

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА И КЛИНИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

Демина Н.Л., Циркин В.И., Тарловская Е.И.,
Кашин Р.Ю., Пенкина Ю.А.

СОДЕРЖАНИЕ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ЭНДОГЕННЫХ МОДУЛЯТОРОВ α - И β -АДРЕНО- И М-ХОЛИНОРЕАКТИВНОСТИ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

*Вятский государственный
гуманитарный университет,*

ГОУ ВПО Кировская ГМА Росздрава, г. Киров

Список сокращений: АГ – артериальная гипертензия; АР- адренорецепторы; ЛФХ – лизофосфатидилхолин; М-ХР - М-холинорецепторы; СА - сократительная активность, ст.- стадия; ЭАСМ – эндогенный активатор сократимости миоцитов; ЭБААР- эндогенный блокатор α -АР; ЭББАР - эндогенный блокатор β -АР; ЭСААР - эндогенный сенсibilизатор α -АР; ЭСБАР - эндогенный сенсibilизатор β -АР; ЭБМХР - эндогенный блокатор М-ХР; ЭСМХР - эндогенный сенсibilизатор М-ХР.

Вопрос о механизмах формирования артериальной гипертензии (АГ) постоянно находится в центре внимания исследователей [3, 4, 7, 20-25]. Но в рамках этого направления не рассматривалась роль эндогенных модуляторов α - и β -адрено- и М-холинореактивности, хотя высказано предположение о том, что дефицит β -адренергических воздействий на миокард является одной из причин развития АГ, так как при низкой их эффективности компенсаторно возрастает продукция катехоламинов и это ведет к гипертрофии миокарда и другим изменениям, лежащим в основе АГ [3, 20, 22, 25]. Предположение о наличии в организме системы эндогенных модуляторов хемореактивности, в том числе эндогенных сенсibilизаторов α - и β -адренорецепторов (ЭСААР и ЭСБАР), эндогенных блокаторов α -АР и β -АР (ЭБААР и ЭББАР), а также эндогенного сенсibilизатора и эндогенного блокатора М-холинорецепторов (ЭСМХР, ЭБМХР) было сформулировано в нашей лаборатории на основе изучения влияния различных разведений (1:10, 1:50, 1:100, 1:500, 1:10³, 1:10⁴) сыворотки крови человека на сократительные ответы гладких мышц матки и желудка крысы, коронарной артерии свиньи, трахеи коровы и миокарда лягушки и крысы на воздействие адреналина или ацетилхолина [5, 6, 8-19]. При этом было показано, что β -адреносенсibilизирующая активность сыворотки крови зависит: 1) от пола - она выше у девочек и женщин, чем у

мужчин [9, 11]; 2) от этапа репродуктивного процесса у женщин -- возрастает при беременности [9-11]; 3) от наличия соматических заболеваний - в частности, она снижается при остром инфаркте миокарда [5] и при бронхиальной астме [16]. Показано, что М-холиноблокирующая активность сыворотки, в основном, зависит от наличия соматических заболеваний; в частности, она снижается при бронхиальной астме [16, 17], гиперацидном гастрите [17] и, в определенной степени, при остром инфаркте миокарда [5]. Сведения в отношении α -адреномодулирующей активности сыворотки крови взрослых людей в литературе отсутствуют. Целью данной работы явилось изучение α - и β -адрено- и М-холинореактивности сыворотки крови у пациентов с АГ II и III стадиями (ст.). С учетом данных литературы [9, 11, 21, 25], считали возможным для исследования α -адреномодулирующей активности сыворотки крови использовать в качестве тест-объекта циркулярные полоски почечной артерии коровы, а для оценки ее β -адрено- и М-холинореактивности - продольные полоски рога матки небеременных крыс и изолированное сердце лягушки, для которых, как известно [9, 11, 21], характерна высокая β -адрено- и М-холинореактивность.

Материал и методы исследования

Исследовали кровь 86 нормотензивных добровольцев, а также 120 пациентов с АГ из кардиологического отделения КОКБ. Обследуемые были в возрасте от 40 до 55 лет. Средний возраст ($M \pm m$) женщин и мужчин без АГ составил 45,6 $\pm$ 0,8 и 46,1 $\pm$ 0,3 лет, с АГ II ст. - 50,1 $\pm$ 0,7 и 47,5 $\pm$ 0,7 лет, а с АГ III ст. - 53,5 $\pm$ 1,0 и 50,2 $\pm$ 0,5 года. Длительность заболевания у женщин и мужчин с АГ II ст. составила соответственно 7,2 $\pm$ 0,3 и 5,8 $\pm$ 0,4 лет, а с АГ III ст. - 10,1 $\pm$ 0,8 и 8,5 $\pm$ 0,9 лет. Среди пациентов с АГ III ст. в сравнении с пациентами с АГ II ст. было больше лиц с 4 группой риска (у женщин - 94,4% против 41,7%, у мужчин - 93,3% против 29,0%) и лиц с II стадией хронической сердечной недостаточности (у женщин - 86,3% против 49,8%, у мужчин - 68,9% против 17,2%). У женщин и мужчин с АГ III ст. была ниже толерантность к физическим нагрузкам (соответственно 25,0 $\pm$ 25,0 против 91,0 $\pm$ 5,4 Вт и 130,2 $\pm$ 7,3 против 148,0 $\pm$ 5,4 Вт). Лекарственная терапия (чаще - комбинированная) включала прием β -блокаторов (метопролола, конкора, эгилока), блокаторов кальциевой проницаемости (коринфар-ретарда, калчека), диуретиков (индапа, гипотиазида) и ингибиторов АПФ (эналаприла, каптоприла). Забор крови (по 5 мл) из

локтевой вены (в условиях стационара или на станции переливания крови) проводили в 8-9 ч. утра; кровь подвергали центрифугированию (15 мин при 1000 об/мин). Сыворотку разводили раствором Рингера или Кребса в 50, 100, 500, 10^3 и 10^4 раз и исследовали в течение 2-6 часов от момента забора крови.

М-холино-, α - и β -адреномодулирующую и миоцитстимулирующую активность сыворотки крови определяли по методике [12,15]. Использовано 50 изолированных сердец лягушек (*R. ridibunda*), 840 продольных полосок рога матки небеременной крысы (82 самки) и 520 циркулярных полосок почечной артерии 40 коров. Тест-объекты помещали в рабочие камеры (1 мл) «Миоцитографа» и перфузировали (шприцевым дозатором) со скоростью 0,7 мл/мин раствором Рингера (18-22°C), содержащим (мМ): NaCl – 114,4; KCl – 1,6; CaCl₂ – 1,80; NaHCO₃ – 2,4. (сердце), или раствором Кребса (pH – 7,4; 38°C), содержащим (мМ): NaCl – 136, KCl – 4,7, CaCl₂ – 2,52, MgCl₂ – 1,2, KH₂PO₄ – 0,6, NaHCO₃ – 4,7, C₆H₁₂O₆ – 11 (миометрий, артерия). Сокращения сердца вызывали 30-секундной серией электростимулов (1Гц, 5 мс, 15В от электростимулятора ЭСЛ-1), наносимой в конце каждого 10-минутного этапа эксперимента. Опыты на полосках матки и артерии проводили на фоне их спонтанной или вызванной активности (при длительности каждого этапа экспериментов в пределах 10 минут). Во всех опытах сокращения регистрировали с помощью механотрона 6MX1C (МЭЛЗ, Россия).

В большинстве серий опытов при оценке хемомодулирующей активности сыворотки крови использовали схему, состоящую из 8 этапов: солевой раствор (Рингера или Кребса) → адреналин (или ацетилхолин) → солевой раствор → сыворотка (в соответствующем разведении) → сыворотка + адреналин (или ацетилхолин) → солевой раствор → адреналин (или ацетилхолин). → солевой раствор. На каждом тест-объекте, как правило, последовательно оценивали два разведения – вначале $1:10^4$ или $1:10^3$, а затем $1:500$ или $1:100$, или $1:50$. При оценке α -адреномодулирующей активности сыворотки крови дополнительно использовали схему опытов, состоящую из 5 этапов: раствор Кребса → адреналин → адреналин + исследуемое разведение сыворотки крови → адреналин → раствор Кребса. В работе применяли адреналина гидрохлорид и ацетилхолина хлорид (Россия). Результаты исследования подвергнуты статистической обработке с вычислением средней арифметической ($\bar{M}$) и ее ошибки (m). Различия оценивали по

критерию Стьюдента, считая их достоверными при $p < 0,05$ [1].

Результаты исследования β -Адреномодулирующая активность сыворотки крови. Ее оценивали в опытах на сердце лягушки и на продольных полосках рога матки крысы. В опытах на сердце показано, что в ответ на 30-секундную серию электростимулов сердце генерирует сокращения, амплитуда которых постепенно возрастает (лестница Боудича). Минимальная амплитуда сокращений (т.е. в начале электростимуляции) при перфузии раствором Рингера варьировала в 10 сериях от $0,3 \pm 0,1$ до $4,3 \pm 1,2$ мН, а максимальная амплитуда – от $0,7 \pm 0,2$ до $6,1 \pm 0,8$ мН. Адреналин (10^{-7} г/мл) при 1-м тестировании проявлял положительный инотропный эффект – минимальная амплитуда сокращений под его влиянием возрастала до $110,5 \pm 23,3$ – $400,9 \pm 111,7\%$ от амплитуды сокращений, наблюдаемых до воздействия адреналина (далее – исходный уровень), а максимальная – до $161,9 \pm 33,7$ – $457,8 \pm 95,4\%$. Удаление адреналина сопровождалось частичным восстановлением минимальной (до $86,7\%$ – $151,9\%$ от исходного уровня) и максимальной (до $100,0\%$ – $117,1\%$) амплитуды сокращений. Это говорит об обратимости положительного инотропного эффекта адреналина. Установлено, что сыворотка крови (в разведениях $1:10^4$ – $1:50$) женщин и мужчин всех трех групп не повышает амплитуду вызванных сокращений, т.е. не проявляет миоцитстимулирующую активность (табл.). При исследовании β -адреносенсибилизирующей активности сыворотки крови показано (табл.), что у мужчин всех групп (т.е. без АГ, при АГ II ст. и III ст.) она не влияла на положительный инотропный эффект адреналина. У нормотензивных женщин она проявляла β -адреносенсибилизирующую активность в разведении $1:100$, т.е. достоверно повышала максимальную амплитуду сокращений при действии адреналина (до $130,0 \pm 13,0\%$ от амплитуды сокращений, генерируемых при 1-м тестировании адреналина, или далее – от амплитуды при 1-м тестировании). У женщин с АГ II ст. сыворотка крови также проявляла эту активность в разведениях $1:50$ и $1:100$ – минимальная амплитуда сокращений возрастала соответственно до $122,9 \pm 9,0$ и $127,5 \pm 12,0\%$, а максимальная – до $134,6 \pm 10,0$ и $131,2 \pm 14,0\%$ от амплитуды при 1-м тестировании. В разведении $1:10^3$ сыворотка этих женщин уменьшала инотропный эффект адреналина (минимальная амплитуда снижалась до $59,7 \pm 9,2\%$ от амплитуды при 1-м тестировании, а максимальная – до $61,0 \pm 11,4\%$), что мы расцениваем как проявление десенсилизации, вызванной оккупацией β -АР

сердца агонистами, высвобождаемыми из связанного состояния при большом разведении сыворотки. У женщин с АГ III ст. сыворотка крови не проявляла β -адреносенсибилизирующую активность, а в больших разведениях ($1:10^4$ и $1:10^3$) вызывала десенситизацию (минимальная амплитуда снижалась соответственно до $52,4 \pm 20,4$ и $55,7 \pm 8,9\%$ от амплитуды при 1-м тестировании, а максимальная - до $67,7 \pm 13,0$ и $68,9 \pm 12,9\%$). Все это позволяет заключить, что: 1) у мужчин (при отсутствии АГ или при АГ II ст.) сыворотка крови обладает более низкой β -адреносенсибилизирующей активностью, чем у женщин этих же групп; 2) с повышением тяжести течения АГ у женщин снижается β -адреносенсибилизирующая активность сыворотки крови, а у мужчин она по-прежнему остается очень низкой.

В опытах с продольными полосками рога матки небеременных крыс подтверждена способность адреналина (10^{-9} - 10^{-8} г/мл) угнетать спонтанную сократительную активность (СА). Так, суммарная СА, т.е. сумма амплитуд сокра-

щений, генерируемых на 10-минутном интервале, под его влиянием снижалась в десяти сериях до $51,0 \pm 7,3$ - $94,3 \pm 10,3\%$ от фонового уровня. Подтверждена также способность сыворотки крови ($1:50$, $1:100$ и $1:500$) дозозависимо повышать СА (рис. 1, А; табл.). Например, у мужчин с АГ II ст. она повышала суммарную СА соответственно до $286,0 \pm 34,0\%$, $218 \pm 37,8\%$ и $147,5 \pm 21,3\%$ от фонового уровня. В целом миоцитстимулирующая активность у женщин без АГ достоверно проявлялась в разведении $1:50$, при АГ II ст. - в разведении $1:100$, а при АГ III ст. - она не выявлялась. У мужчин без АГ ее проявляли разведения $1:50$ и $1:100$, при АГ II ст. - разведения $1:50$, $1:100$ и $1:500$, а при АГ III ст. - разведение $1:50$. (табл.). Все это указывает на рост миоцитстимулирующей активности сыворотки крови при АГ II ст. и ее снижении при АГ III ст.

При оценке β -адреномодулирующей активности сыворотки крови установлено (табл.), что у женщин и мужчин без АГ сыворотка не проявляет достоверно эту активность.

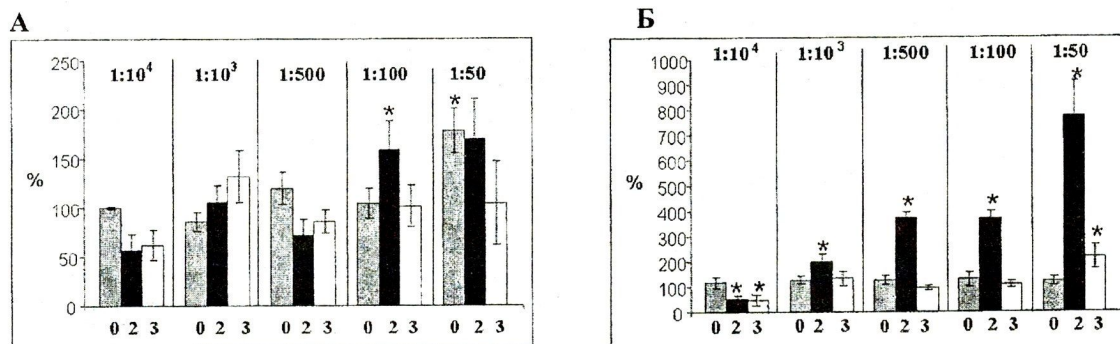


Рис. 1. Суммарная сократительная активность продольных полосок рога матки крысы (в % к ее исходному уровню) при воздействии сыворотки крови женщин, в том числе без АГ (0), с АГ II ст. (2), с АГ III ст. (3), наблюдаемая в опытах по изучению β -адреномодулирующей (панель А) и М-холиномодулирующей (панель Б) активности сыворотки крови. Примечание. * - различия с фоном достоверны ($p < 0,05$).

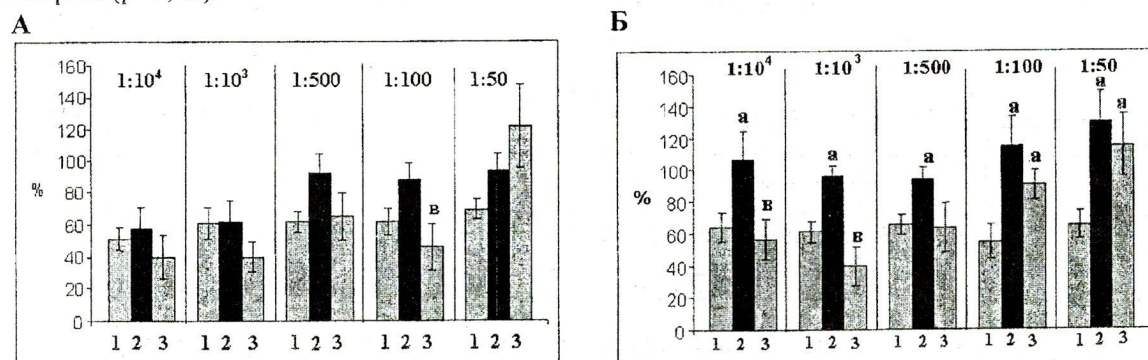


Рис. 2. Суммарная сократительная активность продольных полосок рога матки крысы (в % к ее исходному уровню) при воздействии адреналина (10^{-9} или 10^{-8} г/мл) до (1), на фоне исследуемого разведения ($1:10^4$, ..., $1:50$) сыворотки крови (2) и после его удаления (3). Панели А и Б - соответственно сыворотка крови мужчин без АГ (А) и с АГ III ст. (Б). Примечание. ^a и ^b - различия с 1-м (^a) и 2-м (^b) тестированиями адреналином достоверны ($p < 0,05$).

Таблица

Наличие эндогенных модуляторов и ЭАСМ в сыворотке крови

Наличие эндогенных модуляторов и ЭАСМ в сыворотке крови						
Группы	N	Разведения сыворотки крови				
		1:10000	1:1000	1:500	1:100	1:50
Женщины (тест-объект - миоэпителий крысы)						
Без АГ	13	-	-	-	ЭББАР	-
АГ II ст.	14	Десен	-	-	-	-
АГ III ст.	12	-	ЭББАР	ЭББАР	ЭББАР	ЭББАР
Мужчины (тест-объект - миоэпителий крысы)						
Без АГ	13	-	-	-	-	-
АГ II ст.	12	Десен	-	-	-	-
АГ III ст.	13	Десен	ЭББАР	ЭББАР	ЭББАР	ЭББАР
Женщины (тест-объект - миокард лягушки)						
Без АГ	10	Десен	десен	-	ЭСБАР	-
АГ II ст.	9	-	десен	-	ЭСБАР	ЭСБАР
АГ III ст.	6	Десен	десен	-	-	-
Мужчины (тест-объект - миокард лягушки)						
Без АГ	11	-	-	-	-	-
АГ II ст.	9	-	-	-	-	-
АГ III ст.	5	Десен	-	-	-	-
Женщины (тест-объект - гладкие мышцы почечной артерии коровы)						
Без АГ	19	-	-	-	-	ЭСААР
АГ II ст.	11	-	ЭСААР	-	-	ЭСААР
АГ III ст.	12	-	-	-	-	-
Мужчины (тест-объект - гладкие мышцы почечной артерии коровы)						
Без АГ	20	-	-	-	-	ЭСААР
АГ II ст.	6	-	-	-	-	ЭСААР
АГ III ст.	11	-	ЭБААР	-	ЭБААР	ЭБААР
Женщины (тест-объект - миоэпителий крысы)						
Без АГ	13	-	-	ЭБМХР	ЭБМХР	ЭБМХР
АГ II ст.	14	-	-	ЭБМХР	-	ЭБМХР
АГ III ст.	12	-	-	-	ЭБМХР	-
Мужчины (тест-объект - миоэпителий крысы)						
Без АГ	13	-	-	ЭБМХР	ЭБМХР	-
АГ II ст.	12	-	-	ЭБМХР	ЭБМХР	-
АГ III ст.	13	-	-	-	ЭБМХР	-
Женщины (тест-объект - изолированное сердце лягушки)						
Без АГ	19	-	-	-	-	ЭБМХР
АГ II ст.	11	-	-	-	-	ЭБМХР
АГ III ст.	12	-	-	-	-	-
Мужчины (тест-объект - изолированное сердце лягушки)						
Без АГ	20	-	ЭСМХР	-	-	ЭБМХР
АГ II ст.	6	-	-	-	-	ЭБМХР
АГ III ст.	11	-	-	-	-	-
Женщины (тест-объект - миоэпителий крысы; исследование β -адреномодулирующей активности)						
Без АГ	13	-	-	-	-	ЭАСМ
АГ II ст.	14	↓	-	-	ЭАСМ	-
АГ III ст.	12	↓	-	-	-	-
Мужчины (тест-объект - миоэпителий крысы; исследование β -адреномодулирующей активности)						
Без АГ	13	-	-	-	ЭАСМ	ЭАСМ
АГ II ст.	12	↓	-	ЭАСМ	ЭАСМ	ЭАСМ
АГ III ст.	13	↓	↓	ЭАСМ	-	-
Женщины (тест-объект - миоэпителий крысы; исследование М-холинотропной активности)						
Без АГ	13	-	-	-	-	-
АГ II ст.	14	↓	ЭАСМ	ЭАСМ	ЭАСМ	ЭАСМ
АГ III ст.	12	↓	-	-	-	ЭАСМ
Мужчины (тест-объект - миоэпителий крысы; исследование М-холинотропной активности)						
Без АГ	13	-	-	-	-	ЭАСМ
АГ II ст.	12	-	↓	-	ЭАСМ	ЭАСМ
АГ III ст.	13	↓	-	-	-	ЭАСМ

Примечания: 1. Достоверность наличия фактора указана в соответствии с критерием Стьюдента ($p < 0,05$); 2. Эндогенные модуляторы: ЭСБАР - сенситизатор β -АР, ЭББАР - блокатор β -АР, ЭСААР - сенситизатор α -АР, ЭБААР - блокатор α -АР, ЭБМХР - блокатор М-ХР, ЭСМХР - сенситизатор М-ХР; ЭАСМ - эндогенный активатор сократимости миоцитов; десен - десенситизация; ↓ - снижение активности; «-» - эффект отсутствует.

Более того, у женщин без АГ в разведении 1:100 она уменьшала ингибирующий эффект адреналина, т.е. проявляла β -адреноблокирующую активность - при 1-м, 2-м и 3-м тестированиях адреналином (соответственно до, во время и после воздействия сыворотки крови) суммарная СА составила $65,0 \pm 8,8\%$, $102,6 \pm 5,1\%$ и $61,6 \pm 13,7\%$ от фонового уровня, т.е. предшествующему каждому тестированию адреналином. При АГ II ст. сыворотка крови женщин и мужчин не влияла на эффект адреналина. Лишь в разведении $1:10^4$ у женщин и мужчин она вызывала десенситизацию к адреналину. При АГ III ст. сыворотка крови женщин и мужчин проявляла выраженную β -адреноблокирующую активность в разведениях 1:50, 1:100, 1:500, и 1:1000 (рис.2, табл.). Так, в опытах с 50-кратным разведением сыворотки крови женщин с АГ III ст. суммарная СА при 1-м, 2-м и 3-м тестированиях адреналином составила соответственно $64,6 \pm 5,8\%$, $105,6 \pm 16,4\%$ и $64,7 \pm 16,4\%$ от фонового уровня; для мужчин эти значения составили соответственно $65,0 \pm 8,8\%$, $130,4 \pm 19,2\%$ и $115,0 \pm 19,8\%$. Повышение β -адреноблокирующей активности у пациентов с АГ III ст., скорее всего, не связано с увеличением дозы принимаемых ими β -адреноблокаторов, так как это увеличение не столь существенно - у мужчин при АГ II ст. относительная суточная доза блокаторов составила $68,3 \pm 14,0$ мг (n-11), а при АГ III ст. - $102,7 \pm 8,5$ мг (n-13), а у женщин соответственно $93,6 \pm 7,7$ мг (n-10) и $105,6 \pm 8,7$ г/мл (n-11); хотя по нашим данным, селективный блокатор β_1 -АР метопролол в концентрациях 10^{-9} - 10^{-4} г/мл способен снижать β -адренореактивность изолированного миометрия крысы. В целом результаты опытов с миометрием крысы позволяют заключить, что 1) при АГ II ст. у мужчин и женщин β -адреносенсибилизирующая активность остается такой же низкой, как у женщин и мужчин без АГ; 2) при АГ III ст. существенно возрастает β -адреноблокирующая активность сыворотки крови.

α -Адреномодулирующая активность сыворотки крови. Ее оценивали в опытах с циркулярными полосками почечной артерии коровы. Установлено, что для них характерен низкий базальный тонус. Адреналин в концентрациях 10^{-9} и 10^{-8} г/мл не влиял на него, а в концентрациях $0,5$ и $1,0 \times 10^{-6}$ г/мл дозозависимо и обратимо повышал его (до $6,3 \pm 3,4$ и $19,6 \pm 5,2$ мН). Этот эффект адреналина обусловлен активацией преимущественно α -АР, так как неселективный блокатор α -АР ницерголин в концентрациях 10^{-10} - 10^{-8} г/мл снижал тонус, вызванный адреналином, до

$17,6 \pm 6,4\%$ - $22,7 \pm 9,3\%$ от его исходного уровня, в то время как β -блокаторы метопролол и обзидан в этих концентрациях (10^{-10} - 10^{-8} г/мл) не влияли на эффект адреналина и лишь в более высоких концентрациях (10^{-7} - 10^{-5} г/мл) дозозависимо снижали его до $88,5 \pm 5,2\%$ - $21,7 \pm 5,8\%$ и до $73,9 \pm 10,0\%$ - $47,7 \pm 9,6\%$. Эти данные означают, что циркулярные полоски почечной артерии коровы можно использовать для идентификации эндогенных модуляторов α -АР, т.е. ЭСААР и ЭБААР.

При исследовании α -адреномодулирующей активности сыворотки крови установлено, что сама по себе сыворотка крови женщин и мужчин всех трех групп не повышала тонус полосок, т.е. не проявляла миоцитстимулирующую активность. Показано (рис.3, А, табл.), что у женщин и мужчин без АГ сыворотка крови проявляет α -адреносенсибилизирующую активность - в разведении 1:50 она достоверно повышала тонус, вызванный адреналином, до $123,7 \pm 10,0\%$ (у женщин) и до $130,8 \pm 7,4\%$ (у мужчин) от его первоначальной величины. Подобное действие проявляет и сыворотка крови женщин и мужчин при АГ II ст. - разведение 1:50 повышало тонус, вызванный адреналином, соответственно до $121,5 \pm 9,1\%$ и $138,9 \pm 15,5\%$ от его первоначальной величины. При АГ III ст. сыворотка крови у женщин и мужчин не усиливала тонотропный эффект адреналина, а у мужчин (рис.3,Б) даже снижала его, т.е. проявляла α -адреноблокирующую активность, что достоверно проявилось при исследовании разведений 1:50, 1:100 и $1:10^3$ - на их фоне адреналин повышал тонус лишь до $64,6 \pm 12,5\%$, $77,0 \pm 7,1\%$ и $78,8 \pm 8,4\%$ от значений тонуса, вызванного адреналином при 1-м тестировании. Эти данные позволяют заключить, что 1) сыворотка крови женщин и мужчин без АГ, а также при АГ II ст. обладает α -адреносенсибилизирующей активностью; 2) при АГ III ст. снижается α -адреносенсибилизирующая активность сыворотки крови и повышается ее α -адреноблокирующая активность.

М-холиномодулирующая активность сыворотки крови. Ее оценивали в опытах на сердце лягушки и на продольных полосках рога матки крысы. В опытах на сердце ацетилхолин (10^{-6} г/мл) проявлял отрицательный инотропный эффект - уменьшал минимальную амплитуду (до $31,1 \pm 11,5\%$ - $81,1 \pm 17,5\%$ от исходной величины, т.е. наблюдаемой до 1-го тестирования ацетилхолином) и максимальную амплитуду (до $33,2 \pm 10,3$ - $72,9 \pm 19,9\%$) сокращений.

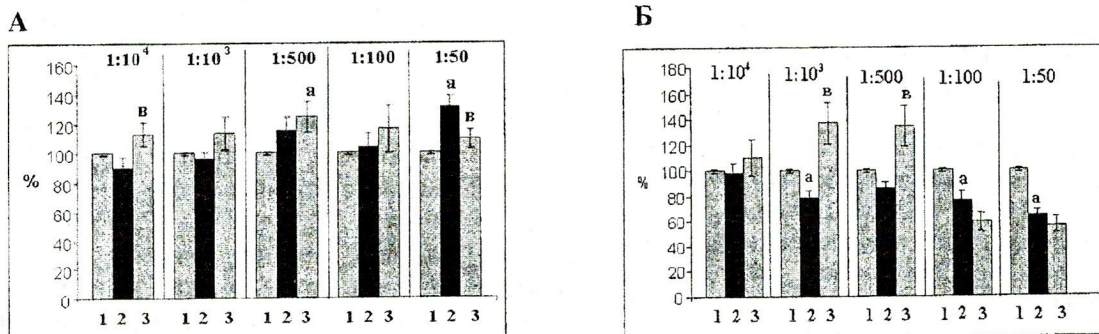


Рис.3. Тонус циркулярных полосок почечной артерии (в % к 1-му тестированию адреналином), вызванный адреналином (10^{-6} г/мл) до (1), при воздействии соответствующего ($1:10^4$, ..., $1:50$) разведения сыворотки крови (2) и после его удаления (3). Панели А и Б – соответственно сыворотка крови мужчин без АГ (А) и с АГ III ст (Б); ^a и ^в - различия с 1-м (^a) и 2-м (^в) тестированиями адреналином достоверны ($p < 0,05$).

Удаление ацетилхолина сопровождалось частичным восстановлением минимальной (до $41,4 \pm 11,7\%$ - $127,4 \pm 27,0\%$ от исходного уровня) и максимальной (до $57,6 \pm 6,3\%$ - $120,0 \pm 17,1\%$) амплитуды сокращений. Это говорит об обратимости отрицательного инотропного эффекта ацетилхолина.

Сыворотка крови, как правило, не влияла на сократимость миокарда, т.е. сама по себе не изменяла минимальную и максимальную амплитуду вызванных сокращений. В то же время у женщин и мужчин во всех трех группах в разведении $1:50$ она достоверно снижала эффект ацетилхолина, т.е. проявляла М-холиноблокирующую активность (табл.). Так, в опытах с 50-кратным разведением сыворотки крови женщин без АГ при 1-м тестировании ацетилхолином максимальная амплитуда сокращения снижалась до $50,6 \pm 6,9\%$ от амплитуды сокращений, предшествующих этому тестированию ацетилхолином, при 2-м тестировании ацетилхолином (т.е. в присутствии сыворотки) амплитуда сокращений не менялась (она составила $94,0 \pm 9,0\%$ от амплитуды сокращений, предшествующих 2-му тестированию ацетилхолином), а при 3-м тестировании ацетилхолином максимальная амплитуда вновь уменьшалась до $51,0 \pm 7,3\%$ от амплитуды сокращений, предшествующих 3-му тестированию, что указывает на восстановление отрицательного инотропного эффекта ацетилхолина после удаления сыворотки крови. В других разведениях сыворотка крови женщин и мужчин всех трех групп, как правило, не влияла на эффект ацетилхолина (лишь в разведении $1:10^3$ сыворотка крови мужчин без АГ усиливала отрицательный инотропный эффект ацетилхолина, т.е. проявляла М-холиночувствительную активность). В целом, результаты этих опытов не позволили выявить изменение М-холиномодулирующей активности сыворотки крови при АГ II и III ст.

В опытах с продольными полосками рога матки крысы подтверждена способность ацетилхолина увеличивать СА - в концентрации 10^{-6} г/мл он повышал суммарную СА до $130,6 \pm 28,4\%$ - $2156,0 \pm 471,2\%$ от фонового уровня, а его удаление сопровождалось частичным восстановлением суммарной СА (до $26,1 \pm 17,9\%$ - $333,0 \pm 81,5\%$ от фонового уровня).

При исследовании М-холиномодулирующей активности сыворотки крови, как и при исследовании ее β -адреномодулирующей активности, была отмечена способность сыворотки проявлять миоцитстимулирующую активность (табл.). При этом у женщин без АГ она не выявлена, у женщин с АГ II ст. ее проявляли разведения $1:50$, $1:100$, $1:500$ и $1:1000$, а у женщин с АГ III ст. - только разведение $1:50$ (рис.1, Б). Для мужчин эти значения составили $1:50$ (при отсутствии АГ), $1:50$ и $1:100$ (при АГ II ст.) и $1:50$ (при АГ III ст.). Все это означает, что у женщин и мужчин АГ развивается на фоне низкой миоцитстимулирующей активности; эта активность существенно возрастает при АГ II ст. (или даже при АГ I ст.) и вновь снижается при АГ III ст.

Помимо миоцитстимулирующей активности сыворотка крови в этих опытах проявляла М-холиноблокирующую активность, т.е. уменьшала стимулирующий эффект ацетилхолина (табл.). У женщин без АГ она отмечена для разведений $1:50$, $1:100$ и $1:500$, при АГ II ст. - для разведений $1:50$ и $1:500$, а при АГ III ст. - для разведения $1:100$ (рис.4). У мужчин без АГ и с АГ II ст. она отмечена для разведений $1:100$ и $1:500$; а при АГ III ст. - для разведения $1:100$. Все это позволяет заключить, что М-холиноблокирующая активность сыворотки крови женщин и мужчин при АГ II ст. не меняется (это установлено и в опытах с сердцем лягушки, и в опытах с миометрием крысы), а при АГ III ст. уменьшается (показано лишь в опытах с миометрием крысы).

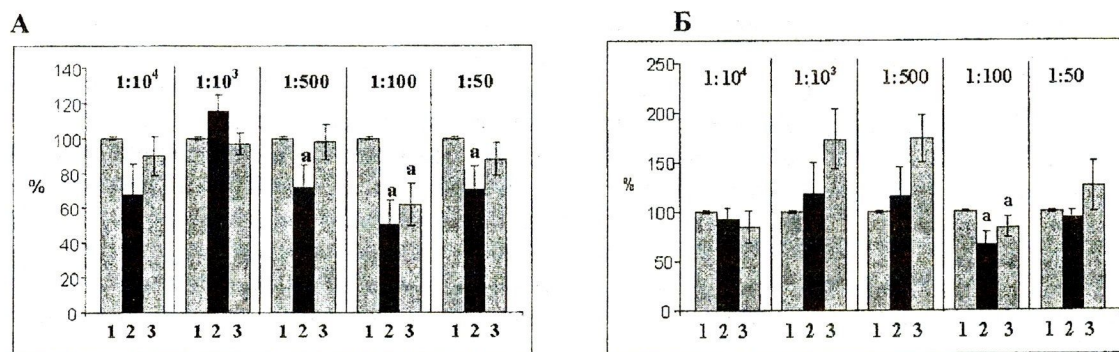


Рис.4. Суммарная сократительная активность продольных полосок рога матки крысы (в % к 1-му тестированию ацетилхолином) при воздействии ацетилхолина (10^{-6} г/мл) до (1), на фоне исследуемого разведения (10^4 , ..., 1:50) сыворотки крови (2) и после его удаления (3). Панели А и Б - сыворотка крови женщин без АГ (А) или с АГ III ст. (Б) Примечание. ^a и ^b - различия с 1-м (^a) и 2-м (^b) тестированиями ацетилхолином достоверны ($p < 0,05$).

В целом результаты исследований свидетельствуют о том, что: 1) при АГ II ст. α - и β -адрено- и М-холиномодулирующая активность не меняется, т.е. остается такой же, как у женщин и мужчин без АГ, но при этом возрастает миоцитстимулирующая активность. 2) при АГ III ст. снижается α - и β -адреносенсибилизирующая, М-холиноблокирующая и миоцитстимулирующая активность и одновременно возрастает α - и β -адреноблокирующая активность.

Обсуждение результатов

Отмеченная нами в работа способность сыворотки крови проявлять α - и β -адреносенсибилизирующую, β -адреноблокирующую, М-холиноблокирующую и миоцитстимулирующую активность подтверждает представление [5,8-19] о наличии в крови эндогенных модуляторов хемореактивности прямого действия, в том числе ЭСААР, ЭСБАР, ЭББАР и ЭБМХР, а также ЭАСМ. В опытах с полосками почечной артерии коровы впервые продемонстрирована способность сыворотки крови проявлять α -адреноблокирующую активность, что мы расцениваем как свидетельство наличия в крови ЭБААР.

Относительное содержание эндогенных модуляторов в сыворотке крови принято оценивать по предельному ее разведению, при котором достоверно наблюдается соответствующая активность [9,11,12]. Анализ наших результатов позволяет сделать ряд выводов относительно динамики содержания эндогенных модуляторов в сыворотке крови у здоровых женщин и мужчин с возрастом и при наличии АГ, а также о их роли в регуляции АД и формировании АГ.

Ранее в опытах с продольными полосками рога матки крысы было показано, что у молодых женщин β -адреносенсибилизирующая актив-

ность сыворотки крови (судя по достоверному изменению суммарной СА тест-объекта), характерна для разведения 1:100; при беременности эта активность намного выше - ее проявляют разведения 1:50, 1:100, 1:500: 1:103; в то же время у молодых мужчин эта активность относительно низкая - ни одно из исследованных разведений (1:10-1:104) β -адреносенсибилизирующую активность не проявляет [9,10]. Результаты наших опытов с миометрием крысы показывают, что у нормотензивных 40-55-летних женщин и мужчин сыворотка крови не проявляет ЭСБАР-активность. Ранее в опытах с изолированным сердцем лягушки было показано, что сыворотка крови молодых женщин ($31,2 \pm 1,9$ года) достоверно проявляет ЭСБАР-активность в разведении 1:500 [6], а здоровые беременные женщины (III триместр) проявляют ее в разведениях 1:100, 1:500 и 1:103 [15]. По нашим данным, сыворотка крови нормотензивных 40-55-летних женщин в аналогичных опытах проявляет ее в разведении 1:100. Все эти данные позволяют заключить, что у женщин после 40 лет ЭСБАР-активность снижается, а, следовательно, снижается и содержание ЭСБАР, а у мужчин эта активность и в этом возрасте, вероятнее всего, остается низкой. Следовательно, АГ формируется на фоне низкого содержания ЭСБАР, т.е. в условиях сниженной эффективности β -адренергических воздействий на кардиомиоциты. Это, согласно мнению ряда авторов [3,20,22,25], должно увеличивать потребность в продукции катехоламинов и, следовательно, вести к формированию АГ. Можно также утверждать, что содержание ЭСБАР в крови зависит от уровня эстрогенов - у женщин репродуктивного возраста оно выше, чем у мужчин; оно возрастает при беременности и снижается при угасании функции яичников. Наш вы-

вод согласуется с данными литературы [2,26] о существенном повышении частоты формирования АГ у женщин после 40-50 лет. Мы также полагаем, что более низкое содержание ЭСБАР у мужчин репродуктивного возраста объясняет данные литературы [4] о более высокой частоте АГ у мужчин по сравнению с женщинами репродуктивного возраста.

Полагаем, что развитие АГ у женщин и мужчин происходит и на фоне низкого содержания в крови ЭСААР. Действительно, по нашим данным, сыворотка крови нормотензивных 40-55-летних женщин и мужчин проявляет ЭСААР-активность в разведении 1:50, в то время как сыворотка крови молодых женщин-доноров крови, как показали дополнительные исследования, проявляет ее в разведениях 1:50, 1:100, 1:500 и 1:1000. Это означает, что эффективность активации α -АР после 40 лет у женщин (и, вероятно, у мужчин) снижается. Тем самым снижается и возможность регуляции тонуса сосудов. Это обстоятельство (подобно снижению содержания ЭСБАР) должно способствовать формированию АГ, так как и в этом случае возникает потребность в повышенной продукции катехоламинов.

Ранее в опытах с продольными полосками рога матки крысы было показано [9,15,16], что сыворотка крови молодых женщин и мужчин проявляет М-холиноблокирующую активность в разведении 1:100 и 1:500. В аналогичных опытах нами установлено, что у 40-55-летних нормотензивных женщин и мужчин сыворотка крови проявляет ЭБМХР-активность в разведениях 1:50, 1:100 и 1:500. Это означает, что с возрастом содержание ЭБМХР не меняется. Следовательно, развитие АГ протекает в условиях, при которых эффективность М-холинергических воздействий не снижена.

Ранее в опытах с миометрием крыс, в которых исследовалась β -адрено- и/или М-холиномодулирующая активность сыворотки крови, было показано [8,10,11], что сыворотка способна проявлять миоцитстимулирующую активность. У 18-22-летних девушек ее проявляли разведения 1:10, 1:50, 1:100 и 1:500, а у молодых мужчин – разведения 1:10 и 1:50. Согласно нашим данным, полученным в аналогичных опытах, сыворотка крови у женщин без АГ достоверно проявляла ЭАСМ-активность в разведении 1:50, а у мужчин без АГ - в разведениях 1:50 и 1:100. Это позволяет утверждать, что у женщин после 40 лет содержание ЭАСМ снижается, а у мужчин сохраняется на низком уровне. Следовательно, формирование АГ происходит не только в условиях дефицита β - и α -адренергических

воздействий, но и в условиях низкого содержания ЭАСМ, т.е. фактора, повышающего Са-проницаемость миоцитов [8]. Все это означает, что одно из возможных направлений в профилактике АГ заключается в повышении эффективности адренергических и других регулирующих влияний на кардиомиоциты и миоциты сосудов. В этом отношении перспективно, с нашей точки зрения, применение гистидина, триптофана, тирозина, предуктала и милдроната, которые, согласно данным нашей лаборатории, повышают α -адренореактивность гладких мышц сосудов [18] и β -адренореактивность кардиомиоцитов [9,18].

В целом мы полагаем, что в результате возрастного снижения содержания в крови ЭСБАР и ЭСААР эффективность β -адренергических (на миокард, на миоциты сосудов) и α -адренергических (на миоциты сосудов) воздействий снижается. Это уменьшает функциональные возможности системы кровообращения, что может приводить к развитию недостаточности этой системы. Для предотвращения этого состояния у части людей, способных к активации симпатической системы, возрастает продукция катехоламинов в надпочечниках, а также повышается активность адренергических нервов сосудов и сердца. У части людей поддержание функции системы кровообращения осуществляется, вероятно, с участием ренин-ангиотензиновой системы, т.е. без активации адренергических механизмов. Таким образом, эти два механизма, очевидно, и способствуют нормализации АД в условиях возрастного снижения эффективности β - и α -адренергических влияний в системе кровообращения. Возникает вопрос – почему же лишь у части людей в этих условиях развивается АГ. Наиболее вероятно, что у этих людей катехоламины (как медиаторы и как гормоны) разрушаются слишком медленно (в силу низкой активности ферментов - МАО или КОМТ), а в ответ на их продукцию в крови появляются вещества (типа ЭАСМ), увеличивающие содержание ионов Ca^{2+} в миоцитах сосудов и в кардиомиоцитах, а также существенно повышается продукция ренина. С этих позиций, отсутствие АГ у пожилых людей указывает на то, что они обладают низкой способностью к активации симпатической системы.

По нашим данным, при АГ II ст. α - и β -адреномодулирующая и М-холиномодулирующая активность сыворотки крови не меняется, а миоцитстимулирующая активность возрастает. Это означает, что при длительном течении АГ, несмотря на медикаментозное лечение, содержание ЭСААР и ЭСБАР, по-прежнему, остается

низким, а, следовательно, и сохраняется низкая эффективность активации β -АР (в миокарде) и α -АР (в миоцитах сосудов). Применение β -адреноблокаторов или блокаторов Са-проницаемости (как лечебных средств) лишь усугубляет эту ситуацию. Рост содержания ЭАСМ на этом этапе мы рассматриваем как одну из ведущих причин АГ, так как, повышая Са-проницаемость клеток, этот фактор увеличивает тонус сосудов и сократимость миокарда. Полагаем, что рост содержания ЭАСМ обусловлен увеличением продукции катехоламинов (в ответ на дефицит адренергических влияний). Под влиянием катехоламинов усиливается процесс свертывания крови, в результате чего в крови повышается содержание фибринопептидов А и В и продуктов деградации фибрина. Именно они рассматриваются в качестве основных компонентов ЭАСМ [8,10]. Очевидно, что повышенное содержание катехоламинов у части пациентов с АГ II ст. увеличивает продукцию ренина, что приводит у них к повышению АД.

Согласно нашим данным, у пациентов с АГ III ст. снижается α - и β -адреносенсибилизирующая, М-холиноблокирующая, а также (в основном, у женщин) миоцитстимулирующая активность. Одновременно у пациентов с АГ III ст. возрастает α - и β -адреноблокирующая активность. Это означает, что возможность управления миоцитами сосудов и сердца за счет активации α -АР и β -АР на этой стадии течения АГ снижается еще в большей степени, так как падает содержание ЭСААР, ЭСБАР и ЭБМХР и одновременно возрастает содержание ЭБААР и ЭББАР. Это изменение в содержании указанных факторов совпадает с существенным повышением риска развития сердечной недостаточности, с выраженным падением толерантности к физической нагрузке (особенно, у женщин). Очевидно, что в такой ситуации может быть перспективным на ряду с традиционной терапией (включающей и β -адреноблокаторы, которые снижают негативные побочные эффекты катехоламинов) применение гистидина, триптофана, тирозина, предуктала и милдроната (как факторов, повышающих эффективность трансмембранной передачи сигнала от рецепторов вглубь клетки). Полагаем, что перспективно и применение веществ, снижающих образование в клетках лизофосфатидилхолина (ЛФХ) и накопление его в крови. Как показано в нашей лаборатории [18], ЛФХ в концентрациях 10-5-10-4 М снижает β -адренореактивность миокарда лягушки и крысы, а также α -адренореактивность гладких мышц почечной артерии. Это позволяет рассматривать ЛФХ в качестве одного из компо-

нентов ЭБААР и ЭББАР, а также в качестве фактора, причастного к формированию АГ. Важно, что гистидин, триптофан, тирозин, предуктал и милдронат способны восстанавливать адренореактивность, сниженную ЛФХ [18] или озоном [9].

Следует отметить, что наши данные о динамике содержания эндогенных модуляторов адренореактивности при АГ III ст. согласуются с сообщениями о постепенном снижении при АГ содержания β 1-АР в кардиомиоцитах [24], о повышении содержания в них Gi-белка [21] и увеличении активности сывороточной киназы β -АР [23], что, по мнению этих авторов, повышает риск развитию сердечной недостаточности.

Таким образом, результаты нашего исследования, углубляя представление о патогенезе АГ, указывают на возможность применения новых методов профилактики и лечения этого одного из самых распространенных заболеваний. Разработка этих методов, основанных на представлении о важной роли эндогенных модуляторов адренореактивности прямого действия (ЭСБАР, ЭСААР, ЭБААР и ЭББАР) в поддержании АД на оптимальном уровне, задача будущих исследований.

Выводы:

1. Эндогенные модуляторы α - и β -адренореактивности (ЭСААР, ЭСБАР, ЭБААР и ЭББАР) участвуют в регуляции АД, т.е. способствуют его поддержанию на уровне, необходимом для оптимального функционирования системы кровообращения, в том числе препятствуя чрезмерному снижению АД (ЭСААР и ЭСБАР) или, наоборот, предотвращая его избыточное повышение (ЭБААР и ЭББАР).

2. Артериальная гипертензия (АГ) развивается на фоне низкого содержания в сыворотке крови эндогенных сенсибилизаторов α - и β -адренорецепторов (ЭСААР и ЭСБАР), т.е. в условиях сниженной эффективности активации этих рецепторов, что подтверждает концепцию о дефиците адренергических влияний на миокард как основной причины развития АГ.

3. При длительном течении АГ, в том числе на фоне применения медикаментозной терапии, включающей β -адреноблокаторы, изменяется содержание в сыворотке крови ЭАСМ (рост при АГ II ст. и снижение при АГ III ст.), продолжается снижаться содержания ЭСААР и ЭСБАР, возрастает содержание эндогенных блокаторов α - и β -адренорецепторов (ЭБААР и ЭББАР) и снижается содержание эндогенного блокатора М-холинорецепторов (ЭБМХР). Все это способствует прогрессированию АГ и развитию сердечной недостаточности.

4. Предлагается исследовать возможность применения принципиально нового подхода в профилактике и лечении АГ, основанного на использовании гистидина, триптофана, тирозина, предуктала, милдроната и других веществ (сенситизаторов прямого действия), обладающих способностью восстанавливать эффективность трансмембранной передачи сигнала от адренорецепторов вглубь клетки, сниженную под влиянием лизофосфатидилхолина и других «разобщителей» этой передачи.

Литература

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. - М., 1999. - 459 с
2. Кириченко Е.В. // Кардиология. - 2003. - Т. 43, № 4. - С. 88-95.
3. Красникова Т.Л., Габрусенко С.А. // Успехи физиологических наук, - 2000, - Т. 31, - № 2, - С. 35-50.
4. Кушаковский М.С. Эссенциальная гипертензия. Причины, механизмы, клиника, лечение. - СПб., 2002. - 239 с.
5. Мальчикова С.В., Сизова Е.Н., Циркин В.И. и др. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2003. - Т. 2, № 6. - С. 36-43.
6. Пенкина Ю.А., Циркин В.И. // Вопр. трансфузиол. и клин. медицины: Мат. научно-практ. конф. Киров, КНИИГПК, 2007. - С. 144-146.
7. Постнов Ю. В. Кардиология. - 2005. - № 10. - С. 4-11.
8. Сизова Е.Н. Физиологическая характеристика эндогенных модуляторов β -адрено- и М-холинореактивности и их участие в регуляции деятельности различных систем организма человека и животных // Автореф. дисс. д.б.н. - М, 2005. - 32 с.
9. Сизова Е.Н., Циркин В.И. Физиологическая характеристика эндогенных модуляторов β -адрено- и М-холинореактивности. - Киров, 2006. - 183 с.
10. 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.
11. Циркин В.И., Дворянский С.А. Сократительная деятельность матки (механизмы регуляции). - Киров, 1997. - 270 с.
12. Циркин В.И., Дворянский С.А., Ноздрачев А.Д. и др. // Доклады РАН. - 1997. - Т. 352, № 1. - С. 124-126
13. Циркин В.И., Ноздрачев А.Д., Сизова Е.Н. и др. // Доклады РАН. - 2002. - Т. 383, № 5. - С. 698-701.
14. Циркин В.И., Ноздрачев А.Д., Сазано-

ва М.Л. и др. // Доклады РАН. - 2003. - Т. 388, № 3. - С. 426-429.

15. Циркин В.И., Трухин А.Н., Сизова Е.Н. и др. // Вятский медицинский вестник. - 2003. - № 4. - С. 85-91.

16. Циркин В.И., Кононова Т.Н., Сизова Е.Н. и др. // Вятский медицинский вестник. - 2006. - № 1. - С. 53-65.

17. Циркин В.И., Сизова Е.Н., Кононова Т.Н. и др. // Успехи современного естествознания - 2006. - № 1. - С. 83-84.

18. Циркин В.И., Пенкина Ю.А., Кашин А.Ю. и др. // Успехи современного естествознания. - 2007. - № 7. - С. 64-65.

19. Циркин В.И., Ноздрачев А.Д., Куншин А.А. // Доклады РАН. - 2007. - Т. 414, № 3. - С. 419-422.

20. Чазов Е.И., Меньшиков М.Ю. Ткачук В.А. // Успехи физиол. наук - 2000. Т. 31, № 1 - С. 3-17.

21. Brodde O., Bruck H., Leineweber K. // J. Pharmacol. Sci. - 2006. - V. 100, № 5. - P. 323-337.

22. Castellano M., Bohm M., // Hypertension. - 1997. - V. 29, № 3, - P. 715-722.

23. Leineweber K., Rohe P., Beilfuss A. et al. // Cardiovasc. Res. - 2005. - V. 66, № 3. - P. 512-519.

24. Riemann B., Scheffers M., Law M. et al. // Nuklearmedizin - 2003. - V. 42, № 1. - P. 4-9.

25. Rockman H., Koch W., Lefkowitz R. // Nature - 2002. - V. 415, № 6868. - P. 206-212.

26. Staessen J., Ginocchio G., Tbjis L et al // Hum Hypertens. - 1997. - V. 11. - P. 507-514.

Summary

ENDOGENOUS ACTIVATOR OF MYOCYTE CONTRACTILITY AND THE ARTERIAL HYPERTENSION

(review of literature and data of own studies)

V.I. Tsirkin, N.L. Demina, E.N. Sizova,
S.V. Khlybova., A.A., Kunshin J.A. Penkina,
R.J. Kashin.

Blood serum possesses myocyte stimulative activity, i.e. increases the contractility of many muscular structures, especially myocytes of rat uterus, and also myocytes of number of vessels, digestive tract and cardiomyocytes. This ability is explained as far as the presence in human blood serum of the endogenous activator of myocyte contractility (EAMC). It was proved that this factor raises the entrance of Ca^{2+} ions in myocytes, i.e. is the activator of Ca -channels. It is shown, that content of EAMC essentially grows at arterial hypertension (AH) (in particular at AH II stage), that can be one of the reasons of development of AH. With increase of weight of AH content of EAMC is reduced. Results of research

will be coordinated to the data of the literature on increase at AH abilities of blood serum to increase the entrance of Ca^{2+} ions in platelets, neutrophils and erythrocytes. Nature of EAMC is not established. It is most probable that its structure includes A and B fibrinopeptides, products of degradation of fibrin and other peptides. From these positionsthe the increase of EAMC level at AH II stage can be regarded as the reflection of amplification of spontaneous intravascular coagulation.