

ЕЛЕНА НИКОЛАЕВНА КИВЕР

преподаватель кафедры безопасности жизнедеятельности и здоровьесберегающих технологий Института физической культуры, спорта и туризма, Петрозаводский государственный университет (Петрозаводск, Российская Федерация)

hoiya@yandex.ru

ВАЛЕНТИНА МИХАЙЛОВНА КИРИЛИНА

кандидат биологических наук, доцент, директор Института физической культуры, спорта и туризма, Петрозаводский государственный университет (Петрозаводск, Российская Федерация)

kirilina@petsu.ru

АНАТОЛИЙ НИКОЛАЕВИЧ ФЕДИН

доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории сравнительной физиологии дыхания, Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова РАН (Санкт-Петербург, Российская Федерация)

fedin_anatoliy_n@mail.ru

АЛЕКСАНДР ИВАНОВИЧ КРИВЧЕНКО

доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией сравнительной физиологии дыхания, Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова РАН (Санкт-Петербург, Российская Федерация)

office@iephb.ru

ВЛИЯНИЕ ГИСТАМИНОВЫХ H₂- И H₃-РЕЦЕПТОРОВ НА ГЛАДКУЮ МЫШЦУ НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ КРЫСЫ

Изучены изменения сократительной активности гладкой мышцы трахеи и бронхов при действии низких доз гистамина (0,1 и 10 мкг) на фоне блокады тормозных гистаминовых H₂- и H₃-рецепторов. Эксперименты проводили в условиях электрической стимуляции преганглионарных и постганглионарных нервных волокон и стимуляции мышцы. Блокатор H₂-рецепторов циметидин не изменял ответов гладкой мышцы при всех видах стимуляции. Гистамин на фоне действия циметидина усиливал сокращения трахеи и бронхов при стимуляции пре- и постганглионарных нервов и мышцы. Блокатор H₃-рецепторов бетагистин снижал ответы при стимуляции мышцы и постганглионарных нервных волокон, но не изменял величину сокращений при стимуляции преганглионарных нервов. Гистамин на фоне совместной блокады H₂- и H₃-рецепторов дозозависимо увеличивал ответы трахеи и бронхов при стимуляции преганглионарных нервов. Действие гистамина на фоне циметидина и бетагистина уменьшало амплитуду сокращений при стимуляции постганглионарных волокон, но не изменяло при электростимуляции мышцы. Заключение, что характер ответа зависит от локализации тормозных H₂- и H₃-рецепторов и их влияния на другие нервные структуры нижних дыхательных путей – постганглионарные нервные окончания и чувствительные окончания С-волокон.

Ключевые слова: гистаминовые рецепторы, гладкая мышца трахеи и бронхов, сократительная активность

ВВЕДЕНИЕ

Действие гистамина реализуется благодаря его связыванию со специфическими гистаминовыми рецепторами различных подтипов, которые выделяют на основании их биохимических свойств, локализации в области синапса и опосредуемых биологических эффектов. Все рецепторы гистамина принадлежат к метаболитическим рецепторам, связанным с G-белками (G protein-coupled receptors – GPCRs). Разные типы рецепторов гистамина сопряжены с разными типами G-белков: G_q, G_s и G_{i/o}, что позволяет опосредовать разные типы внутриклеточных сигналов. В настоящее время изучены гистаминовые H₁-, H₂-, H₃-, H₄-рецепторы, имеющие различное функциональное влияние, – рецепторы первого

типа являются активирующими, а H₂-, H₃- и H₄-рецепторы – тормозными [1], [2], [8], [12].

В респираторном тракте распространены гистаминовые рецепторы первого, второго и третьего типа; присутствие гистаминовых рецепторов четвертого типа к настоящему моменту остается спорным, хотя в литературе встречаются данные, что этот подтип обнаруживался в тканях легких [8]. В дыхательных путях гистаминовые рецепторы экспрессируются миоцитами гладких мышц трахеи и бронхов, кровеносных сосудов, хондроцитами, эндотелиоцитами, нейтрофилами, эозинофилами, моноцитами, дендритными клетками, Т- и В-лимфоцитами и собственно тучными клетками [2], [7], [11]. На местном (локальном) уровне гистаминергическая регуляция осуществляется

тучноклеточной системой нижних дыхательных путей и представителем разных типов гистаминовых рецепторов. При этом немаловажную роль играет то обстоятельство, где именно локализируются активирующие и тормозные подтипы гистаминовых рецепторов и на какие структуры дыхательных путей они оказывают свое непосредственное действие.

Целью нашей работы являлось изучение влияния тормозных гистаминовых H2- и H3-рецепторов при действии низких доз гистамина, близких к естественному физиологическому уровню в организме, на активность гладкой мышцы нижних дыхательных путей. Чтобы рассмотреть действие каждого подтипа рецепторов, мы использовали селективные гистаминовые блокаторы. Для изучения чистого эффекта тормозных H2- и H3-рецепторов действие активирующих H1-рецепторов устранялось во всех опытах. Исследовалось изменение величины сокращения гладкомышечной стенки трахеи и бронхов в условиях электрической стимуляции преганглионарных и постганглионарных нервных волокон, а также при стимуляции непосредственно мышцы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования являлись 32 крысы линии Вистар обоего пола с массой тела 180–350 г. Подготовленные препараты трахеи и бронхов помещались в специализированные камеры с физиологическим раствором Кребса – Хензеляйта, где поддерживался необходимый уровень кислорода и температурный режим. Для получения препаратов от грудной части трахеи и бронхов 2–6-го порядка выделялись сегменты длиной около 5 мм с обязательным включением бифуркации, в которых находятся нервные ганглии. Выделенные сегменты помещались в термостатируемую камеру, через которую проходила постоянная перфузия аэрированного раствора Кребса – Хензеляйта. При стимуляции преганглионарных нервов частота стимулов составляла 8 Гц, длительность 0,5 мс, амплитуда 20 В, продолжительность стимуляции 10 с. При стимуляции постганглионарных нервов частота стимулов составляла 30 Гц, длительность 0,5 мс, амплитуда 20 В, продолжительность стимуляции 10 с. При стимуляции мышцы частота стимулов составляла 30 Гц, длительность 2 мс, амплитуда 20 В, продолжительность стимуляции 10 с. Промежуток времени между стимуляциями составлял 2,5 мин. В ходе экспериментов экзогенно вводились следующие вещества: гистамин (в дозе 0,1 и 10 мкг) для изменения реактивности гладкомышечных клеток, циметидин (100 мкг/мл) – для устранения эффектов, опосредованных H2-рецепторами, супрастин (100 мкг/мл) – для устранения эффектов, опосредованных H1-рецепторами, бетагистин/бетасерк (100 мкг/мл) – для устранения эффектов, опосредованных H3-рецепторами. Циметидин подавался в экспериментальную камеру методом перфузии;

остальные вещества вводились аппликацией в объеме 0,2 мл. В исследовании вычислялись среднее значение признака и ошибка среднего. Достоверность различий двух средних величин определяли по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Электростимуляция мышцы

При перфузии блокатора H2-рецепторов гистамина циметидина в концентрации 10 мкг/мл достоверных изменений ответа гладкой мышцы не наблюдалось (трахея – $100,3 \pm 2,2$ %, бронхи – $95,3 \pm 2,1$ %). На фоне блокады H2-рецепторов гистамин дозозависимо усиливал ответы, вызванные стимуляцией электрическим полем непосредственно гладкомышечных клеток, и при дозе 10 мкг гистамина ответы трахеи достигали $110,5 \pm 3,2$ %, а бронхов – $115,3 \pm 4,3$ % ($P < 0,05$). Достоверных различий в ответах между трахеей и бронхами не выявлено (рис. 1).

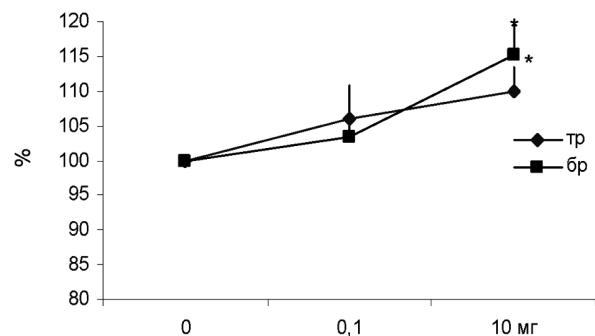


Рис. 1. Действие гистамина на сокращения гладкой мышцы трахеи и бронхов на фоне блокады H2-рецепторов. По оси абсцисс – концентрация гистамина в мкг, по оси ординат – изменения ответов в %. За 100 % принимается величина сокращений препаратов на фоне циметидина; тр и бр – трахея и бронхи соответственно; * – достоверные ($P < 0,05$) отличия эффекта гистамина

На фоне блокады H1- и H2-гистаминовых рецепторов блокатор H3-рецепторов бетасерк в концентрации 100 мкг/мл снижал ответы гладкой мышцы бронхов, вызванные стимуляцией гладкомышечных клеток, до $72,7 \pm 1,0$ % и ответы трахеи до $81,7 \pm 3,0$ %. Латентный период ответа увеличивался у препаратов бронхов с $0,97 \pm 0,12$ с, у препаратов трахеи – с $0,98 \pm 0,09$ с до $1,42 \pm 0,22$ с ($P < 0,05$). Кроме того, амплитуда расслабления на бронхах уменьшалась с $18,0 \pm 1,3$ до $7,6 \pm 1,4$ мг ($P < 0,05$), на трахее – с $22,5 \pm 1,3$ до $8,2 \pm 1,1$ мг. На фоне блокады трех гистаминовых рецепторов амплитуда сокращения и расслабления трахеи и бронхов под влиянием гистамина практически не изменялась.

Электростимуляция постганглионарных нервных волокон

Применение блокатора H2-рецепторов гистамина 10 мкг циметидина практически не меняло сокращения трахеи и бронхов. На фоне блокады

H2-рецепторов под действием гистамина дозозависимое усиление сокращений наблюдалось на бронхах при 0,1 мкг (до $109 \pm 2,2$ %), на трахее при дозе 10 мкг повышение амплитуды сокращения достигало $121,2 \pm 1,5$ % ($P < 0,05$). Ответы трахеи и бронхов имели значимые различия (рис. 2).

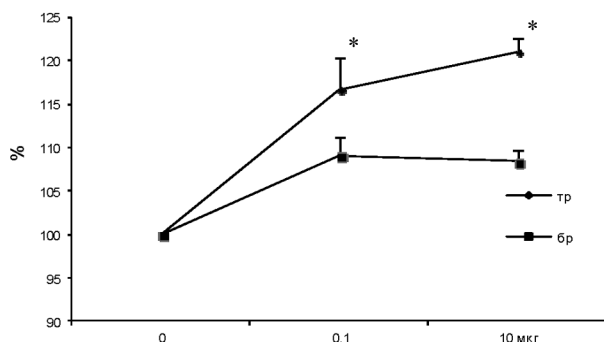


Рис. 2. Действие гистамина на сокращения гладкой мышцы трахеи и бронхов на фоне блокады H2-рецепторов. По оси абсцисс – концентрация гистамина в мкг, по оси ординат – изменения ответов в %. За 100 % принимается величина сокращений препаратов на фоне циметидина; * – достоверные ($P < 0,05$) отличия эффекта гистамина

При полной блокаде гистаминовых рецепторов 100 мкг/мл супрастина, 10 мкг/мл циметидина и 100 мкг/мл бетасерка на трахее и бронхах регистрировалось достоверное ($P < 0,05$) снижение сокращений, вызванных стимуляцией постганглионарных нервных волокон. На трахее величина сокращений составляла $90,03 \pm 2,3$ %, на бронхах – $87,54 \pm 2,8$ % от исходных значений.

0,1 мкг гистамина на фоне блокады всех трех гистаминовых рецепторов вызывал дальнейшее снижение сократительных ответов до $84,2 \pm 2,8$ % на трахее и до $76,5 \pm 2,5$ % на бронхах. Доза 10 мкг не изменяла ответов трахеи, но продолжала снижать сокращения бронхов до $71,0 \pm 2,9$ % ($P < 0,05$). При обеих дозах гистамина величина сокращений бронхов была достоверно ниже, чем трахеи (рис. 3).

Электростимуляция преганглионарных нервных волокон

Применение антагониста гистаминовых H2-рецепторов циметидина не изменяло ответов, вызванных стимуляцией преганглионарных нервов, на трахее и бронхах. Применение гистамина на фоне блокады H2-рецепторов вызывало усиление ответов на трахее (до $109,7 \pm 1,0$ %) и на бронхах (до $111,6 \pm 2,8$ %) ($P < 0,05$) при дозе 10 мкг гистамина (рис. 4). Различий в величине сокращений трахеи и бронхов не отмечалось.

Совместное действие циметидина, супрастина и антагониста H3-рецепторов гистамина бетасерка не изменяло величину сокращений трахеи и бронхов. Применение гистамина на фоне блока-

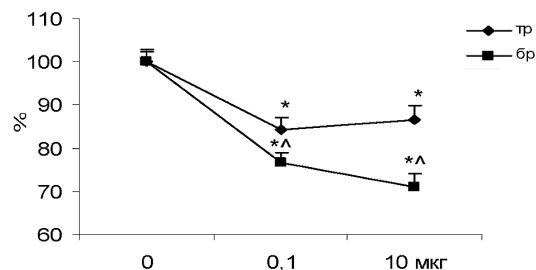


Рис. 3. Действие гистамина на сокращения гладкой мышцы трахеи и бронхов на фоне блокады H1-, H2- и H3-рецепторов. По оси абсцисс – концентрация гистамина в мкг, по оси ординат – изменения ответов в %. За 100 % принимается величина сокращений препаратов на фоне циметидина, супрастина и бетасерка; * – достоверные ($P < 0,05$) отличия эффекта гистамина; ^ – достоверные ($P < 0,05$) отличия между ответами препаратов трахеи и бронхов

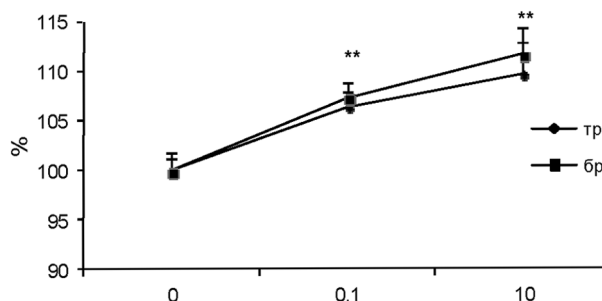


Рис. 4. Действие гистамина на фоне циметидина на сокращения трахеи и бронхов. По оси абсцисс – доза гистамина в мкг, по оси ординат – изменения ответов в %. За 100 % принимается величина сокращений препаратов трахеи и бронхов на фоне циметидина; тр, бр – трахея и бронхи соответственно; * – достоверные ($P < 0,05$) отличия эффекта гистамина

ды всех гистаминовых рецепторов дозозависимо увеличивало ответы трахеи до $113,4 \pm 2,5$ % и ответы бронхов до $121,4 \pm 3,4$ % ($P < 0,05$) при дозе 10 мкг (рис. 5).

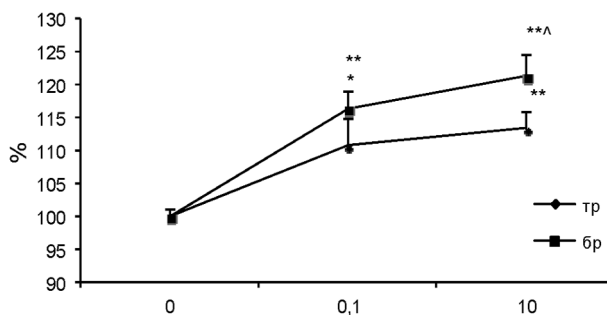


Рис. 5. Действие гистамина на фоне циметидина, супрастина, бетасерка на сокращения трахеи и бронхов: По оси абсцисс – доза гистамина в мкг, по оси ординат – изменения ответов в %. За 100 % принимается величина сокращений препаратов трахеи и бронхов на фоне циметидина, супрастина и бетасерка; * – достоверные ($P < 0,05$) отличия эффекта гистамина; ^ – достоверные ($P < 0,05$) отличия между ответами препаратов трахеи и бронхов

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

H₂-рецепторы локализованы на гладкомышечной ткани, а локализацию H₃-рецепторов связывают с тормозной HANX-системой [3]. При стимуляции мышцы блокада H₂-рецепторов приводила к усилению ответов трахеи и бронхов на гистамин, эффект на бронхах проявлялся сильнее, при блокаде H₃-рецепторов гистамин не изменял величины сокращения мышцы. Аналогичный результат был получен при изучении влияния блокаторов H₂- и H₃-рецепторов на тонические сокращения на препараты трахеи и бронхов быка [10]. Можно заключить: при воздействии на мышцу электрическим полем, что в некоторой степени можно рассматривать как влияние на тонус, H₃-рецепторы не принимают участия.

При стимуляции постганглионарных нервов блокада H₂-рецепторов не изменяла ответов мышцы на стимуляцию нервов, но вызывала усиление ответов на гистамин, причем на трахее сильнее, чем на бронхах. Блокада H₃-рецепторов приводила к одинаковому снижению ответов трахеи и бронхов до 90 %. После блокады H₃-рецепторов гистамин незначительно (на 5 %) уменьшал ответы на препаратах трахеи, а на препаратах бронхов – до 15 %. Таким образом, при стимуляции постганглионарных нервов, то есть в тех условиях, когда выделяется ацетилхолин из нервных окончаний, блокада H₂-рецепторов приводит к усилению сокращений гладкой мышцы трахеи и бронхов, а блокада H₃-рецепторов – к их снижению.

При стимуляции преганглионарных нервов блокада H₂- и H₃-рецепторов не изменяла величины сокращений, но усиливала ответы на гистамин, эффект проявлялся сильнее на бронхах при блокаде H₃-рецепторов. Учитывая, что при стимуляции постганглионарных нервов регистрируется снижение ответов, можно предположить, что тормозные H₃-рецепторы расположены на постганглионарных структурах. Усиление ответов при блокаде H₃-рецепторов и стимуляции преганглионарных нервов предполагает, что рецепторы локализованы на преганглионарных структурах, возможно, на чувствительных нервных окончаниях С-волокон. Известно, что H₃-рецепторы С-волокон могут снижать чувствительность этих окончаний к различным активизирующим, в том числе и патогенным агентам, действующим на С-волокна [4], [5].

На трахее морской свинки показано, что эффекты H₃-рецепторов связаны с холинергическими ганглиями, а именно с постганглионарными нервными окончаниями, через их активацию происходит торможение выхода медиатора из HANX нервов [6], [9]. Кроме того, имеются данные, показывающие, что H₃-рецепторы могут действовать как нейронные ингибирующие авторецепторы [12]. Можно предположить, что H₃-рецепторы располагаются на разных структурах дыхательных путей: на постганглионарных тормозных нервах и на чувствительных окончаниях С-волокон. При стимуляции пост- или преганглионарных нервов в большей степени проявляется действие тех или иных рецепторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Манина И. В., Сергеев А. Ю., Григорьева И. Н., Кудрявцева Е. В. Иммунопатология и биохимические основы терапии атопических состояний // *Лечащий врач*. 2012. № 4. С. 19–24.
2. Соколов А. С. Гистаминергическая система и ее роль в развитии аллергии // *Фарматека*. 2001. № 2. С. 34–36.
3. Burgaud J. L., Javellaud J., Oudart N. Bronchodilator action of an agonist for histamine H₃-receptors in guinea pig perfused bronchioles and lung parenchymal strips // *Lung*. 1992. Vol. 170 (2). P. 95–108.
4. Canning B. J., Mori N., Mazzone S. B. Vagal afferent nerves regulating the cough reflex // *Respir. Physiol. Neurobiol*. 2006. Jul. 28. Vol. 152 (3). P. 223–242.
5. De Swert K. O., Lefebvre R. A., Pauwels R. A., Joos G. F. Role of the tachykinin NK(1) receptor in mediating contraction to 5-hydroxytryptamine and antigen in the mouse trachea // *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2007. Vol. 20 (5). P. 588–595.
6. Ea-Kim L., Javellaud J., Oudart N. Exogenous irritant-induced airway hyperreactivity and inhibition of soluble guanylyl cyclase // *Biol. Res. Nurs.* 2008. Oct. Vol. 10 (2). P. 93–101.
7. Hill S. J. Distribution, properties, and functional characteristic of three classes of histamine receptor // *Pharmacol. Rev.* 1990. № 42. P. 45–83.
8. Huang J. F., Thurmond R. L. The new biology of histamine receptors. // *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2008. Mar. Vol. 8 (1). P. 21–27.
9. Ichinose M., Barnes P. J. Histamine H₃-receptors modulate nonadrenergic noncholinergic neural bronchoconstriction in guinea-pig in vivo // *Eur. J. Pharmacol.* 1989. Dec. Vol. 174 (1). P. 49–55.
10. Jolly S., Desmecht D. Functional identification of epithelial and smooth muscle histamine-dependent relaxing mechanisms in the bovine trachea, but not in bronchi // *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2003. Jan. Vol. 134 (1). P. 91–100.
11. Müller T., Myrtek D., Bayer H., Sorichter S., Schneider K., Zissel G., Norgauer J., Idzko M. Functional characterization of histamine receptor subtypes in a human bronchial epithelial cell Line // *Int. J. Mol. Med.* 2006. Nov. 18 (5). P. 925–931.
12. Repka-Ramirez M. S. New concepts of histamine receptors and actions // *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2003. May 3 (3). P. 227–231.

Kiver E. N., Petrozavodsk State University (Petrozavodsk, Russian Federation)

Kirilina V. M., Petrozavodsk State University (Petrozavodsk, Russian Federation)

Fedin A. N., Institute of evolutionary physiology and biochemistry I. M. Sechenov (St. Petersburg, Russian Federation)

Krivchenko A. I., Institute of evolutionary physiology and biochemistry I. M. Sechenov (St. Petersburg, Russian Federation)

HISTAMINE H2- AND H3-RECEPTORS' EFFECT ON SMOOTH MUSCLES OF THE RAT'S RESPIRATORY TRACT

All possible changes in contractile activity of the trachea's smooth muscle and in the smooth muscle of bronchi under the influence of the small dosage of histamine (0,1 и 10 mkg) in case of histamine H2- and H3- receptors' blockage were studied. The experiments were performed by means of electric field stimulation of preganglionic and postganglionic nerves and the muscle in focus. The blocker of H2-receptor, cimetidine, did not change any responses of the smooth muscle notwithstanding the types of stimulation. Histamine with cimetidine increased contractions of the trachea and bronchi during stimulation of the pre- and postganglionic nerves and muscles. The blocker of H3-receptors, betagistin, reduced responses of the stimulated muscle and postganglionic nerve fibers but did not change the magnitude of contractions under the stimulation of preganglionic nerves. Histamine with combined blockage of H2- and H3-receptors increased responses of the trachea and bronchi dose-dependent type during stimulation of preganglionic nerves. The effect of histamine in combination with cimetidine and betahistine diminished the amplitude of contractions under the stimulation of postganglionic fibers but did not change the volume of contraction during electrical stimulation of the muscle. It was concluded that the medical response depends on the location of the H2- blocker and H3-receptors and upon their influence on other neural structures of the lower respiratory tract – postganglionic nerve and sensory C-fibers.

Key words: histamine receptors, smooth muscle trachea and bronchies, contractile activity

REFERENCES

1. Manina I. V., Sergeev A. Yu., Grigor'eva I. N., Kudryavtseva E. V. Immunopathology and biochemical basis of treatment of atopic conditions [Immunopatologiya i biokhimicheskie osnovy atopicheskikh sostoyaniy]. *Lechashchiy vrach*. 2012. № 4. P. 19–24.
2. Sokolov A. S. Histaminergic system and its role in the development of Allergy [Gistaminergicheskaya sistema i ee rol' v razvitiy allergii]. *Farmateka*. 2001. № 2. P. 34–36.
3. Burgaud J. L., Javellaud J., Oudart N. Bronchodilator action of an agonist for histamine H3-receptors in guinea pig perfused bronchioles and lung parenchymal strips // *Lung*. 1992. Vol. 170 (2). P. 95–108.
4. Canning B. J., Mori N., Mazzone S. B. Vagal afferent nerves regulating the cough reflex // *Respir. Physiol. Neurobiol*. 2006. Jul. 28. Vol. 152 (3). P. 223–242.
5. De Swert K. O., Lefebvre R. A., Pauwels R. A., Joos G. F. Role of the tachykinin NK(1) receptor in mediating contraction to 5-hydroxytryptamine and antigen in the mouse trachea // *Pulm. Pharmacol. Ther*. 2007. Vol. 20 (5). P. 588–595.
6. Ea-Kim L., Javellaud J., Oudart N. Exogenous irritant-induced airway hyperactivity and inhibition of soluble guanylyl cyclase // *Biol. Res. Nurs*. 2008. Oct. Vol. 10 (2). P. 93–101.
7. Hill S. J. Distribution, properties, and functional characteristic of three classes of histamine receptor // *Pharmacol. Rev*. 1990. № 42. P. 45–83.
8. Huang J. F., Thurmond R. L. The new biology of histamine receptors. // *Curr. Allergy Asthma Rep*. 2008. Mar. Vol. 8 (1). P. 21–27.
9. Ichinose M., Barnes P. J. Histamine H3-receptors modulate nonadrenergic noncholinergic neural bronchoconstriction in guinea-pig in vivo // *Eur. J. Pharmacol*. 1989. Dec. Vol. 174 (1). P. 49–55.
10. Jolly S., Desmect D. Functional identification of epithelial and smooth muscle histamine-dependent relaxing mechanisms in the bovine trachea, but not in bronchi // *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol*. 2003. Jan. Vol. 134 (1). P. 91–100.
11. Müller T., Myrtek D., Bayer H., Sorichter S., Schneider K., Zissel G., Norgauer J., Idzko M. Functional characterization of histamine receptor subtypes in a human bronchial epithelial cell Line // *Int. J. Mol. Med*. 2006. Nov. 18 (5). P. 925–931.
12. Repka-Ramirez M. S. New concepts of histamine receptors and actions // *Curr. Allergy Asthma. Rep*. 2003. May 3 (3). P. 227–231.

Поступила в редакцию 18.07.2016