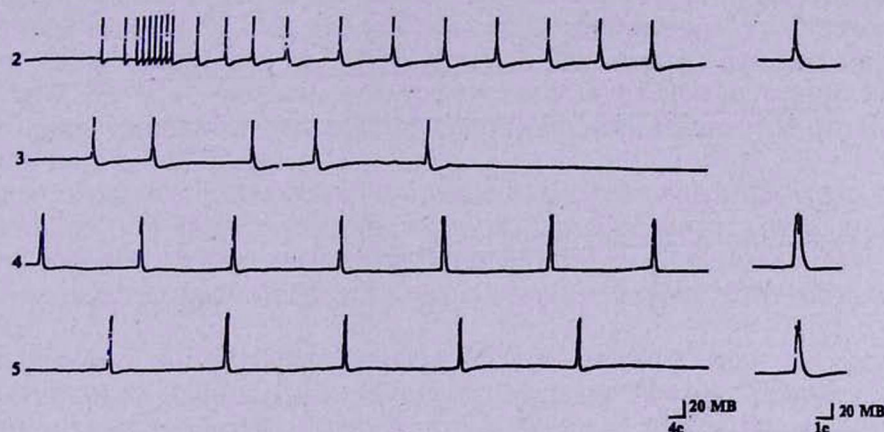


Рис. 2. Восстановление активности мочеточника морской свинки в натриевой среде в присутствии гистамина (10^{-5} моль/л):

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: 4 сек, 20 мВ и 1 сек, 20 мВ

Исходя из данных о регуляции гистамином натриевых механизмов медленноволновой активности [5,14], в настоящей работе нами была проведена специальная серия экспериментов, подобная вышеописанным на мочеточнике кошки. На рис. 3 представлена типичная картина локальной пейсмейкерной активности из пиелоуретерального соустья мочеточника кошки (рис. 3, 1 – верхняя кривая) и проходящих спайков, регистрируемых из более дистальных – средней и околопузырной областей (рис. 3, 1 – средняя и нижняя кривые). При удалении ионов натрия из внешней среды (рис. 3,3) отмечались, с одной стороны, изменения двухфазной формы колебаний, наблюдаемой при перфузии раствором Кребса (рис. 3,2), а с другой, – учащение ритмогенеза. Так, сравнитель-

но с активностью, зарегистрированной при нормальном кровотоке, частота урежалась в $2,7 \pm 0,3$ раза, а по сравнению с картиной при перфузии раствором Кребса — в $1,4 \pm 0,2$ раза. Согласно приведенным ранее результатам [3], при этих условиях фактически регистрировалась лишь вторая фаза волны с небольшим изменением амплитуды волн. Однако со временем подобная активность исчезала в течение 13–15 мин.

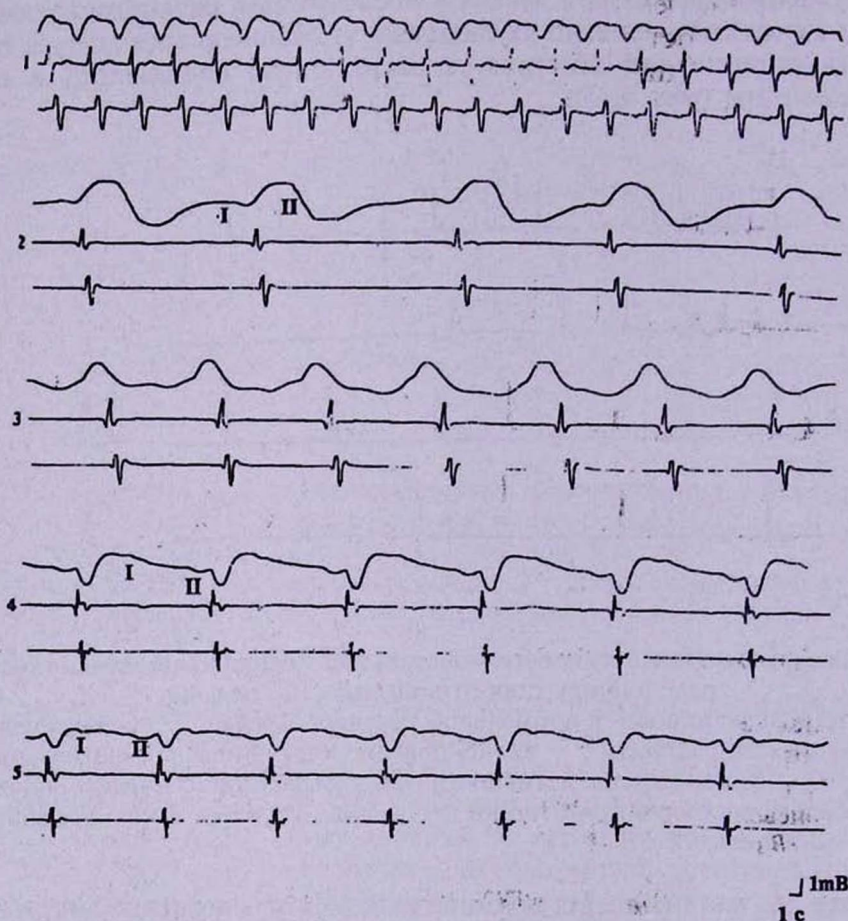


Рис. 3. Восстановление медленноволновой активности мочеточника кошки в натриевой среде в присутствии гистамина (10^{-5} моль/л): верхняя кривая — пейсмекерная, средняя и нижняя кривые — соответственно средняя и околопузырная области мочеточника; 1 — спонтанная активность при кровотоке; 2 — перфузия раствором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

Отдельной серией экспериментов исследовалась также регуляция описанной выше активности при введении гистамина в безнатриевый раствор. Отмечались учащение ритмики сравнительно с безгистаминной безнатриевой средой и, как правило, некоторое улучшение показателей проходящих спайков. Период времени, в течение которого регистрировалась активность, сравнительно с безгистаминной натриевой средой также значительно укорачивался (до 7–8 мин).

Аналогично проведенным выше экспериментам далее исследовалась конфигурация восстановленной активности при последующей смене безнатриевого раствора на раствор Кребса с гистамином (рис. 3,4). В течение 3–5 мин возникала медленноволновая активность с проходящими спайковыми разрядами. Выявлялась заметно выпуклая удлиненная первая фаза волны, которая в течение 8–10 мин постепенно уменьшалась в амплитуде (рис. 3,5), и в дальнейшем регистрировались типичные колебания, характерные для раствора Кребса. Возможно, именно активация работы Na^+ - Ca^{++} -обменного механизма при введении ионов Na^+ в среду в присутствии гистамина и обеспечивает возникновение столь выраженной натриевой фазы.

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

Как описано выше, пейсмекерная область мочеточника продолжает свою активность в безнатриевой среде, которая все же прекращается через некоторое время. Отмечалось, что в условиях вышеописанных экспериментов происходит увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{++} [12]. Известно также, что миогенная активность мочеточника является результатом взаимодействия нескольких электрогенных транспортных систем, обеспечивающих перемещение в основном ионов Na^+ , Ca^{++} и K^+ через мембрану гладкомышечных клеток [1,10,13]. В таком случае удаление ионов Na^+ из наружной среды и увеличение концентрации внутриклеточного Ca^{++} могут привести к инактивности потенциалуправляемых Ca^{++} -каналов и прекращению генерации потенциалов действия [2, 15,20].

Показано, что стимуляция гистамином H_1 -рецепторов, в свою очередь, также способствует значительному обогащению внутриклеточного содержимого ионами Ca^{++} [11, 16], и, как следствие, возможно ускорение процесса ингибирования спонтанного ритмогенеза. Тогда последующее введение ионов Na^+ в среду, естественно, создает условия для усиления входящих натриевых токов, генерируемых Na^+ - Ca^{++} -обменной системой в режиме противогradientного выведения ионов кальция из клетки [3, 14, 17]. Наблюдаемые в работе выраженные натриевые компоненты (фаза плато потенциала действия, рис. 2,4; первая фаза медленной волны, рис. 3,4), изменяющиеся во времени, по-видимому, связаны с вышеописанными экспериментальными условиями.

В гладкомышечной ткани мочеточника, подобно мышцам сосудов [9, 19], возможно, происходит саморегуляция Na^+ - Ca^{++} -обменного механизма таким образом, что очень низкие значения концентрации Ca^{++} в клетке могут привести к уменьшению частоты оборотов переносчика и всей активности в целом, и наоборот, процесс выведения ионов Ca^{++} из клетки будет стимулироваться увеличением внутриклеточного содержания Ca^{++} . И таким путем, на наш взгляд, может протекать регуляция гистаминными рецепторами процессов на мембране гладкомышечной ткани мочеточника, обеспечиваемых Na^+ - Ca^{++} -системой.

Поступила 23.04.99

ՆԱՏՐՈՒՄԻ ԻՈՆՆԵՐԻ ԳԵՐԸ ՄԻՋԱՇՈՐԱՆԻ ԻՆՔՆԱՐՈՒՄ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՀԻՍՏԱՄԻՆԱՅԻՆ ԿԱՐԳԱՎՈՐՄԱՆ ԳՈՐԾՈՒՄ

Կ.Վ.Ղազարյան, Վ.Յ.Վանցյան, Ա.Ս.Տիրայան, Ռ.Ռ.Հակոբյան

Աշխատանքում ուսումնասիրվել է ներքջային բարձր խտություն ունեցող կալցիումի իոնների ազդեցությունը կալիի և ծովախոզուկի միզաձորանների ինքնաբերական ակտիվության հիստամինային կարգավորման վրա: Ցույց է տրված, որ հիստամինի (10^{-5} մոլ/լ) ներարկումը ոչ նատրումական արտաքին միջավայր բերում է մի կողմից գործողության պոտենցիալի վերևում օսցիլյացիաների թվի ավելացման, մյուս կողմից, նկատելիորեն կրճատվում է երկու տիպի պոտենցիալների գեներացիայի ժամանակ: Նատրումական լուծույթում (20 մմոլ/լ) ակտիվության վերականգնումը հիստամինի առկայության դեպքում փոխում է ակտիվության կոնֆիգուրացիան: Ռիթմոգենեզի ցուցանիշների (հաճախականացում, ամպլիտուդի մեծացում) նկատելի բարելավման հետ միասին նկատվում է ինչպես գործողության պոտենցիալի պլատոֆազայի, այնպես էլ դանդաղ ալիքի վրա նատրումական առաջին փուլի երկարում:

Ուսումնասիրություններից կարելի է եզրակացնել, որ միզաձորանի ինքնաբերական ակտիվության առանձին կոմպոնենտների առաջացումը և ձևավորումը կարգավորվում են Na^+ - Ca^{++} փոխանակման մեխանիզմների հիստամինային ռեցեպտորներով:

THE ROLE OF SODIUM IONS IN HISTAMINE REGULATION OF URETER SPONTANEOUS ACTIVITY

K. V. Kazarian, V. Ts. Vantsyan, A. S. Tirayan, R. R. Hakobian

The influence of the higher intracellular concentration of Ca^{++} ions upon the histamine regulation of the spontaneous activity of the guinea-pig and cat ureter. The addition of histamine in sodium free Krebs solution shortens the time during which the activity is generated. The histamine changes also the configuration of the restored activity in the sodium solution. Under these conditions the lengthening of both plato-phase of the action potential and sodium-phase of the slow wave activity is observed. It is supposed that histamine regulation of ureter spontaneous activity is realized by Na^+ - Ca^{++} exchange mechanisms of histamine receptors.

ЛИТЕРАТУРА

1. Казарян К.В., Тиранян А.С., Ванцян В.Ц., Мартиросов С.М. Физиол. журн. СССР, 1987, 73(6), с. 738.
2. Казарян К.В., Оганесян А.С., Тиранян А.С. и др. Физиол. журн. СССР, 1989, 75(6), с. 845.
3. Казарян К.В., Ванцян В.Ц., Мартиросов С.М. Физиол. журн. СССР, 1989, 75(3), с. 391.
4. Казарян К.В., Оганесян А.С., Акопян Р.Р. Физиол. журн. им. И.М. Сеченова, 1993, 79(1), с. 105.
5. Казарян К.В., Ванцян В.Ц., Тиранян А.С., Акопян Р.Р. Физиол. журн. им. И.М. Сеченова, 1997, 83(8), с. 121.
6. Шуба М.Ф. Физиол. журн. АН УССР, 1981, 27(6), с. 533.
7. Aronson P.J., Benham C.D. J. Physiol., 1989, 416, p. 1.
8. Aickin C.C., Brading A., Burdya V.T. J. Physiol., 1984, 347, p. 411.
9. Ashida T., Blaustein M. J. Physiol. (L.), 1987, 392, p. 617.
10. Bury V.A., Shuba M.F. Physiology Smooth muscle. N.Y, Raven Press, 1976.
11. Chambers P., Neal D.E., Gillespie J.I. Exp. Physiol., 1996, 81 (4), p.553.
12. Kazarian K.V., Hovannisian H.S., Gevorkian G.A. and Martirosov S.M. Biophysics, 1991, 10, p. 163.
13. Kazarian K.V., Martirosov S.M., Markevish N.I. BEBO, 1989, 22, p. 175.
14. Kirkpatrick C.T. J. Physiol., 1975, 244, p. 263.
15. Mangel A., Connor J., Prosser C. Am. J. Physiol., 1982, 243, p. 7.
16. Noah T.L., Paradiso A.M., Madden M.C. et al. Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol., 1991, 5(5), p.484.
17. Shuba M.F. J. Physiol., 1977, 264 (3), p.837.
18. Shuba M.F. J. Physiol., 1977, 264 (3), p. 853.
19. Smith J.B., Smith L.J. Biologikal Chemistry., 1987, 262 (36), p. 17455.
20. Tomita T., Watanabe H. Phil. Trans. R.Soc.L. Sob., 1973, 265, p. 73.