

УДК 612.73:612.467.1:615.218.1:612.014.82

С. М. Тишкин, Л. В. Байдан

ДЕЙСТВИЕ ГИСТАМИНА НА ИОННЫЕ ТОКИ В ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТКАХ МОЧЕТОЧНИКА МОРСКОЙ СВИНКИ

Было показано, что гистамин обладает сильным возбуждающим действием на гладкомышечные клетки (ГМК) мочеточника морской свинки, выражающимся в значительном удлинении плато потенциала действия (ПД), сопровождающимся увеличением и удлинением фазного сокращения [13, 14]. На основе экспериментов с растворами с измененным ионным составом было высказано предположение, что плато ПД обусловлено входом внутрь клетки ионов натрия [3, 11], поэтому можно допустить, что гистамин действует преимущественно на натриевые потенциалозависимые каналы, участвующие в образовании плато. Удлинение плато ПД может происходить за счет увеличения под действием гистамина числа открытых каналов либо за счет изменения их кинетических характеристик. Ответ на эти вопросы можно получить только с помощью методики фиксации потенциала. Исследованию этой проблемы посвящена данная работа.

Методика исследований

Эксперименты проведены с помощью методики двойного сахарозного мостика в условиях фиксации тока и потенциала. Ширина центрального тестирующего участка 500 мкм. Исследовали раздельно кольцевой и продольный мышечные слои мочеточника. Потенциалы действия вызывали кратковременным толчком деполяризующего тока длительностью 50 мс и амплитудой 2—4 мкА через каждые 30 с. После достижения потенциалом мембраны фазы плато, ПД прерывали и с помощью системы обратной связи фиксировали на заданном уровне. Препараты для изучения продольных мышц получали при разрезании мочеточника вдоль его оси, препараты из кольцевых мышц вырезали из целого мочеточника по спирали с наклоном 30°. Размеры препаратов 0,2×0,2×10 мм.

Результаты исследований

На целом мочеточнике морской свинки гистамин в концентрации 3×10^{-6} моль вызывает значительное удлинение плато ПД без изменения потенциала покоя. Зависимость величины удлинения плато от концентрации гистамина очень крута. Если гистамин в концентрации 3×10^{-7} моль почти не вызывает эффекта, то при повышении концентрации до $1,5 \times 10^{-6}$ моль плато удлиняется до максимальной величины и дальнейшее повышение концентрации дополнительного удлинения не вызывает. При повышении концентрации до 3×10^{-5} моль гистамин, наряду с удлинением плато ПД, вызывает небольшую деполяризацию (3—5 мВ) и увеличение проводимости мембраны ГМК приблизительно на 20 %. При длительной аппликации (8—10 мин) действие гистамина на потенциал покоя и плато ПД заметно ослабевает.

Мышечная стенка мочеточника состоит из двух слоев мышц — продольного и кольцевого [1]. Исследование действия гистамина раздельно на оба слоя этих мышц показало, что наблюдаемый эффект удлинения плато ПД обусловлен преимущественно активацией мышечных клеток кольцевого слоя. В мышечных клетках продольного слоя гистамин не удлиняет плато ПД. Деполяризация и уменьшение сопротивления мембраны, вызванные приложением больших концентраций

гистамина, были одинаковы в ГМК как продольного, так и кольцевого слоев. Все дальнейшие эксперименты по действию гистамина на ионные токи в клетках мочеточника были проведены на кольцевых мышцах.

Представлялось интересным исследовать тип рецепторов, обуславливающих эффект удлинения плато ПД. Специфический H_2 -блокатор метиамид в концентрации 5×10^{-4} моль не изменял потенциал покоя и сопротивление мембраны. В присутствии метиамида удлинение плато под действием гистамина сохранялось. H_1 -блокатор фенкарол в концентрации

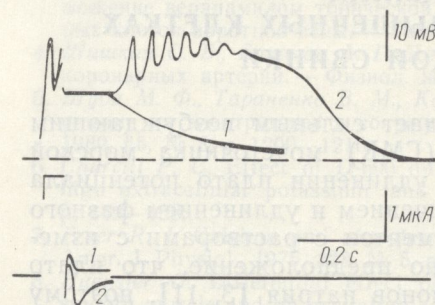


Рис. 1. Действие гистамина ($3 \cdot 10^{-6}$ моль) на трансмембранный ионный ток при фиксации потенциала импульсом длительностью 100 мс через 50 мс после начала ПД. Вверху — потенциал, внизу — токи. 1 — норма, 2 — на 3 мин действия гистамина.

3×10^{-6} моль также не изменял потенциал покоя и сопротивление мембраны, однако удлинения плато ПД гистамином на фоне действия фенкарола не наблюдалось.

В состав ионного тока, проходящего через мембрану ГМК во время возбуждения, входит несколько компонент, среди которых выделяют быстрые инактивирующиеся входящий кальциевый и выходящий калиевый токи, а также медленные входящие натриевый (или натрий-кальциевый) и выходящий калиевый токи [2, 5]. Были проведены исследования действия гистамина на все эти токи. Эти исследования показали, что гистамин не оказывает существенного влияния на амплитуду и кинетические характеристики быстрых входящего и выходящего токов, поэтому в последующих экспериментах основное внимание было сосредоточено на исследованиях медленных токов. На рис. 1 показано действие гистамина на токи, текущие через мембрану при обрыве ПД через 50 мс после его начала. Во время фиксации потенциала в течение 100 мс в нормальных условиях ток все время оставался выходящим. Кроме медленной компоненты в токе присутствовала еще и быстрая компонента, поскольку фиксация потенциала включалась при наличии на плато быстрых осцилляций, т. е. тогда, когда еще не были инактивированы каналы быстрых токов. Как видно из рис. 1, обрыв ПД был произведен в момент развития пика ПД, поэтому быструю компоненту мембранного тока можно приписать развитию быстрой калиевой проводимости. Поскольку до действия гистамина к моменту выключения фиксации мембранный ток имел выходящее направление, после выключения фиксации мембранный потенциал возвратился к потенциалу покоя. При действии гистамина входящая компонента трансмембранного тока сильно увеличилась, и ток во время фиксирующего импульса из выходящего стал входящим. После выключения фиксации потенциал ПД продолжал развиваться, поскольку к моменту выключения ток имел входящее направление.

На рис. 2, А показаны мгновенные вольт-амперные характеристики мембраны до и после действия гистамина в момент начала фиксации. Для того, чтобы избежать влияния быстрых проводимостей, импульс фиксации потенциала включался через 550 мс после начала ПД, когда кончилась фаза осцилляций, быстрые проводимости инактивировались, и потенциал достиг фазы плато. Под действием гистамина наклон вольт-амперной характеристики несколько увеличился, что говорит о том, что в данный момент развития ПД проводимость мембраны повысилась.

Аналогичные характеристики в течение 20 мин. необходима, поскольку на медленные токи за активации этих токов друг на друга. Чтобы калиевый ток угнетал, чительно подавляет э

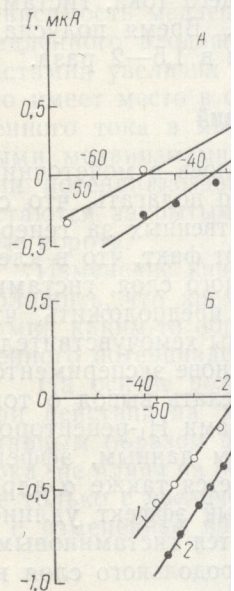


Рис. 2. Мгновенные вольт-амперные характеристики мембраны в момент фиксации потенциала. А — в нормальном растворе, Б — в растворе гистамина. 1 — значения потенциалов, 2 — потенциалов с учетом паразитных токов.

Рис. 3. Действие гистамина на токи мочеточника после 20 мин обрыва друг на друга. Вверху — значения потенциалов, внизу — соответствующие токи от потенциала. Токи

осцилляции потенциала не вносят вклад в мгновенные вольт-амперные характеристики в первый момент фиксации. Как видно из рисунка, наклон характеристики несколько увеличился.

Двойной сахарозы величины мембранного сопротивления вследствие действия раствора Кребса, а также влияния паразитными токами измерения, проведенные [8], что потенциал покоя ПД — 50 мВ. Для стабилизации всех величин мостике, величины потенциалов, рассчитываемых по характеристикам, построены характеристики, построены

Аналогичные характеристики снимались после обработки препарата в течение 20 мин тетраэтиламмонием (ТЭА). Такая обработка необходима, поскольку непосредственное изучение влияния гистамина на медленные токи затруднено вследствие практически одновременной активации этих токов во время плато и значительного наложения их друг на друга. Чтобы обойти это затруднение, медленный выходящий калиевый ток угнетался с помощью ТЭА, который, как известно, значительно подавляет этот ток [5]. Кроме того, ТЭА устраняет быстрые

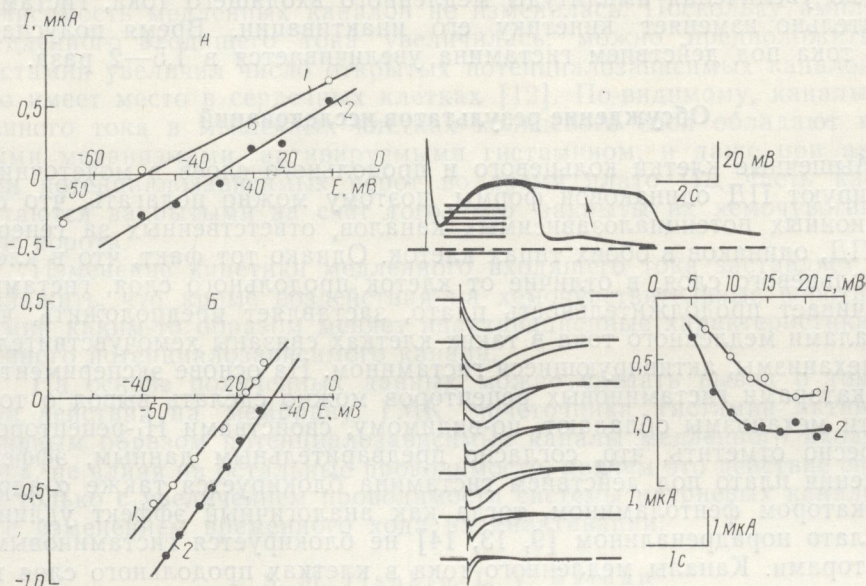


Рис. 2. Мгновенные вольт-амперные характеристики мембраны, снятые в первый момент фиксации потенциала, включенной через 550 мс после начала ПД.

А — в нормальном растворе Кребса, Б — на 20 мин действия ТЭА (5 ммоль). По горизонтали внизу — значения потенциалов, зарегистрированных в двойном сахарозном мостике, вверху — значения потенциалов с учетом паразитных утечек и диффузионных потенциалов. Остальные обозначения см. рис. 1.

Рис. 3. Действие гистамина ($3 \cdot 10^{-6}$ моль) на медленный входящий ток в ГМК мочеточника после 20 мин обработки в ТЭА (5 ммоль). Вверху — два контрольных ПД, наложенных друг на друга, и уровни потенциалов, на которых происходит фиксация. Внизу слева — соответствующие мембранные токи. Стрелкой обозначен ПД на 3 мин действия гистамина. Внизу справа — зависимость максимального значения входящего тока от потенциала. Токи приведены с учетом утечки. Остальные обозначения см. рис. 1.

осцилляции потенциала действия, поэтому во время плато быстрые токи не вносят вклада в проводимость мембраны. На рис. 2, Б показаны мгновенные вольт-амперные характеристики мембраны, снятые в первый момент фиксации потенциала до и после действия гистамина. Как видно из рисунка, проводимость мембраны под действием гистамина несколько увеличивается.

Двойной сахарозный мостик не дает возможности точного измерения величины мембранного потенциала и амплитуды потенциала действия вследствие диффузионных потенциалов на границе сахара — раствор Кребса, а также значительного шунтирования сахарозной изоляции паразитными утечками. По имеющимся литературным данным, измерения, проведенные с помощью микроэлектродов, показали [4, 8], что потенциал покоя ГМК мочеточника составляет 60 мВ, а величина ПД — 50 мВ. Исходя из этих данных, а также считая, что после стабилизации всех параметров мембраны, измеряемых в сахарозном мостике, величины потенциала покоя и ПД соответствуют таким значениям, рассчитывался потенциал пересечения мгновенных вольт-амперных характеристик, снятых до и после действия гистамина. Эти характеристики, построенные как для препарата в нормальном растворе

Кребса (рис. 2, А), так и для препарата, обработанного ТЭА (рис. 2, Б), пересекаются в одной и той же области потенциалов. Потенциал пересечения характеристик, откорректированный по методу, описанному выше, находится в диапазоне 20—50 мВ.

Действие гистамина на медленный входящий ток в присутствии ТЭА показано на рис. 3, из которого видно, что амплитуда тока под действием гистамина заметно возросла. Зависимость максимальной величины входящего тока от потенциала показана на рис. 3 справа. Помимо увеличения амплитуды медленного входящего тока, гистамин значительно изменяет кинетику его инактивации. Время полуспада этого тока под действием гистамина увеличивается в 1,5—2 раза.

Обсуждение результатов исследований

Мышечные клетки кольцевого и продольного слоев в мочеточнике генерируют ПД одинаковой формы, поэтому можно полагать, что состав ионных потенциалозависимых каналов, ответственных за генерацию ПД, одинаков в обоих типах клеток. Однако тот факт, что в клетках кольцевого слоя, в отличие от клеток продольного слоя, гистамин увеличивает продолжительность плато, заставляет предположить, что с каналами медленного тока в таких клетках связаны хемочувствительные механизмы, активирующиеся гистамином. На основе экспериментов с блокаторами гистаминовых рецепторов можно сделать вывод о том, что эти механизмы обладают, по-видимому, свойствами H_1 -рецепторов. Интересно отметить, что, согласно предварительным данным, эффект удлинения плато под действием гистамина блокируется также α -адреноблокатором фентоламином, тогда как аналогичный эффект удлинения плато норадреналином [9, 13, 14] не блокируется гистаминовыми блокаторами. Каналы медленного тока в клетках продольного слоя не связаны, по-видимому, с механизмами, чувствительными к гистамину. Поскольку в мышечных клетках как продольного, так и кольцевого слоев большие концентрации гистамина вызывают одинаковую деполяризацию и уменьшение сопротивления мембраны, можно предполагать, что потенциалонезависимые каналы, связанные с рецепторами, чувствительными к гистамину, в этих клетках одинаковы.

Проведенные эксперименты показали, что гистамин не влияет на быстрые входящий кальциевый и выходящий калиевый токи. Кроме того, гистамин удлиняет плато ПД и после блокирования медленного калиевого тока ТЭА, поэтому можно думать, что действие гистамина проявляется в основном на каналы медленного входящего натрий-кальциевого тока. В пользу этого предположения говорит увеличение мгновенной проводимости мембраны во время плато под действием гистамина.

Если при действии какого-либо агента проводимость мембраны в какой-то момент развития ПД (относительно его начала) окажется измененной, и изменится наклон мгновенной вольт-амперной характеристики мембраны, координаты точки пересечения характеристик, построенных до и после действия агента, будут зависеть от того, для каких ионов изменилась проводимость, а также от соотношения величин их равновесных потенциалов [7]. Если проводимость изменится только для одного иона, потенциал, соответствующий точке пересечения мгновенных вольт-амперных характеристик, будет равен равновесному потенциалу для этого иона [7].

В пользу преимущественного действия гистамина на систему медленных натрий-кальциевых каналов говорят также следующие данные: во-первых, потенциал точки пересечения мгновенных вольт-амперных характеристик лежит в области натриевого равновесного, который составляет для гладких мышц 20—60 мВ [7, 10]; во-вторых, как в норме, так и после действия ТЭА, мгновенные вольт-амперные характе-

ристики пересекаются (рис. 3). Если бы при увеличении проводимости вольт-амперных потенциалов пересечение

Гистамин не из-за максимума тока, зависимость медленного входящего гистамина увеличил, это имеет место в медленного тока в мышечными механизмами, ции потенциалозависимых остаются закрытыми воротами.

Изменение кинетики, что кроме гистамина каким-то образом медленного потенциалозависимых

На основе полученных при действии на мышечных главным образом потенциалозависимых тока, не влияя на основную не только с увеличением и с изменением вре-

HIS
OF SMOOTH

The procedure of employed to study histamine of guinea pigs. It had not but increased amplitude (calcium) current. Intersection recorded before and after intersection potential of preparations was the same. Channels of the inward current the number of open voltage component and exerts its influence

Department of Neurophysiology
A. A. Bogomoletz Institute of
Academy of Sciences, USSR

1. Бакуни С. А. Вопросы физиологии мочеточника. М.: Изд-во АН СССР, 1973, 9, № 11.
2. Бурый В. А. Исследование мочеточника млекопитающих. М.: Изд-во АН СССР, 1973, 9, № 11.
3. Кочемасова Н. Г. Функциональные свойства гладких мышечных клеток. С. 9—12.
4. Bennet M. V. L., B. teau-type action potential during exitation.—I p. 32—37.

ристики пересекаются примерно в одной и той же области потенциалов (рис. 3). Если бы при удлинении плато под действием гистамина кроме увеличения проводимости для Na, происходило и значительное уменьшение проводимости для калия, потенциал пересечения мгновенных вольт-амперных характеристик в норме лежал бы гораздо выше потенциала пересечения в ТЭА.

Гистамин не изменил положение вольт-амперной характеристики для максимума тока (рис. 3), поэтому можно думать, что потенциалозависимость медленных каналов не изменилась. Поскольку амплитуда медленного входящего тока увеличилась, можно предположить, что гистамин увеличил число открытых потенциалозависимых каналов, как это имеет место в сердечных клетках [12]. По-видимому, каналы медленного тока в мышечных клетках кольцевого слоя обладают воротными механизмами, активируемыми гистамином, и даже при активации потенциалозависимых ворот во время плато ПД часть каналов остаются закрытыми за счет того, что закрыты их хемочувствительные ворота.

Изменение кинетики медленного входящего тока заставляет предположить, что кроме воздействия на хемочувствительные ворота, гистамин каким-то образом меняет инактивационные характеристики медленного потенциалозависимого канала.

На основе полученных данных можно сделать вывод о том, что при действии на мембрану ГМК мочеточника гистамин активирует главным образом потенциалозависимые каналы медленного входящего тока, не влияя на остальные проводимости, причем это действие связано не только с увеличением проводимости системы натриевых каналов, но и с изменением временного хода их инактивации.

S. M. Tishkin, L. V. Baidan

HISTAMINE EFFECT ON IONIC CURRENTS OF SMOOTH MUSCLE URETER CELLS IN GUINEA PIGS

Summary

The procedure of voltage clamping under conditions of double sucrose gap employed to study histamine (H) effect on ionic currents in smooth muscle ureter cells of guinea pigs. H had no effect on fast inward calcium and outward potassium currents, but increased amplitude and time of inactivation of the slow inward sodium (or sodium-calcium) current. Intersection potential of momentary voltage-current characteristics (VCC) recorded before and after the H action in norm belonged to the 20-50 mV range. The intersection potential of VCC recorded before and after the H effect on TEA-treated preparations was the same. It may be supposed that H affects only slow sodium channels of the inward current, having no influence on other conductances. It increases the number of open voltage-dependent channels during the action potential plateau development and exerts its influence on inactivation mechanisms.

Department of Neuromuscular Physiology,
A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Список литературы

1. Бакунц С. А. Вопросы физиологии мочеточников. — Л.: Наука, 1970. — 147 с.
2. Бурый В. А. Исследование трансмембранных ионных токов гладкомышечных клеток мочеточника морской свинки методом фиксации напряжения. — Физиол. журн. СССР, 1973, 9, № 10, с. 1608—1613.
3. Кочемасова Н. Г. Роль ионов натрия и кальция в генерации потенциалов действия в гладких мышечных клетках мочеточника. — Бюл. эксперим. биологии, 1971, № 9, с. 9—12.
4. Bennet M. V. L., Burnstock G., Holman M., Walker J. The effect of calcium on plateau-type action potentials in smooth muscle. — J. Physiol., 1962, 161, N 2, p. 47—48.
5. Bury V. A. Superposition of inward and outward currents in the ureter smooth muscle during excitation. — In: Physiology and Pharmacology of Smooth Muscle. Sofia, 1977, p. 32—37.

6. Casteels R. The relation between the membrane potential and ion distribution in smooth muscle cells. — In: Smooth Muscle. London. 1970. p. 70—100.
7. Goldman Y., Morad M. Ionic membrane conductance during the time course of the cardiac action potential. — J. Physiol., 1977, 268, N 3, p. 655—695.
8. Golengofen K. Spontaneous activity and functional classification of mammalian smooth muscle. — In: Physiology of Smooth Muscle. New York, 1976, p. 91—97.
9. Inoue F., McNeill J. H., Tenner T. E., Pull E. Electropharmacological analysis of the action of histamine in cardiac tissue. — Can. J. Physiol. Pharmacol., 1979, 57, N 8, p. 778—785.
10. Kao C. Y., McCullough J. R. Ionic currents in the uterine smooth muscle. — J. Physiol., 1975, 246, N 1, p. 1—36.
11. Kuriyama H., Tomita T. The action potential in the smooth muscle of the guinea pig taenia coli and ureter studied by the double sucrose-gap method. — J. Gen. Physiol., 1970, 55, N 2, p. 147—162.
12. Reuter H., Scholz H. The regulation of the Ca conductance of cardiac muscle by adrenaline. — J. Physiol., 1977, 264, N 1, p. 49—62.
13. Shuba M. F. Mechanism of action of catecholamines and histamine on smooth muscle cells of guinea-pig ureter. — J. Physiol., 1975, 245, N 2, p. 88—89P.
14. Shuba M. F. Mechanism of excitatory action of catecholamines and histamine on the ureter muscle cells. — J. Physiol., 1977, 264, N 3, p. 853—864.

Отдел нервно-мышечной физиологии
Института физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
16.07.81

СОСТОЯНИЕ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Одним из наиболее важных состояний является радионуклидное распределение регионов ривенного введения. Теоретические основания и цели полностью освещены. Этот метод является вотока как в левых ограниченных участках для выявления цереброваскулярной информации. Показатели кровотока в регионарных руслах отсутствуют в литомозгового кровотока и правых метода данных. Показатели мозгового кровотока методом [13, 15] кровотока и не являются. Вместе с тем знание у детей позволяет выявить заболевания функционально-метаболизма и

Для исследования на нарушения поведения (10 мальчиков и 12 лет — семь и от 12 лет) матического, неврологического, фаллографического исследования кровотока не было выявления внутричерепных очаговых неврологических процессов в оболочках и дование пульса, артериального и спустя 1 мес после растной нормы. Полученные другим Регионарный установке «Ксенон-