

А.В. Крысова¹, В.И. Циркин², С.В. Хлыбова³, А.А. Куншин¹, М.Г. Тарлавина⁴,
С.П. Норина⁴

**АДРЕНОРЕАКТИВНОСТЬ И ОСМОТИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ
ЭРИТРОЦИТОВ ЖЕНЩИН ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ПРОТЕКАЮЩЕЙ
БЕРЕМЕННОСТИ И ПРИ НАЛИЧИИ УГРОЗЫ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ
РОДОВ**

A.V. Krysova¹, V.I. Tsirkin², S.V. Khlybova³, A.A. Kunshin¹, M.G. Tarlavina⁴,
S.P. Norina⁴

**ADRENOREACTIVITY AND OSMOTIC RESISTANCE OF ERYTHROCYTES
AT NORMAL PREGNANCY AND THREATENED PRETERM LABOUR**

¹Вятский государственный гуманитарный университет;

²Казанский государственный медицинский университет;

³Кировская государственная медицинская академия;

⁴Кировская областная клиническая больница.

У 77 женщин исследовали осмотическую резистентность эритроцитов (ОРЭ), помещенных в дистиллированную воду, и их адренореактивность по изменению ОРЭ при действии адренергических средств. Установили, что при беременности, в том числе осложненной угрозой преждевременных родов (УПР), ОРЭ возрастает и сохраняется высокой в родах. Активация бета₂-адренорецепторов (АР) эритроцитов снижала ОРЭ, а эффективность активации этих рецепторов не менялась на протяжении менструального цикла (МЦ) и возрастала при беременности и в родах. Активация альфа-АР и бета₁-АР эритроцитов повышала ОРЭ, а ее эффективность изменялась на протяжении МЦ (возрастала в лютеиновую фазу и снижалась в фолликулярную) и при беременности (в I и II триместрах она осталась такой же низкой, как в фолликулярную фазу, а в III триместре и в родах она возрастала до уровня, характерного для лютеиновой фазы цикла). При УПР меняется эффективность активации АР эритроцитов (для бета₂-АР она снижается, а для альфа-АР и бета₁-АР - возрастает), что указывает на снижение силы бета-адренорецепторного ингибирующего механизма (бета-АРИМ) и на перспективность применения в терапии УПР не только бета-адреномиметиков, но экзогенных сенсibilизаторов бета₂-АР и блокаторов альфа-АР. Определение адренореактивности эритроцитов может использоваться в клинической практике как один из способов оценки состояния бета-АРИМ.

Ключевые слова: беременность, угроза преждевременных родов, осмотическая резистентность и адренореактивность эритроцитов, эндогенные модуляторы адренорецепторов.

The osmotic resistance of erythrocytes (ORE), estimated by the number of non-hemolyzed erythrocytes inserted in distilled water and changes in the ORE under the influence of adrenergic agents, have been studied in 77 women. It has been established that in case of pregnancy the ORE increase and keep near this level in labour as well as in women who threatened premature labour (TPL). Activation of beta₂-adrenoreceptors (AR) of erythrocytes decreased the ORE. The degree of this decrease, i.e. efficiency of beta₂-AR activation, remained unchanged during the menstrual cycle (MC) and rose under pregnancy and in labour. Activation of alpha-AR and beta₁-AR increased the ORE,

while its efficiency changed during the MC (it increased in luteal phase) and during pregnancy (in the I-st and II-nd trimesters it remained at the same low level as compared with the follicular phase, but in the III-d trimester and in labour it increased and reached the level typical for luteal phase of MC). The effectiveness of activation of erythrocyte's AR under the TPL (is decreases for beta₂-AR and increases for alpha-AR and beta₁-AR), that shows diminution of strength of beta-adrenoreceptor inhibit mechanism (beta-ARIM) and perspective of using either beta-adrenoceptor agonists and alfa-adrenoceptor blocators, and exogenic beta₂-adrenoceptor sensibilizators in TPL therapy. Definition of erythrocyte's adrenergic responsiveness can be used in clinical practice as one of ways of estimation a beta-ARIM condition.

Key words: pregnancy, threatened premature labour, osmotic resistance and adrenoreactivity of erythrocytes, endogenic modulators of adrenoreceptors.

Введение

Угроза преждевременных родов (УПР) и преждевременные роды (ПР) относятся к распространенным акушерским осложнениям – УПР наблюдается у 23-29% беременных [9,11,13], а ПР - у 4-12% беременных [11]. Вместе с тем, вопрос о патогенезе и диагностике этих осложнений остается открытым, в том числе в связи с тем, что до настоящего времени нет общепринятой точки зрения на механизмы регуляции сократительной деятельности матки (СДМ) у женщин при неосложненном течении беременности и родах. В последние годы обосновывается представление о том, что у женщин ведущую роль в создании оптимальных условий для вынашивания беременности играет бета-адренорецепторный ингибирующий механизм (бета-АРИМ), реализующийся за счет активации бета₂-адренорецепторов (АР) миометрия с участием катехоламинов и эндогенного сенсibilизатора бета-АР (ЭСБАР), содержащегося в крови и околоплодных водах [18,12,17]. С этих позиций предродовое и родовое повышение СДМ рассматривается как результат снижения силы бета-АРИМ, что позволяет за счет автоматии миометрия и действия окситоцина, серотонина и других веществ активировать СДМ. В рамках этой гипотезы предполагается [18,9,17], что УПР и ПР являются следствием досрочного снижения силы бета-АРИМ. Поэтому для диагностики и выбора оптимальной терапии этих состояний важным является оценка состояния бета-АРИМ. Ее предложено проводить различными способами, в том числе по адренореактивности эритроцитов, в том числе по адренозависимой СОЭ [18,5] и по адренозависимой осмотической резистентности эритроцитов, или ОРЭ [3,1]. Однако малочисленность таких исследований и неоднозначность трактовки их результатов наряду с несовершенством самих методов исследования адренореактивности эритроцитов указывают на необходимость дальнейшего ее изучения у беременных и рожениц, в том числе при наличии у них УПР. С учетом всего сказанного и принимая во внимание важность разработки эффективных методов лечения УПР и ПР, в работе была поставлена *цель* — *исследовать адренореактивность эритроцитов женщин при физиологически протекающей беременности и при наличии УПР, используя принципиально новый метод оценки ОРЭ* [6,19].

Методика исследований.

Исходную ОРЭ определяли по способу [19], основанному на определении числа негемолизированных эритроцитов (ЧНЭ) при их 30-, 45-, 60-, 90- и 120-секундной экспозиции в дистиллированной воде (ДВ), содержащей 2,5 мМ CaCl_2 . Адренореактивность эритроцитов оценивали по способу [6], основанному на изменении их ОР в условиях 45-секундной экспозиции в ДВ под влиянием адреналина или адреналина совместно с ницерголином (блокатором альфа-АР) и атенололом (блокатором бета₁-АР).

Исследовали капиллярную или венозную кровь, полученные с личного согласия исследуемых. Капиллярную кровь (в объеме 0,02 мл) получали у 18-25-летних соматически здоровых студенток (n=21) в фолликулярную (группа 1) или в лютеиновую фазу цикла (группа 2). Венозную кровь в объеме 1 мл, который вносили в пробирку с 0,2 мл водного раствора гепарина в концентрации 1 МЕ/мл, получали в женской консультации у 18-36-летних женщин (n=33) в I, II и III триместрах неосложненной беременности (соответственно на 4-11, 14-20 и 27-38 нед.; группы 3,4 и 5), в родильном отделении у 23-32-летних женщин (n=10) во время 1 периода неосложненных срочных (38-41 нед.) родов (группа 6), а также в отделении патологии беременных у 16-37-летних женщин (n=13) с УПР на сроках 20-36 нед. беременности до начала терапии (группа 7). Диагноз выставлялся в соответствии с общепринятым стандартом [2] по клинической картине и данным наружной гистерографии. Забор крови для исследования у этих женщин проводили до начала лечения. Оно включало токолитики, в том числе магнезию (2 женщин), блокатор кальциевой проницаемости нифедипин (2), а также седативные и спазмолитические средства. У всех этих женщин лечение оказалось эффективным.

Капиллярную или венозную кровь в объеме 0,02 мл добавляли в пробирку, содержащую 0,2 мл 0,9% раствора NaCl , гепарин в концентрации 1 МЕ/мл и 2,5 мМ CaCl_2 . Затем 0,02 мл этого 10-кратного разведения крови добавляли в пробирку, содержащую 0,4 мл 3% раствора NaCl . Это приводило к конечному разведению крови в 200 раз и позволяло оценить исходное число эритроцитов в 1 л крови, т.е. абсолютный контроль (АК). Эритроциты считали классическим методом [8], используя счетную камеру Алфéroва-Бюргера и микроскоп типа Биолам ЛОМО (ИМ13).

Для определения исходной ОРЭ в 5 пробирок вносили по 0,2 мл ДВ, содержащей 2,5 мМ CaCl_2 , и по 0,02 мл 10-кратно разведенной крови, а соответственно через 30с, 45с, 60с, 90с и 120с вносили по 0,2 мл 6% раствора NaCl . Это приводило к остановке гемолиза, к конечному разведению крови в 200 раз и к созданию среды (3% раствор NaCl), удобной для подсчета эритроцитов. Затем для каждой пробирки подсчитывали ЧНЭ, в том числе после 45-секундной экспозиции. Это число принимали в качестве экспозиционного контроля (ЭК₄₅). Для интегральной оценки ОРЭ рассчитывали также показатель T_{50} , т.е. длительность экспозиции, при которой ЧНЭ составляет 50%.

Для определения адренозависимой ОРЭ готовили ряд из 10 пробирок. Первые пять содержали по 0,2 мл ДВ, в которой помимо CaCl_2 (2,5 мМ) находился адреналин в соответствующей концентрации (10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} и 10^{-6} г/мл). Они служили для определения показателя $O_{\text{адр}}$, т.е. ЧНЭ после 45-секундной экспозиции эритроцитов в ДВ совместно с адреналином. Остальные пять пробирок вносили по 0,2 мл ДВ, в которой помимо CaCl_2 (2,5 мМ) содержались атенолол (10^{-6} г/мл), ницерголин (10^{-6} г/мл) и адреналин в исследуемой концентрации. Эти пробирки служили для определения показателя $O_{\text{адр+блок}}$, т.е. ЧНЭ после 45-секундной экспозиции эритроцитов в ДВ совместно с адреналином адреноблокаторами. Затем в каждую из десяти пробирок добавляли по 0,02 мл 10-кратного разведения крови, а через 45с для остановки гемолиза - по 0,2 мл 6% раствора NaCl и оценивали ЧНЭ. Для нивелирования разброса значений показателей $O_{\text{адр}}$ и $O_{\text{адр+блок}}$ их выражали в процентах к экспозиционному контролю ($ЭК_{45}$), т.е. к ЧНЭ после их 45-секундной экспозиции в ДВ в отсутствие адренергических средств.

Результаты исследования подвергали статистической обработке (в таблице они представлены в виде $M \pm m$), а различия оценивали непараметрическим методом Манна-Уитни, считая их достоверными при $p < 0,05$ [4].

Результаты исследования и их обсуждение

Исходная ОРЭ. Установлено (табл.1), что содержание эритроцитов в крови у небеременных женщин не зависит от фазы цикла и соответствует данным литературы [8]. Содержание эритроцитов у женщин в I, II и III триместрах беременности, у рожениц и у женщин с УПР было достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем у небеременных, что согласуются с данными литературы [20] и объясняется гемодиллюцией. Оценка ОРЭ показала (табл.1), что экспозиция эритроцитов в дистиллированной воде (ДВ) сопровождается гемолизом, интенсивность которого возрастала с увеличением длительности экспозиции. У небеременных женщин ОРЭ не зависела от фазы цикла. Уже в I триместре беременности (группа 3) ОРЭ становится выше, чем у небеременных, о чем свидетельствуют достоверные различия между группами (1,2 и 3) по ЧНЭ при 90- и 120 – секундных экспозициях. Во II триместре (группа 4) ОРЭ была выше, чем у небеременных (достоверно выявлено по ЧНЭ при всех пяти экспозициях и по T_{50}) и выше, чем у женщин в I триместре (достоверно выявлено по ЧНЭ при 30-секундной экспозиции). В III триместре и в родах ОРЭ оставалось такой же высокой, как и во II триместре.

Таким образом, при неосложненной беременности ОРЭ возрастает, достигая максимума во II триместре, и сохраняется на этом уровне в I периоде родов. Подобные данные были получены и [21]. Полагаем, что рост ОРЭ при беременности связан с уменьшением в мембране эритроцитов аквапоринов, которые, как известно [15,22], участвуют в трансмембранном транспорте воды, а также с увеличением растяжимости мембраны вследствие изменения ее липидных компонентов. Мы не исключаем, что характерная для беременности

гемодиллюция, облегчающая циркуляцию крови [20], обусловлена снижением трансмембранного переноса воды.

Таблица 1.

Число негемолизированных эритроцитов ($M \pm m$) при 30-, 45-, 60, 90 и 120-секундной экспозиции в дистиллированной воде (в % к абсолютному контролю, АК) и значение T_{50} ($M \pm m$), т.е. длительность экспозиции, при которой остается 50% негемолизированных эритроцитов.

Группа исследуемых	n	АК, в 1л ($\times 10^{12}$)	Время экспозиции в дистиллированной воде, с					T_{50} , с
			30	45	60	90	120	
1 Женщины, Фол. фаза	10	4,06 $\pm 0,13$	73,9 $\pm 3,6$	61,2 $\pm 4,5$	42,9 $\pm 4,7$	17,9 $\pm 2,4$	6,4 $\pm 1,3$	53,0 $\pm 3,2$
2 Женщины, лют. фаза	10	4,11 $\pm 0,17$	76,5 $\pm 4,4$	60,1 $\pm 3,8$	44,4 $\pm 4,7$	22,5 $\pm 3,3$	10,0 $\pm 2,2$	52,1 $\pm 4,4$
3.Беременные, I тр.; 4-11 нед.	11	3,52 $\pm 0,18$	75,9 $\pm 3,8$	68,4 $\pm 3,5$	53,2 $\pm 2,8$	42,5 $\pm 3,5$	30,0 $\pm 4,2$	69,0 $\pm 6,8$
4.Беременные, II тр., 14-20 нед.	11	2,86 $\pm 0,19$	87,7 $\pm 2,9$	75,3 $\pm 3,8$	62,4 $\pm 4,2$	49,0 $\pm 6,3$	36,6 $\pm 5,9$	77,0 $\pm 8,7$
5. Беременные, III тр., 27-38 нед.	11	3,35 $\pm 0,19$	83,4 $\pm 4,7$	74,2 $\pm 4,6$	63,5 $\pm 4,5$	47,2 $\pm 3,6$	34,7 $\pm 4,2$	84,4 $\pm 8,1$
6. Роженицы, 38-41 нед	10	3,02 $\pm 0,17$	89,6 $\pm 1,9$	79,9 $\pm 3,0$	62,0 $\pm 3,3$	48,0 $\pm 2,7$	37,9 $\pm 4,5$	85,3 $\pm 6,1$
7. УПР, 21-36 нед	13	3,25 $\pm 0,19$	87,5 $\pm 3,5$	72,2 $\pm 3,8$	60,9 $\pm 3,8$	47,2 $\pm 4,2$	33,2 $\pm 3,4$	83,9 $\pm 7,5$
Межгрупповые различия ($P < 0,05$)		$P_{1-3,4,5,6,7}$ $P_{2-3,4,5,6,7}$ P_{3-4}	$P_{1-4,6,7}$ $P_{2-4,6,7}$ $P_{3-4,6,7}$	$P_{1-4,5,6}$ $P_{2-4,5,6,7}$ P_{3-6}	$P_{1-4,5,6,7}$ $P_{2-4,5,6,7}$	$P_{1-3,4,5,6,7}$ $P_{2-3,4,5,6,7}$	$P_{1-3,4,5,6,7}$ $P_{2-3,4,5,6,7}$	$P_{1-5,6,7}$ $P_{2-3,4,5,6,7}$

Примечание - $P_{1-3,4,5,6,7}$ и подобные записи указывает на то, что группа 1 (или другая группа) достоверно ($p < 0,05$; по критерию Манна- Уитни) отличается от групп 3,4,5,6,7.

Впервые нами установлено, что при УПР (группа 7) ОРЭ сохранялась такой же высокой, как и во II и III триместрах неосложненной беременности (группы 4 и 5). Это означает, что при УПР, скорее всего, трансмембранный перенос воды в эритроцитах не нарушен.

Общая характеристика адренореактивности эритроцитов. Ранее в опытах с эритроцитами небеременных женщин мы показали [7], что активация адреналином бета₂-АР снижает ОРЭ, активации альфа-АР и бета₁-АР повышает ОРЭ, а одновременная блокада альфа-АР (ницерголином) и бета₁-АР (атенололом) усиливает способность адреналина снижать ОРЭ. Результаты, представленные в табл. 2 и 3, подтвердили эти данные и позволили сформулировать следующие 4 положения:

1) Эритроциты небеременных, беременных (в том числе при наличии УПР) и рожаящих женщин содержат альфа-АР, бета₁-АР и бета₂-АР. Действительно, в

опытах с интактными эритроцитами адреналин либо снижал ОРЭ, судя по уменьшению ЧНЭ (это указывает на доминирование эффективности активации бета₂-АР) либо не изменял ОРЭ (это говорит о балансе между бета₂-АР, с одной стороны, и альфа-АР и бета₁-АР с другой). В опытах же с эритроцитами, у которых блокированы альфа-АР и бета₁-АР, адреналин, как правило, снижал ОРЭ, причем, это снижение было более выражено, что при действии адреналина на интактные эритроциты.

Таблица 2.

Число негемолизированных эритроцитов при их 45-секундной экспозиции в дистиллированной воде совместно с адреналином (Адр; $O_{\text{адр}}$) или адреналина с блокаторами (Блок; $O_{\text{адр+блок}}$) - ницерголином (10^{-6} г/мл) и атенололом (10^{-6} г/мл), в процентах к ЭК₄₅, т.е. числу негемолизированных эритроцитов при их 45-секундной экспозиции в дистиллированной воде без адренергических средств.

Адренергическое средство	Концентрация адреналина, г/мл					P
	10^{-10}	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	
1. Женщины, фолликулярная фаза цикла (n=11; АК= 4,04±0,19 x10 ¹² ; ЭК ₄₅ =2,67±0,11x10 ¹²)						
Адр.	84,4±4,8*	87,2±4,9*	87,9±4,0*	91,5±4,5	98,9±9,5	-
Адр+Блок.	85,9±5,1*	82,4±9,3	80,9±4,9*	87,8±6,5	81,9±6,5*	-
2. Женщины, лютеиновая фаза цикла (n=10; АК= 4,12±0,18 x10 ¹² ; ЭК ₄₅ =2,85±0,15 x10 ¹²)						
Адр.	94,3±7,8	91,9±5,9	90,5±5,6	90,4±7,7	96,7±8,7	-
Адр+Блок.	87,6±4,6*	85,2±5,3*	97,9±6,7	86,7±4,4	82,1±7,2*	-
3. Беременные, I триместр, 4-11 нед (n=11; АК=3,52±0,18 x10 ¹² ; ЭК ₄₅ = 2,38±0,12 x10 ¹²)						
Адр.	82,2±5,9*	90,7±4,7	84,5±5,8*	82,9±5,7*	89,2±11,3	-
Адр+Блок.	85,4±7,4*	79,4±9,0*	82,5±5,9*	74,1±7,4*	76,9±6,1*	-
4. Беременные, II триместр, 14-20 нед., (n=11; АК =2,86±0,19 x10 ¹² ; ЭК ₄₅ =2,11±0,13 x10 ¹²)						
Адр.	78,2±4,9*	84,7±5,2*	87,5±4,3*	96,4±6,9	96,6±6,9	-
Адр+Блок.	82,0±8,1*	84,4±7,1*	90,2±6,8	81,3±9,3*	72,7±8,2*	-
5. Беременные III триместр 27-38 нед. (n=11; АК=3,35±0,19 x10 ¹² ; ЭК ₄₅ = 2,44±0,13 x10 ¹²)						
Адр.	88,3±7,7	84,9*±6,4	93,2±7,3	97,5±5,4	101,8±5,8	9-6
Адр+Блок.	74,6±7,1*	79,4±6,6*	75,0±5,4*#	77,2±3,4*#	70,8±3,3*#	-
6. Роженицы, I период родов 38-41 нед (n=10; АК=3,02±0,17-x10 ¹² ; ЭК ₄₅ = 2,39±0,11 x10 ¹²)						
Адр.	92,2±5,6	97,9±7,7	94,5±4,5	88,9±3,9*	87,2±5,6*	-
Адр+Блок.	67,1±3,5*#	65,6±4,2*#	67,2±4,2*#	67,4±4,3*#	66,3±4,5*#	-
7. УПР, 21-36 нед. (n=13; АК=3,25±0,19x10 ¹² ; ЭК ₄₅ =2,33±0,16 x10 ¹²)						
Адр.	109,3±6,1	101,4±5,6	95,7±3,8	100,6±4,8	97,8±5,9	-
Адр+Блок.	85,3±6,5* #	86,4±5,6	93,8±5,8	80,6±5,3 *#	82,3±7,3	-
P < 0,05 для $O_{\text{адр}}$	P _{7-3,4,5,6}	-	-	P _{7-3; P₅₋₃}	-	
P < 0,05 для $O_{\text{адр+блок}}$	P ₇₋₆	P _{7-5,6}	P ₅₋₂ P _{7-5,6}	P ₆₋₅	-	

Примечания: АК – абсолютный контроль, т.е. число эритроцитов в 1 л крови; Символы * и # означают, что различие с ЭК₄₅ (*) или с O_{Адр} (#) достоверно (p<0,05) по критерию Манна-Уитни. P - достоверность различий между показателями (O_{Адр} или O_{Адр+блок}), полученными в опытах с различными концентрациях адреналина; например, запись 10-8,6 означает, что значение, полученное при концентрации адреналина, равной 10⁻¹⁰ г/мл, достоверно (p<0,05 по критерию Манна-Уитни) отличается от значений, полученных при использовании адреналина в концентрации 10⁻⁸ и 10⁻⁶ г/мл; знак «- » – различия недостоверны (p>0,05).

2) Эффективность активации бета₂-АР эритроцитов, судя по уменьшению ЧНЭ при действии адреналина в условиях блокады альфа-АР и бета₁-АР, не меняется на протяжении менструального цикла и возрастает при беременности и в родах.

3) Эффективность активации альфа-АР и бета₁-АР эритроцитов, судя по изменению ЧНЭ при воздействии адреналина на интактные эритроциты, меняется на протяжении менструального цикла (возрастает в лютеиновую фазу и снижается в фолликулярную) и при беременности (в I и II триместрах она сохраняется такой же низкой, как в фолликулярную фазу цикла, а в III триместре и родах она возрастает до уровня, характерного для женщин в лютеиновой фазе цикла).

4) При УПР эффективность активации бета₂-АР ниже, а эффективность активации альфа-АР и бета₁-АР, наоборот, выше, чем у женщин с неосложненным течением беременности.

Для подтверждений этих положений рассмотрим первоначально результаты опытов с адреналином при наличии в среде адреноблокаторов, а затем — при действии адреналина в отсутствии блокаторов.

Влияние адреналина на ОРЭ на фоне блокады альфа-АР и бета₁-АР (табл.2 и 3). В опытах с эритроцитами женщин групп 1-6 адреналин, как правило достоверно снижал ОРЭ. Это проявлялось в снижении показателя O_{адр+блок}, т.е. ЧНЭ при их 45-секундной экспозиции в ДВ с 2,5 мМ CaCl₂ в присутствии адреналина, ницерголина и атенолола. При этом степень снижения значений показателя O_{адр+блок}, как правило, не зависела от концентрации адреналина (10⁻¹⁰ - 10⁻⁶ г/мл), но зависела от этапа репродуктивного процесса.

Действительно, у женщин в фолликулярной фазе цикла (группа 1) показатель O_{адр+блок} для адреналина в концентрациях 10⁻¹⁰, 10⁻⁹, 10⁻⁸, 10⁻⁷ и 10⁻⁶ г/мл составил соответственно 85,9%*, 82,4%, 80,9%*, 87,8% и 81,9%* от ЭК₄₅ (символ * здесь и ниже означает, что снижение ЧНЭ достоверно по критерию Манна-Уитни, p<0,05), т.е. адреналин достоверно снижал ОРЭ в трех концентрациях (10⁻¹⁰, 10⁻⁸ и 10⁻⁶ г/мл). У женщин в лютеиновую фазу цикла (группа 2) адреналин достоверно снижал ОРЭ в концентрациях 10⁻¹⁰, 10⁻⁹ и 10⁻⁶ г/мл. При этом все различия между группами 1 и 2 по значениям показателя O_{адр+блок} носили недостоверный (p>0,1) характер. Это означает, что

эффективность активации бета₂-АР в лютеиновую фазу была такой же, как в фолликулярную.

У женщин в I триместре беременности (группа 3) адреналин достоверно снижал ОРЭ в пяти концентрациях, что, несмотря на отсутствие достоверных различий с небеременными женщинами по показателю $O_{\text{адр+блок}}$, указывает на более высокую эффективность активации бета₂-АР по сравнению с небеременными. У женщин во II триместре беременности (группа 4) адреналин достоверно снижал ОРЭ в четырех, а у женщин в III триместре (группа 5) - в пяти концентрациях. При этом для каждой из пяти концентрации адреналина различия между группами 3, 4 и 5 по показателю $O_{\text{адр+блок}}$ носили недостоверный характер. В то же время в группе 5 способность адреналина в концентрации 10^{-8} г/мл снижать ОРЭ была достоверно выше, чем у женщин в лютеиновой фазе., т.е. в группе 2 (показатель $O_{\text{адр+блок}}$ в группе 5 был достоверно ниже, чем в группе 2 – 75,0% от ЭК₄₅ против 97,9%; $p < 0,05$). Таким образом, эффективность активации бета₂-АР возрастает уже в начале беременности и сохраняется на этом уровне во II и III триместрах беременности.

Таблица 3.

Достоверное (по критерию Манна-Уитни) снижение (▼) осмотической резистентности эритроцитов женщин при их 45-секундной экспозиции в дистиллированной воде (ДВ) под влиянием адреналина (10^{-10} - 10^{-6} г/мл) или адреналина совместно с ницерголином и атенололом (по данным таблицы 2).

Концентрация адреналина, г/мл	Группы женщин						
	1 (фол. фаза)	2 (лют. фаза)	3 (I тр.)	4 (II тр.)	5 (III тр)	6 (роды)	7 (УПР)
Адреналин							
10^{-10}	▼	-	▼	▼	-	-	-
10^{-9}	▼	-	-	▼	▼	-	-
10^{-8}	▼	-	▼	▼	-	-	-
10^{-7}	-	-	▼	-	-	▼	-
10^{-6}	-	-	-	-	-	▼	-
Адреналин совместно с ницерголином и атенололом (оба-10^{-6} г/мл)							
10^{-10}	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼
10^{-9}	-	▼	▼	▼	▼	▼	-
10^{-8}	▼	-	▼	-	▼	▼	-
10^{-7}	-	-	▼	▼	▼	▼	▼
10^{-6}	▼	▼	▼	▼	▼	▼	-

Примечание: «-» означают , что адреналин не влияет на ОРЭ

У рожениц (группа 6) адреналин достоверно снижал ОРЭ во всех пяти концентрациях. Для каждой из них различия группы 6 с группами 3, 4 и 5 носили недостоверный характер. Исключение составила концентрация адреналина,

равная 10^{-7} г/мл, которая в группе 6 снижала ОРЭ более выражено, чем в группе 5 (показатель $O_{\text{адр+блок}}$ составил 67,4%* от ЭК₄₅ против 77,2%*; $p_{6-5} < 0,05$). Это означает, что в родах эффективность активации бета₂-АР не только не снижается, как предполагалось ранее [18], а даже возрастает.

У женщин с УПР (группа 7) адреналин достоверно снижал ОРЭ только в двух концентрациях (10^{-10} и 10^{-7} г/мл). В этой группе способность адреналина снижать ОРЭ была достоверно ниже, чем у беременных в III триместре (группа 5) и у рожениц (группа 6). Действительно, достоверные ($p < 0,05$) различия группы 7 с группой 5 отмечены для адреналина в концентрации 10^{-9} г/мл (показатель $O_{\text{адр+блок}}$ составил соответственно 86,4% против 79,4%*) и 10^{-8} г/мл (93,8% против 75,0%*). Достоверные различия группы 7 с группой 6 выявлены для концентраций 10^{-10} , 10^{-9} и 10^{-8} г/мл (показатель $O_{\text{адр+блок}}$ составил соответственно 85,3%* против 67,1%*; 86,4% против 65,6%* и 93,8% против 67,2%*). Все это означает, что эффективность активации бета₂-АР при УПР достоверно ниже, чем у женщин в III триместре неосложненной беременности и в родах.

Влияние адреналина на ОРЭ в отсутствии адrenoблокаторов (табл. 2 и 3). В опытах с эритроцитами женщин групп 1-6 адреналин либо не влиял на ОРЭ, либо снижал ОРЭ, т.е. уменьшал значения показателя $O_{\text{адр}}$, а степень этого снижения, как правило, не зависела от концентрации адреналина (10^{-10} - 0^{-6} г/мл), но зависела от этапа репродуктивного процесса.

Действительно, у небеременных женщин в фолликулярную фазу цикла (группа 1) адреналин достоверно снижал ОРЭ в трех концентрациях (10^{-10} , 10^{-9} и 10^{-8} г/мл), а у женщин в лютеиновую фазу ни в одной из пяти концентраций адреналин не изменял ОРЭ. С учетом того, что группы 1 и 2 не различались между собой по влиянию адреналина на ОРЭ в условиях блокады альфа-АР и бета₁-АР, эти данные мы объясняем тем, что в лютеиновую фазу цикла в эритроцитах повышается эффективность активации альфа-АР и бета₁-АР при неизменности эффективности активации бета₂-АР.

У женщин в I (группа 3) и II триместре (группа 4) беременности адреналин достоверно снижал ОРЭ в трех концентрациях (для группы 3 – это 10^{-10} , 10^{-8} и 10^{-7} г/мл, а для группы 4 - 10^{-10} , 10^{-9} и 10^{-8} г/мл), т.е. как и у женщин в фолликулярную фазу цикла. Это свидетельствует о том, что в I и II триместрах беременности эффективность активации альфа-АР и бета₁-АР эритроцитов сохраняется такой же низкой, как у небеременных женщин в фолликулярную фазу цикла. Этот вывод не противоречат нашим данным о повышении эффективности активации бета₂-АР в I и II триместре беременности. У женщин в III триместре беременности (группа 5) адреналин достоверно снижал ОРЭ лишь в концентрации 10^{-9} г/мл. При этом способность адреналина в концентрации 10^{-7} г/мл снижать ОРЭ у этих женщин была достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем у женщин группы 3 (показатель $O_{\text{адр}}$ составил 97,5% против 82,9%*). Вместе с приводимыми выше данными о высокой эффективности активации бета₂-АР в

группе 5, все это означает, что в III триместре беременности в эритроцитах эффективность активации альфа-АР и бета₁-АР эритроцитов повышается по сравнению с I и II триместром и становится такой же, как у женщин в лютеиновую фазу цикла.

У рожениц (группа 6) адреналин достоверно снижал ОРЭ в двух концентрациях (10^{-7} и 10^{-6} г/мл). Хотя эти женщины не отличались достоверно от женщин групп 1-5 по показателю $O_{\text{адр}}$, тем не менее, с учетом приводимых выше данных, в том числе о высокой эффективности активации бета₂-АР в родах, это означает, что у рожениц эффективность активации альфа-АР и бета₁-АР эритроцитов выше, чем у беременных в I и II триместрах.

У женщин с УПР (группа 7) адреналин ни в одной из исследуемых концентраций не снижал ОРЭ. Способность адреналина снижать ОРЭ у беременных с УПР была ниже, чем у женщин в I, II и III триместрах неосложненной беременности и у рожениц. Это установлено для адреналина в концентрации 10^{-10} г/мл (показатель $O_{\text{адр}}$ составил 109,3% против соответственно 82,2%*, 78,2%*, 88,3% и 92,2% от ЭК₄₅, $p_{7-3,4,5,6} < 0,05$). Даже с учетом того, при УПР снижается эффективность активации бета₂-АР, все эти данные позволяют заключить, что при УПР существенно возрастает эффективность активации альфа-АР (и бета₁-АР), в результате чего она становится выше, чем у женщин с неосложненным течением беременности, и выше, чем у женщин в латентную фазу первого периода срочных родов.

Обсуждение

Наши результаты указывают на то, что адренореактивность эритроцитов, т.е. эффективность активации АР зависит от этапа репродуктивного процесса. В частности, они свидетельствуют о том, что при физиологическом течении беременности существенно возрастает эффективность активации бета₂-АР, которая сохраняется высокой и в родах (по крайней мере, в латентную фазу I периода родов), а эффективность активации альфа-АР и бета₁-АР существенно возрастает в конце беременности и в родах. Наши данные о повышении эффективности активации бета₂-АР согласуются с результатами исследования адренозависимой СОЭ [5]. Кроме того, вместе с впервые установленными нами данными о предродовом повышении эффективности активации альфа-АР и бета₁-АР, они подтверждают концепцию о наличии бета-АРИМ и его ключевой роли в торможении СДМ при беременности [18,12,17]. Наши данные также подтверждают представление ряда авторов [5,14,1] о том, что адренореактивность эритроцитов отражает адренореактивность клеток внутренних органов, в том числе миоцитов матки. С учетом данных о повышении при беременности в крови содержания эндогенного сенсibilизатора бета-АР, или ЭСБАР [18,12,17] и снижении содержания в ней эндогенного сенсibilизатора альфа-АР, или ЭССАР [10], мы полагаем, что эта способность безъядерных эритроцитов крови связана с тем, что изменение

адренореактивности клеток организма происходит не только под влиянием гормонов, регулирующих экспрессию генов соответствующих рецепторов, но и в результате встраивания эндогенных модуляторов клеточных рецепторов типа ЭСБАР и ЭССАР в мембрану клеток, в том числе эритроцитов.

УПР, как известно [11,2], характеризуется повышенной СДМ, что с позиций концепции о бета-АРИМ рассматривается как следствием низкой эффективности активации бета₂-АР миометрия [18,12,17]. Наши исследования ОР эритроцитов, помещаемых в ДВ, впервые показали, что при УПР эффективность активации бета₂-АР эритроцитов снижена. К подобному заключению пришли Гусева Е.В. и соавт. [5], исследуя адренозависимую СОЭ, а также Бабин А.П. и соавт. [3], изучавшие адренозависимую ОР эритроцитов, помещаемых в гипотонический (0,42% NaCl) раствор. Нами впервые показано, что при УПР помимо снижения эффективности активации бета₂-АР возрастает эффективность активации их альфа-АР и бета₁-АР. Все это вместе с данными о снижении у женщин с УПР способности внутривенно вводимого бета₂-адреномиметика партусистена угнетать СДМ и о повышении способности маммарного теста усиливать СДМ [9] подтверждает представление о том, что УПР является следствием снижения сила бетаАРИМ. Кроме того, они подтверждают представление о том, что эритроциты могут отражать адренореактивность миометрия. Это означает, что оценку состояния бета-АРИМ и диагностику УПР можно проводить по изучению адренореактивности эритроцитов, в том числе по адренозависимым ОРЭ и СОЭ.

Вопрос о причинах изменения при УПР эффективности активации АР эритроцитов и АР миоцитов матки остается неясным. С позиций представлений о том, что эффективность активации АР определяется уровнем в крови соответствующих эндогенных модуляторов, можно ожидать, что при УПР содержание в крови ЭСБАР снижено, а содержание ЭСААР повышено. Однако пока исследования не выявили снижение содержания ЭСБАР [9] и рост содержание ЭССАР [10]. Однако мы не исключаем, учитывая гетерогенность формирования УПР (например, вследствие инфекции или иммунного конфликта между матерью и плодом), что дальнейшие исследования, выполненные на большом клиническом материале, подтвердят наше представление о том, что одной из причин развития УПР и ПР является изменение содержания в организме матери эндогенных модуляторов АР. С этих позиций и с учетом данных о наличии экзогенных аналогов ЭСБАР, например, милдроната и гистидина [18,12,16], мы не исключаем, что при лечении УПР с помощью бета₂-адреномиметиков может быть эффективно применение аналогов ЭСБАР, например милдронатом, а также блокаторов альфа-АР, например, ницерголин.

Выводы:

1. Осмотическая резистентность эритроцитов (ОРЭ), которая у женщин не зависит от фазы МЦ, возрастает при беременности, в том числе, осложненной УПР и не снижается в родах.

2. На всех этапах репродуктивного процесса эритроциты содержат альфа-АР, бета₁-АР и бета₂-АР. Активация альфа-АР и бета₁-АР повышает ОРЭ, а активация бета₂-АР снижает ее.

3. Эффективность активации бета₂-АР эритроцитов не меняется на протяжении менструального цикла, но возрастает при беременности и в родах

4. Эффективность активации альфа-АР и бета₁-АР меняется на протяжении менструального цикла (возрастает в лютеиновую фазу цикла и снижается в фолликулярную) и при неосложненном течении беременности (в I и II триместрах беременности сохраняется на таком же низком уровне, как в фолликулярную фазу цикла, и возрастает в III триместре и родах).

5. При УПР изменена эффективность активации АР эритроцитов (для бета₂-АР она снижена, а для альфа-АР и бета₁-АР - повышена), что указывает на снижение силы бета-АРИМ и перспективность терапии с участием экзогенных сенсibilизатора бета-АР и блокаторов альфа-АР.

6. Определение адренореактивности эритроцитов по адренозависимой ОРЭ может использоваться как один из способов оценки состояния бета-АРИМ.

Список литературы:

1. Адамян Л.В., Смольникова Т.Ю., Длусская И.Г., Стрюк Р.И., Ляшко Е.С., Бейлин А.Л., Мисхин С.В., Герасимов А.Н., Брагинская С.Г. Метод оценки адренореактивности организма (β-АРМ) у беременных для прогнозирования течения родов // Проблемы репродукции. 2006. № 1. С.91-97.
2. Айламазян Э.К., Кулаков В.И., Радзинский В.Е., Савельева Г.М. (ред). _ Акушерство. Национальное руководство. М.: «Гэотар-Медиа», 2007. 1197с.
3. Бабин А.П., Дворянский С.А., Циркин В.И., Трошкина Н.А., Гусева Е.В., Круть И.Ю., Костяев А.А. Изменение осмотической резистентности и адренореактивности эритроцитов у женщин при беременности // Гемореология в микро- и макроциркуляции: Материалы международной конференции. Ярославль, 2005. С. 196.
4. Гланц С.Медико-биологическая статистика.М.:Практика, 1999. 459 с.
5. Гусева Е.В., Дворянский С.А., Циркин В.И. β-адренореактивность эритроцитов женщин при нормальных и осложненных родах//Акушерство и гинекология.1998.№4.С. 17-22.
6. Крысова А.В., Циркин В.И. Способ оценки альфа- и бета₂-адренореактивности эритроцитов человека по изменению их осмотической резистентности под влиянием адреналина и адреноблокаторов: приоритетная справка № 2011134138/17(050548) от 17.08.2011
7. Крысова А.В., Куншин А.А., Циркин В.И. Роль альфа- и бета-адренорецепторов в реализации способности адреналина изменять осмотическую резистентность эритроцитов небеременных женщин //Вятский мед. вест.2011. № 4.С.10– 15.
8. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. М.:ГЭОТАР- Медиа, 2007. 800 с.

- 9.Осокина А. А. Клинико-лабораторная характеристика β -адренергического механизма при угрозе преждевременных родов // автореф.... дис. к.м.н. Казань, 1998. 20с.
- 10.Самоделкина Е.О., Циркин В.И., Хлыбова С.В., Костяев А.А., Тарлавина М.Г., Норина С.П. Альфа-адреномодулирующая активность сыворотки крови небеременных и беременных женщин //Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. 2010.Т.8, выпуск 3. С. 52-58.
- 11.Сидельникова В.М., Антонов А.Г. Преждевременные роды. Недоношенный ребенок. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 448 с.
- 12.Сизова Е.Н., Циркин В.И. Физиологическая характеристика эндогенных модуляторов β -адрено- и М-холинореактивности. Киров: Изд-во ВСЭИ, 2006. 183с.
- 13.Скворцова М.Ю., Подзолкова Н.М. Профилактика репродуктивных потерь и осложнений гестации у пациенток с невынашиванием беременности // Гинекология. 2010. Т.12, №1.С.40-42.
- 14.Стрюк Р.И., Длусская И.Г. Адренореактивность и сердечно-сосудистая система. М.: Медицина, 2003. 160 с.
- 15.Титовец Э.П. Аквапорины человека и животных: фундаментальные и клинические аспекты. Минск: Белорус. наука, 2007. 239 С.
- 16.Торопов А.Л., Циркин В.И., Костяев А.А. Совместное действие сыворотки крови как источника эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов и его аналогов –гистидина, триптофана, тирозина, милдроната и предуктала //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.2011.Т.151,№ 1. С.96-99.
- 17.Хлыбова С. В. Состояние адренергического механизма и содержание свободных аминокислот при физиологическом течении гестационного процесса и ряде акушерских осложнений: автореф. дисс...д.м.н. М., 2007. 32 с.
- 18.Циркин В.И., Дворянский С.А. Сократительная деятельность матки (механизмы регуляции). Киров, 1997. 270 с
- 19.Циркин В.И., Крысова А.А., Куншин А.А. Способ оценки осмотической резистентности эритроцитов. Патент на изобретение Ru № 2419792 С1 от 07.12.2009. Описание изобретения к патенту РФ. Бюллетень № 5, 2011.
- 20.Шехтман М.М. Руководство по экстрагенитальной патологии у беременных. М.: Триада-Х, 2004. 815с.
- 21.Bordin L, Quartesan S, Zen F, Vianello F, Clari G. Band 3 tyr-phosphorylation in human erythrocytes from non-pregnant and pregnant women// Biochim Biophys Acta. 2006. Vol. 1758, № 5. P. 611-619
22. Campos E, Moura TF, Oliva A, Leandro P, Soveral G. Lack of Aquaporin 3 in bovine erythrocyte membranes correlates with low glycerol permeation.// Biochem Biophys Res Commun.2011. Vol.408, № 3. P 477-481.

Сведения об авторах:

1. Крысова Анна Владимировна - очный аспирант кафедры биологии человека и животных Вятского государственного гуманитарного университета.
2. Циркин Виктор Иванович – д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии Казанского государственного медицинского университета, профессор кафедры биологии и научный руководитель НИЛ «Физиологии мышц и биологически активных веществ» Вятского государственного гуманитарного университет, e-mail: tsirkin@list.ru
3. Куншин Алексей Александрович – к.б.н., доцент ВСЭИ, внештатный научный сотрудник кафедры нормальной физиология
4. Хлыбова Светлана Вячеславовна – д.м.н., доц., заведующая каф. акушерства и гинекологии ИПО
5. Тарлавина Маргарита Геннадьевна – врач гинекологического отделения Кировской областной клинической больницы
6. Норина Софья Павловна – врач гинекологического отделения Кировской областной клинической больницы