

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.73+612.468

К. В. Казарян, М. А. Даниелян, Р. Г. Чибухчян, Э. Х. Мкртчян

Активация гистамином пейсмекерного ритмогенеза мочеточников и мочевого пузыря

(Представлено чл.-кор. НАН РА Л. Р. Манвеляном 4/V 2018)

Ключевые слова: *мочеточник, мочевой пузырь, спонтанная активность, ритмогенез, гистамин, параметры активности, потенциал действия.*

Многими исследованиями показано, что пейсмекерная активность гладкомышечной ткани мочеточника обеспечивается атипичными клетками, локализованными в области почечной лоханки. Вместе с тем лишь наличие недавно выявленных интерстициальных клеток Кахаля обеспечивает передачу сигналов к гладкомышечным клеткам [1-4]. Основная функция мочеточников, как известно, заключается в создании ритмичной контрактуры, обеспечивающей направленный транспорт мочи из почек в мочевой пузырь. Последний, будучи по своей природе, подобно мочеточникам, автономным и миогенным, характеризуется собственной базовой спонтанной активностью, регулируемой также интерстициальными клетками Кахаля [5-7].

Механизмы, обеспечивающие возникновение описанных процессов, наряду с миогенностью контролируются нейрогенными и гуморальными факторами [8, 3]. Известно, что в гладкомышечной ткани мочеточников и мочевого пузыря широко представлены как гистаминные рецепторы, так и тучные клетки, способные выделять гистамин [9-11]. Наиболее специфическим воздействием данного гормона помимо регуляции спонтанной активности является также способность создавать медленные пейсмекерные процессы [12, 13]. Исходя из тесной корреляции между отмеченными исследуемыми органами, а также существования в них различных типов пейсмекерных активностей определенным интерес вызывает вопрос о роли гистамина в активации этих процессов посредством комбинации электрофизиологических и морфогистохимических исследований, что и послужило целью настоящей работы.

Работа выполнена в условиях *in situ* на крысах массой 250-300 г, наркотизированных внутривенно нембуталом (45-50 мг/кг). Мочеточник денервировался путем перерезки корешков чревного и тазового нервов. Денервация мочевого пузыря осуществлялась перерезкой корешков помимо тазового нерва также срамного и подчревного нервов [14]. Спайковые разряды мочеточников отводили биполярными электродами (расстояние между воспринимающими кончиками 2 мм). Активность мочевого пузыря регистрировалась с внутренней поверхности проксимальной зоны органа. С этой целью предварительно проводился небольшой надрез в дистальном отделе мочевого пузыря, через который вводился электрод и осуществлялся отток остаточной мочи. Использовался гистамин (Sigma-Aldrich, Германия). Исходный раствор готовили в дистиллированной воде, последующие разведения проводились в изотоническом растворе хлористого натрия. Препарат вводили в бедренную вену (по 0.2 мл в виде раствора в концентрации 10^{-4} моль/л). В каждом эксперименте использовалось одно введение.

Все эксперименты были острыми, и после завершения регистраций животные умерщвлялись введением дополнительного количества нембутала.

Анализ электрофизиологических регистраций проводился путем определения значений следующих параметров спонтанных потенциалов действия: частоты (F), амплитуды (A), скорости нарастания амплитуды (V), продолжительности нарастания (продолжительность увеличения амплитуды потенциала действия до максимального значения при фазе нарастания) (T/2), половины ширины (время, за которое формируется верхняя часть пика начиная с уровня мембранной поляризации, соответствующей половине амплитуды потенциала действия при фазе нарастания до этого же уровня потенциала при фазе падения) (t). Морфогистохимические исследования проводили методом выявления активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы [15].

Все работы с животными были проведены в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 2010/63/EU).

На рис. 1, А схематически представлены мочеточники с мочевым пузырем и указанными областями регистрации активности. Как видно из рис. 1, Б, спонтанная электрическая активность мочеточников представлена высокоамплитудными, с быстрой начальной фазой всплесками типичных потенциалов действия [3, 4]. В отличие от строго ритмичного описанного автоматизма пейсмекерная активность мочевого пузыря представлена низкоамплитудными, с присущими ему не очень регулярными спайками, которые зачастую могли группироваться во вспышки [5, 6].

Сравнение исследуемых параметров потенциалов действия обоих мочеточников и мочевого пузыря выявило определенные различия в их значениях (рис. 2). Весьма интересен тот факт, что мочеточники, будучи парными органами с идентичной физиологической ролью, имеют различные величины характеризующей их активности. При этом левый мочеточник по сравнению с правым определяется более высокими значениями таких

показателей активности, как амплитуда, скорость нарастания пика и частота ритмогенеза.

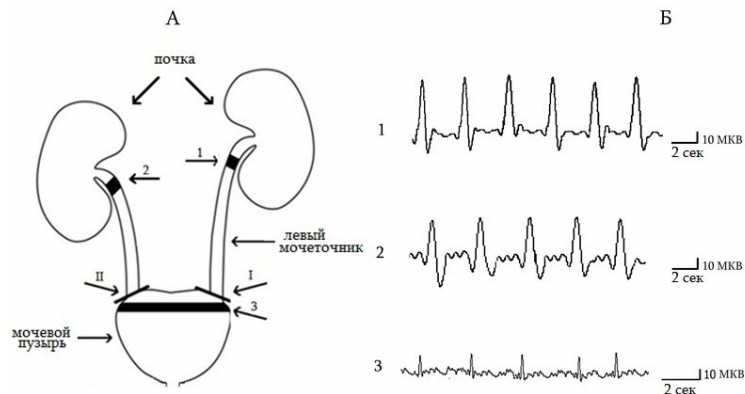


Рис. 1. А.– Схематическое изображение мочеточников и мочевого пузыря; Б.– спонтанная активность данных органов; 1, 2, 3 – соответственно зоны регистрации.

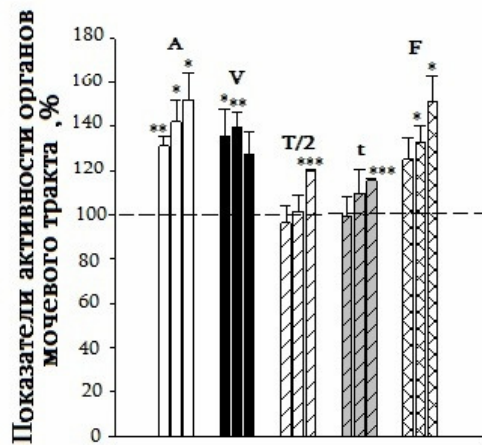


Рис. 2. Процентное соотношение показателей потенциалов действия левого и правого мочеточников и мочевого пузыря после введения гистамина по отношению к норме. Норма – штриховой контур. *P<0.05, **P<0.01, *** P<0.001. n=16.

Введение гистамина в бедренную вену животного в концентрации 10^{-4} М, являющейся оптимальной дозой для возбуждения органов мочевого тракта [16], сопровождается увеличением активности всех трех исследуемых органов. Для наглядности данный анализ проводился в процентах по

отношению к параметрам активности в норме (рис. 2). Данный медиатор способствует увеличению величин амплитуды потенциалов действия, средней скорости их нарастания и частоты ритмогенеза для того и другого мочеточников. При этом, несмотря на более высокие значения данных характеристик в норме, для левого мочеточника наблюдается меньшая возбудимость его активности при воздействии гистамина по сравнению с таковыми правого мочеточника. Так, изменения отмеченных параметров потенциалов действия соответственно равны: для левого мочеточника – 31.2, 37.7, 25 %; для правого мочеточника – 42, 39.3, 32.5 %. Вышеописанное поведение изменений характеристик спонтанной активности, видимо, связано с некой особенностью электрофизиологических свойств мочеточников, позволяющей компенсировать функцию одного из мочеточников при патологических условиях. Воздействие гистамина на спонтанную активность мочевого пузыря в отличие от мочеточников способствовало лишь значительному увеличению амплитуды потенциалов действия (на 51.9 %) и частоты ритмогенеза (на 51.3 %).

Таким образом, в результате анализа вышеприведенных изменений показателей активности всех трех органов выявлена способность гистамина формировать быстрые остроконечные потенциалы действия.

Анализ морфогистохимических данных показал, что методом выявления активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы на фронтальных срезах мочеточника и мочевого пузыря интактных крыс выявляются клеточные структуры стенки по всей длине обоих отделов мочевыделительной системы. Мочеточники состоят из трех слоев: внутреннего, слизистого; среднего, мышечного; наружного, адвентициального (серозной оболочки) (рис. 3, А, Б). Снаружи, непосредственно к субуротелию, прилегает мышечная оболочка, где количество продольных и циркулярных мышечных слоев варьирует в разных отделах мочеточника. Миогенные структуры наиболее интенсивно выявляются в окологочечном и околопузырном отделах мочеточника (рис. 3, А, Б).

Мочевой пузырь представляет собой полый орган, расположенный в опустошенном виде в тазовой полости. Он, так же как и мочеточник, состоит из трех слоев: внутреннего, слизистого; среднего, мышечного; наружного, серозного (рис. 3, В, в; Е, е). Снаружи стенка пузыря покрыта висцеральной брюшиной – серозной оболочкой. Выявление клеточных элементов мышечного слоя стенки мочевого пузыря почти идентично околопузырному отделу мочеточника, и среди большинства светлоокрашенных элементов обнаруживаются отдельные темноокрашенные (рис. 1, В, в).

Высокой активностью кислой фосфатазы обладают миогенные структуры краниального отдела мочевого пузыря (рис. 3, В, в). В этом отделе они очень четко выявляются и расположены равномерно, с умеренной степенью интенсивности окрашивания (рис. 3, В). Местами эти структуры плотно собираются в пучки, и создается впечатление диффузного затемненного окрашивания (рис. 3, в).

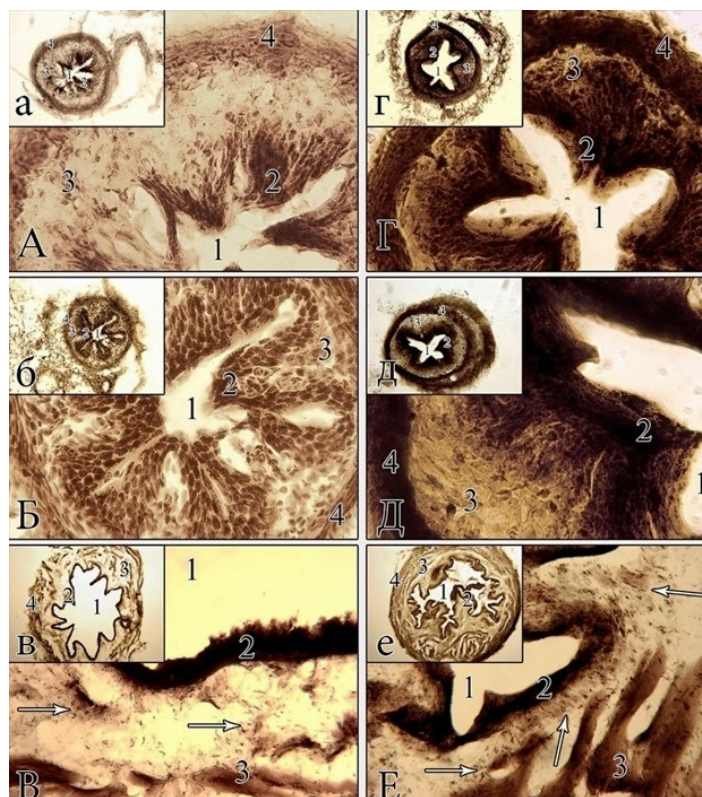


Рис. 3. Фронтальные срезы: околопочечной (А), околопузырной(Б) областей мочеточника и мочевого пузыря (В) интактной крысы; околопочечной (Г), околопузырной (Д) областей мочеточника и мочевого пузыря (Е) под воздействием гистамина; 1– просвет; 2 – слизистая оболочка; 3 – мышечный слой, гладкие миоциты; 4 – серозная оболочка; стрелки – клеточные элементы с высокой активностью кислой фосфатазы. Метод выявления активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы. Увеличение: $\times 25$ (в, е); $\times 100$ (Б, д, Е); $\times 160$ (а,б, г); $\times 400$ (А, Б, Г, Д); цифровое ув. 8 Мп.

Учитывая, что фосфорсодержащие соединения занимают ключевые позиции в обменных энергетических процессах клеток тканей органов, неудивительно, что неодинаковая чувствительность миогенных элементов как мочеточников, так и мочевого пузыря обусловлена различным уровнем окислительных процессов.

Проведен морфологический анализ характеристики воздействия гистамина. Выявлено интенсивное окрашивание клеточных элементов мышечной оболочки в отделах околопочечного участка мочеточника и краниального отдела мочевого пузыря, свидетельствующее о высоком функциональном состоянии указанных областей.

Под воздействием гистамина во всех исследуемых нами отделах мочеточника и в мочевом пузыре однозначно наблюдается усиление активности выявления кислой фосфатазы. Наибольшей интенсивностью окрашивания выделяются миогенные структуры околопочечного отдела мочеточника (рис. 3, Г, г). Активность кислой фосфатазы в клеточных структурах настолько усилена, что создается впечатление диффузного затемненного окрашивания (рис. 3, Г). В околопузырном отделе мочеточника (рис. 3, Д) и в краниальной части мочевого пузыря (рис. 3, Е, е) под воздействием гистамина отчетливо выявляются миогенные элементы, однако в сравнении с интактными животными здесь превалируют интенсивно окрашенные, которые повсюду скапливаются в темные глыбчатые образования (рис. 3, Д, Е). Данные морфо-гистохимических исследований показали, что на срезах выявляются все три слоя стенки мочеточника и мочевого пузыря, причем в слизистой и адвентициальной оболочках особых различий в степени интенсивности окрашивания разных отделов не наблюдается. Что же касается мышечной оболочки, то здесь наблюдаются значительные различия в метаболизме миогенных элементов, и наиболее интенсивно окрашиваются миогенные структуры вблизи почечной лоханки мочеточника и в краниальном отделе мочевого пузыря как интактных крыс, так и под воздействием гистамина.

Таким образом, вышеприведенные морфогистохимические результаты полностью подтверждают данные электрофизиологических исследований по воздействию гистамина на пейсмекерную активность комплексно взаимосвязанных друг с другом мочеточников и мочевого пузыря.

Институт физиологии им. Л. Орбели НАН РА

К. В. Казарян, М. А. Даниелян, Р. Г. Чибухчян, Э. Х. Мкртчян

Активация гистамином пейсмекерного ритмогенеза мочеточников и мочевого пузыря

Изучено воздействие гистамина на характеристики пейсмекерной активности мочеточников и мочевого пузыря в условиях их комплексной взаимосвязи. Сравнительный анализ показателей потенциалов действия исследуемых органов при воздействии гистамина выявил большее повышение значений в основном таких параметров активности, как амплитуда, скорость ее нарастания и частота ритмогенеза в основном для правого мочеточника. Введение гистамина способствует значительной активации также и автоматизма мочевого пузыря. Полученные данные свидетельствуют о полном соответствии морфогистохимических и электрофизиологических результатов.

**Ք. Վ. Ղազարյան, Մ. Հ. Դանիելյան, Ռ. Գ. Չիբուխյան,
Հ. Խ. Մկրտչյան**

**Հիստամինի ազդեցությամբ միզապարկի և միզաձորանների
ինքնաբուխ ռիթմոգենեզի ակտիվացումը**

Ուսումնասիրվել է հիստամինի ազդեցությունը միզապարկի և միզաձորանների ինքնաբուխ ակտիվության բնութագրերի վրա այդ օրգանների կոմպլեքս փոխազդեցության պայմաններում: Հիստամինի ազդեցությամբ ուսումնասիրվող օրգանների գործողության պոտենցիալների բնութագրերի համեմատական վերլուծությունը ցույց է տվել, հիմնականում աջ միզաձորանի համար, ակտիվության այնպիսի պարամետրերի արժեքների զգալի բարձրացում, ինչպիսիք են՝ ամպլիտուդան, նրա վերելքի արագությունը, ռիթմոգենեզի հաճախականությունը: Հիստամինի ներարկումը նպաստում է նաև միզապարկի ինքնավարության զգալի ակտիվացմանը: Ստացված արդյունքները փաստում են մորֆոհիստոքիմիական և էլեկտրաֆիզիոլոգիական արդյունքների միջև լիարժեք համապատասխանությունը:

**K. V. Kazaryan, M. H. Danielyan, R. G. Chibukhchyan,
H. Kh Mkrtchyan**

**Activation of Pacemaker Rhythmogenesis of Ureters
and Bladder with Histamine**

The effect of histamine on the characteristics of pacemaker activity of the ureters and bladder under conditions of complex interrelation of organs to each other was studied. Under histamine exposure the comparative analysis of the indicators of action potentials of the organs under study revealed a significant increase in the values of mainly such parameters of activity as amplitude, speed of its growth and frequency of rhythmogenesis, mainly for the right ureter. Histamine also contributes a significant activation of automatism of the bladder. The obtained results showed complete compliance of morphohistochemical results with electrophysiological results.

Литература

1. *McHale N. G., Hollywood M. A., Sergeant G. P., Shafei M., Thornbury K. T., Ward S. M.* – J Physiol. 2006. V. 576 (Pt 3). P. 689-94.
2. *McCloskey K. D.* – Handb Exp Pharmacol. 2011. V. 202. P. 233-54.
3. *Santicioli P., Maggi C. A.* – Pharmacol Rev. 1998. V. 50: № 4. P. 683-722.
4. *Osman F., Romics I., Nyírady P., Monos E., Nádasy G. L.* – Acta Physiol Hung. 2009. V. 96. № 4. P. 407-26.
5. *Drake M. J., Harvey I. J., Gillespie J. I.* – Exp. Physiologie. 2003. V. 88. P. 19-30.
6. *Andersson K. E., Arner A.* – Physiol Rev. 2004. V. 84. № 3. P. 935-86.
7. *Կազարյան Կ. Վ., Չիբուխյան Ք. Գ., Մկրտչյան Է. Խ.* – Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. 2017. Т. 103. № 8. С. 902-11.
8. *Bertaccini G., Zappia L., Bezzi E., Potnezoni D.* –Res. Commun. 1983. V. 15. P. 157-166.

9. Soll A.H. Toomey M., Culp D., Shanahan F., Beaven M. A. – Am J Physiol. 1988. Jan. V. 254 (1 Pt 1). G40-8.
10. Ugaily-Thulesius L., Thulesius O., Angelo-Khattar M., Sivanandasingham P., Sabha M. – Urol Res. 1988. V. 16. № 4. P. 287-93.
11. Neuhaus J., Weimann A., Stolzenburg J. U., Dawood W., Schwalenberg T., Dorschner W. – World J Urol. 2006. Jun. V. 24. № 2. P. 202-9.
12. Bennedito S., Prieto D., Rivera L., Costa Garcia-Saeriston A. – J. Urol. 1991. 1991.V. 146. № 1. P. 184-187.
13. Shuba M. F. – J. Physiol. 1977b. V. 246. P. 853-864.
14. Moore K., Agur A. In: Essential Clinical Anatomy. Third edition. Philadelphia. Lippincot Williams and Wilkins. 2007. P. 227-228.
15. Meliksetyan I. – Morfologia. 2007. V. 131. P. 77–80.
16. Казарян К. В., Ванцян В. Ц., Симонян Л. Г. – Рос. физиол. журн. 2011. Т. 97. № 12. С. 1319-1326.