

Роль ионов хлора в электрических реакциях железистых клеток желудка, вызванных гистамином

Исследуя слизистую оболочку желудка, удалось установить [7, 8, 12] тесную зависимость электрической активности от деятельности секреторного аппарата. С применением ряда ингибиторов, например, ацетазоламида, секреция, вызванная гистамином, подавлялась, снижалась разность потенциалов слизистой оболочки желудка и наоборот в период наибольшей кислотности в железистой зоне слизистой имела наибольшую разность потенциалов. В последнее время получены данные о вовлечении электрических процессов слизистой оболочки желудка в секреторные на клеточном уровне [15, 19]. Исследования такого рода методически трудны, так как слизистая имеет сложное гистологическое строение и отличается от слизистой оболочки других отделов пищеварительного тракта рядом свойств.

Внутриклеточная регистрация электрических потенциалов клеток слизистой оболочки позволила измерить мембранный потенциал [16, 17] и, кроме того, выявить гиперполяризацию мембраны при возбуждении секреции [12, 16, 17]. Подобный факт отмечен и в других пищеварительных железах, однако насколько это явление действительно закономерно для железистых клеток сказать, по-видимому, трудно. Характер динамики внутриклеточного потенциала при секреции связывается рядом исследователей [14, 16, 19] с транспортом ионов Cl через мембрану в направлении от серозной поверхности к секреторной. Факт этот требует дальнейшего изучения, поскольку очень важен для объяснения механизмов секреторной деятельности клеток желез желудка.

Цель наших исследований — изучение влияния ионов Cl на электрические ответы железистых клеток желудка, вызванные гистамином.

Методика

Исследования проводили на изолированной слизистой оболочке желудка крысы *in vitro*. Изолированную слизистую помещали в камеру, через которую пропускали раствор Кребса (температура 35°C). Электрические потенциалы клеток желез желудка регистрировали методом внутриклеточного отведения с помощью стеклянных микроэлектродов [1], подавали на вход усилителя (УПТ-2), затем на осциллограф С1-18. В качестве возбудителя желудочной секреции применяли гистамин (10^{-4} моль/л), в качестве блокатора гистаминовых рецепторов — циметидин (10^{-5} моль/л) фирмы «Smith Kline and French Laboratories Ltd». Об уровне секреции в клетках желез желудка судили по концентрации белковых компонентов в оттекающем растворе. Относительную концентрацию белковых компонентов (по поглощению) определяли на спектрофотометре Specord M40 (ГДР). Для изучения роли ионов Cl в электрических процессах использовали метод замены их другими анионами (Br , NO_3 пропионат), а также применяли блокаторы транспорта Cl -ацетазоламид (10^{-3} моль/л) и фуросемид (10^{-5} моль/л).

Результаты

Мембранный потенциал покоя клеток желез желудка в растворе Кребса составлял $24,7 \text{ мВ} \pm 0,6 \text{ мВ}$. При добавлении в раствор гистамина (10^{-4} моль/л) его уровень значительно увеличивался (на $25 \text{ мВ} \pm 0,8 \text{ мВ}$) и составлял $49,0 \text{ мВ} \pm 0,7 \text{ мВ}$, $P < 0,01$. Эффект мог регистрироваться достаточно долго (20 мин и более) без видимых изменений (рис. 1). Вызвана ли эта гиперполяризация мембраны гистамином? Для ответа на этот вопрос мы провели серию исследований с применением циметидина, который является блокатором H_2 -рецепторов. Поскольку

в обкладочных клетках эти рецепторы есть, следовало ожидать, что с применением циметидина их электрические ответы на гистамин регистрироваться не будут. Полученные результаты подтвердили это предположение. Уже через 10 мин после добавления циметидина к раствору, содержащему гистамин, в течение всего времени действия блокатора (60 мин) наблюдалось полное угнетение электрического ответа железистых клеток на гистамин. Влияние циметидина было обратимым, и после отмывания слизистой оболочки желудка в нормальном

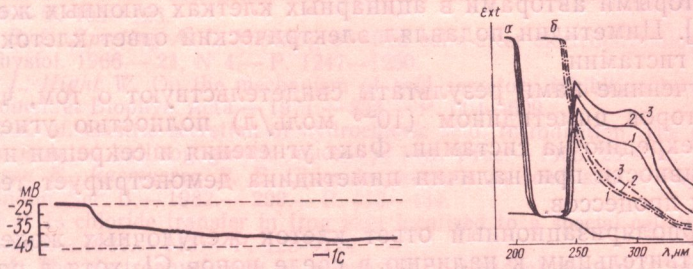


Рис. 1. Гиперполяризационный ответ железистых клеток желудка на гистамин (10^{-4} моль/л).

Отклонение луча вниз в начале кривой соответствует проникновению микроэлектрода в клетку.

Рис. 2. Кривые поглощения света при стимуляции секреции желудка гистамином (а) и ее торможении циметидином (б):

1 — 20 мин после введения препарата; 2 — 40 мин; 3 — 60 мин. Внизу — кривая поглощения без применения указанных препаратов.

растворе Кребса гистамин по-прежнему вызывал значительное увеличение мембранного потенциала железистых клеток желудка.

Проводимое нами одновременно с измерением электрической активности железистых клеток измерение уровня секреции в омывающей слизистой оболочке раствора показало, что, если в период действия гистамина этот уровень возрастал, достигая максимального значения на 60-й минуте, то при добавлении к раствору циметидина уровень секреции резко падал (рис. 2).

При стимуляции гистамином желудочной секреции увеличивается транспорт ионов Cl^- [8], роль которых в механизме генерации мембранного потенциала покоя желез клеток желудка очень важна [8, 15, 17]. В связи с этим нас интересовало значение ионов Cl^- в механизме генерации электрической реакции возбужденных действием гистамина железистых клеток желудка, что изучали путем замены ионов Cl^- другими ионами и при применении некоторых блокаторов хлоридного транспорта. Оказалось, что замена ионов Cl^- эквимоллярным количеством ионов Br^- не влияла на наблюдаемую в ответ на гистамин гиперполяризацию. При замене ионов Cl^- ионами NO_3^- ее амплитуда в течение 20 мин существенно уменьшалась, составляя $7,4 \text{ мВ} \pm 0,8 \text{ мВ}$, $P < 0,05$. При длительном (60 мин) пребывании в нитратном растворе эффект не регистрировался вообще. После отмывания препарата гиперполяризационный ответ железистых клеток желудка на гистамин был ниже, чем до применения ионов NO_3^- .

Если заменить ионы Cl^- в растворе пропионатом, то амплитуда гиперполяризационного ответа на гистамин также быстро (на 15-й минуте) и резко уменьшалась, составляя $8,3 \text{ мВ} \pm 0,7 \text{ мВ}$ ($P < 0,05$). Влияние ионов пропионата обратимо и электрическая реакция на гистамин в железистых клетках желудка восстанавливалась полностью уже через 10 мин после отмывания в нормальном растворе Кребса.

В растворах, содержащих гистамин и блокаторы хлоридного транспорта, гиперполяризационный ответ железистых клеток желудка на гистамин также претерпевал существенные изменения. Уже на 10-й минуте действия ацетазоламида (10^{-4} моль/л) амплитуда его резко уменьшалась, составляя всего $9,6 \text{ мВ} \pm 0,8 \text{ мВ}$ ($P < 0,05$).

В опытах с применением фуросемида (10^{-5} моль/л) на 10-й минуте амплитуда гиперполяризационного ответа на гистамин состав-

ляла $10,6 \text{ мВ} \pm 0,6 \text{ мВ}$ ($P < 0,05$), т. е. также наблюдалось значительное ее уменьшение. Действие ацетазоламида и фуросемида имеет обратимый характер.

Обсуждение

В результате влияния на клетки желез желудка гистамина происходит гиперполяризация мембраны, аналогичная гиперполяризации, описанной некоторыми авторами в ацинарных клетках слюнных желез и печени [3, 11]. Циметидин подавлял электрический ответ клеток желез желудка на гистамин.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что блокада H_2 -рецепторов циметидином (10^{-5} моль/л) полностью угнетает желудочную секрецию на гистамин. Факт угнетения и секреции и электрической активности при наличии циметидина демонстрирует тесную связь этих двух процессов.

Гиперполяризационный ответ клеток желудочных желез оказывается чувствительным к наличию в среде ионов Cl , хотя в растворе, содержащем ионы Bg , не наблюдалось изменений регистрируемого эффекта. Можно предположить, что в этом случае мембрана железистых клеток желудка одинаково проницаема для ионов Cl и ионов Bg . Поэтому мембранный потенциал железистых клеток не изменяется. Замещение ионов Cl ионами NO_3 и пропионатом вызывало уменьшение гиперполяризационного ответа железистых клеток на гистамин. Подобный факт наблюдали и другие исследователи [12, 17], хотя в некоторых случаях не было замечено изменений гиперполяризационного ответа клеток желудочных желез на секретатоги в бесхлорном (сульфатном) растворе [19]. Следует также, очевидно, учесть токсичность нитратных ионов, поскольку отмывание слизистой оболочки не восстанавливало амплитуды гиперполяризационного ответа на гистамин до контрольного уровня.

Ацетазоламид и фуросемид, которые известны как блокаторы транспорта ионов Cl [2, 7, 18], в клетках желез желудка резко уменьшали амплитуду ответа на гистамин. Рассматриваемые блокаторы вызывают изменения в гиперполяризационном ответе, близкие к изменениям, вносимым заменой ионов Cl в растворе Кребса ионами NO_3 и пропионатом. Для объяснения действия веществ, блокирующих транспортное движение ионов Cl , была предложена [20] гипотеза, согласно которой они способны блокировать вход в анионный канал.

Таким образом, движение ионов Cl через мембрану железистых клеток желудка возможно осуществляется через хлорные каналы, существование которых для эпителиальных клеток уже описано [9, 10]. Очевидно, что добавление блокаторов к раствору нарушает транспорт ионов Cl , вследствие чего электрическая активность железистых клеток угнетается и гиперполяризационный ответ в них на гистамин не наблюдается.

Zh. P. Smirnova, V. S. Omeliyanyuk

SIGNIFICANCE OF CHLORIDE IONS ON HISTAMINE-INDUCED ELECTRICAL RESPONSE OF GASTRIC GLAND CELLS

The effect of Cl^- ions on electrical response of gastric gland cells to histamine was investigated using intracellular glass microelectrodes. It was established that in chloride-free solution and in solution with a blocker of chloride transport the hyperpolarization evoked by histamine after 15-20 min decreased and then it was not observed.

It is suggested that the chloride ions are necessary for hyperpolarization response of gastric gland cells to histamine actions.

Institute of Physiology at the University, Ministry of the Higher and Secondary Specialized Education of the Ukrainian SSR, Kiev