

На правах рукописи

ТОРОПОВ Алексей Леонидович

**ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ ЭНДОГЕННОГО
СЕНСИБИЛИЗАТОРА β -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ (ЭСБАР)
И ЕГО АНАЛОГОВ В ОПЫТАХ С МИОМЕТРИЕМ КРЫС**

03.03.01 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Нижний Новгород – 2011

Работа выполнена на кафедре биологии Вятского государственного гуманитарного университета.

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Циркин Виктор Иванович

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор
Смирнов Владимир Павлович
доктор биологических наук,
Сизова Елена Николаевна

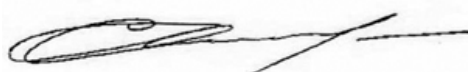
Ведущая организация: ГОУ ВПО Российский государственный
медицинский университет

Защита диссертации состоится «___» _____ 2011 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 212.166.15 Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского по адресу: 603950 Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23, корп. 1, биологический факультет.
Факс: (8312) 465-82-92

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ГОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского» по адресу: 603950, г. Нижний Новгород, ул. Гагарина, 23, корп. 1.

Автореферат разослан «___» _____ 2011 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук,
доцент



С. В. Копылова

Актуальность темы. Ранее (Циркин В. И. и соавт., 1997, 2008; Циркин В. И., Дворянский С. А., 1997; Мальчикова С. В. и соавт., 2003; Трухин А. Н. и соавт., 2004; Сизова Е. Н., Циркин В. И., 2006; Хлыбова С. В., 2007; Пенкина Ю. А. и соавт., 2008; Демина Н. Л. и соавт., 2008) была установлена способность 100-, 500- и 1000-кратных разведений сыворотки крови человека повышать эффективность активации β -АР миоцитов матки крысы, трахеи коровы, коронарной артерии свиньи, а также миокарда лягушки и крысы. Это объяснялось наличием в крови эндогенного сенсibilизатора β -АР (ЭСБАР). Подобную β -адреносенсibilизирующую активность проявляют гистидин, триптофан, тирозин, милдронат и предуктал (Циркин В. И., Дворянский С. А., 1997; Ноздрачев и соавт., 1998; Туманова Т. В., 1998; Сизова Е. Н., Циркин В. И., 2006; Пенкина Ю. А. и соавт., 2008). Эти вещества были названы аналогами ЭСБАР и стали использоваться для изучения механизма действия и физиологической роли ЭСБАР. В частности, при этом в опытах с миометрием крысы было показано (Сизова Е. Н., Циркин В. И., 2006), что ЭСБАР и его аналоги проявляют β -адреносенсibilизирующую активность на фоне спонтанной СА и на фоне СА, вызванной ГРК, а также окситоцином или простагландином F_{2 α} . Эта активность у сыворотки проявляется еще 20–80 минут после ее удаления из среды. Показано, что сыворотка крови, т. е. ЭСБАР, и аналоги ЭСБАР восстанавливают эффективность активации β -АР миоцитов матки, трахеи и сосудов, сниженную озоном (Сизова Е. Н., Циркин В. И., 2006), или β -АР кардиомиоцитов лягушки и крысы, сниженную лизофосфатидилхолином (ЛФХ), который является естественным метаболитом клеток (Пенкина Ю. А. и соавт., 2008). Эти данные позволили предположить, что механизм действия ЭСБАР и его аналогов связан с их способностью восстанавливать конформационную структуру белков, участвующих в передаче сигнала от рецептора в клетку, в том числе α -субъединицы G-белка, а ЭСБАР и его аналоги предложено рассматривать как разновидность шаперонов (Пенкина Ю. А. и соавт., 2008). Таким образом, для понимания механизма действия ЭСБАР и его аналогов большой интерес могут представлять данные о их способности восстанавливать эффективность активации β -АР, сниженную любыми воздействиями, в том числе озоном, ЛФХ, гипотонической средой, классическими конкурентными β -адреноблокаторами, а также длительным воздействием агонистов β -АР, при котором, как известно (Сизова Е. Н., Циркин В. И., 2006), развивается десенситизация β -АР за счет их фосфорилирования специфической киназой β -АР. Однако до настоящего времени эти данные либо отсутствуют (в отношении миометрии крысы это касается эффектов ЭСБАР и его аналогов при действии β -адреноблокаторов или ЛФХ, а также в условиях осмотического шока), либо они единичны – это, например, касается способности ЭСБАР и его аналогов влиять на процессы десенситизации (Туманова Т. В. и соавт., 2004; Сизова Е. Н., Циркин В. И., 2006). Не исследовался и вопрос о способности аналогов ЭСБАР проявлять свой эффект на фоне сыворотки крови, в том числе при наличии в ней ЭСБАР. Вместе с тем, изучение всех этих вопросов помимо теоретического значения имеет и практическую направленность, так как уже в первых исследованиях, в которых была выявлена способность гистидина, триптофана, тирозина, милдроната и

предуктала проявлять β -адреносенсибилизирующую активность (Циркин В. И. и соавт., 1997, 2008; Циркин В. И., Дворянский С. А., 1997; Сизова Е. Н., Циркин В. И., 2006; Хлыбова С. В., 2007; Пенкина Ю. А. и соавт., 2008), был поставлен вопрос о возможности их применения в клинике, например, для лечения угрозы преждевременных родов или бронхиальной астмы. В последние годы стало известно, что во многих клетках организма имеются белки – аквапорины, с участием которых вода переходит через поверхностную мембрану. (Agre P., 2004; Титовец Э. П., 2007; Yukutake Y. et al., 2008). При этом в литературе был поставлен вопрос о возможности ряда гормонов и БАВ (подобно антидиуретическому гормону) влиять на процесс встраивания аквапоринов в мембрану клетки (Ishikawa Y. et al. 1998; Marinelli R. et al., 1999; Yasui H. et al., 2008; Sonalker P. et al., 2008). Мы предположили, что адреналин может влиять на этот процесс, а гистидин и другие аналоги ЭСБАР, в силу своих свойств, вероятно, должны повышать эффективность влияния адреналина на этот процесс.

Поддерживая представление ряда авторов о том, что ЭСБАР может играть важную физиологическую роль как регулятор эффективности взаимодействия катехоламинов как гормонов и медиаторов с β -адренорецепторами, мы считали возможным продолжить изучение механизма действия ЭСБАР и его аналогов, и тем самым углубить представление о возможной физиологической роли этого вещества.

Цель исследования. В опытах с изолированным миометрием крысы изучить механизмы, лежащие в основе β -адреносенсибилизирующей активности сыворотки крови (как источника ЭСБАР) и его аналогов (гистидина, триптофана, тирозина, милдроната, предуктала).

В работе были поставлены следующие задачи:

1. Изучить зависимость релаксирующего влияния адреналина на тоническую активность продольных полосок рога матки небеременных крыс от его концентрации в среде и наличия в ней β -адреноблокаторов.

2. Исследовать способность сыворотки крови небеременных женщин (как источника ЭСБАР) и его аналогов противодействовать влиянию β -адреноблокаторов на релаксирующий эффект адреналина на фоне тонической активности миометрии крыс.

3. Изучить влияние сыворотки крови человека на проявление β -адреносенсибилизирующей активности аналогов ЭСБАР в опытах с миометрием крыс.

4. Изучить способность гистидина противодействовать развитию десенситизации, развивающейся при воздействии адреналина на миометрий крыс в условиях его спонтанной сократительной активности.

5. Исследовать влияние лизофосфатидилхолина (ЛФХ) и куриного яичного желтка (как источника ЛФХ) на сократительные эффекты адреналина и ацетилхолина.

6. Изучить влияние адреналина на транспорт воды в миометрии крысы и возможность гистидина модулировать это влияние.

Положения, выносимые на защиту.

1. ЭСБАР, содержащийся в сыворотке крови человека, и его аналоги – гистидин, триптофан, тирозин, милдронат и предуктал восстанавливают эффек-

тивность активации β_2 -АР миометрия крысы, сниженную β -адреноблокаторами, а также (судя по эффекту гистидина) сниженную лизофосфатидилхолином (ЛФХ) или десенситизацией.

2. Сыворотка крови человека не препятствует способности аналогов ЭСБАР усиливать релаксирующее действие адреналина как агониста β_2 -АР миометрия крысы

3. ЭСБАР и его аналоги предлагается рассматривать в качестве факторов, повышающих сродство β_2 -АР к агонисту, и как внеклеточные и внутриклеточные шапероны, увеличивающие эффективность передачи сигнала от β_2 -АР внутрь клетки. Это указывает на перспективность применения аналогов ЭСБАР в клинической практике как антагонистов β_2 -адреноблокаторов, как пролонгаторов действия β_2 -адреномиметиков и как экзогенных шаперонов, восстанавливающих эффективность активации β_2 -АР

Новизна исследования. В опытах с миометрием небеременных крыс подтверждена способность адреналина вызывать дозозависимый и обратимый релаксирующий эффект и впервые показано, что в условиях калиевой контрактуры этот эффект реализуется только за счет активации β_2 -АР. Подтверждена способность разведений сыворотки крови небеременных женщин (за счет наличия в ней ЭСБАР), а также гистидина, триптофана, тирозина, милдроната и предуктала как аналогов ЭСБАР усиливать релаксирующий эффект адреналина. Впервые детально изучено проявление этого свойства в условиях тонуса, вызванного ГРК. Впервые установлена способность сыворотки крови как источника ЭСБАР и аналогов ЭСБАР (гистидина, триптофана, тирозина, милдроната и предуктала) препятствовать эффекту β -адреноблокаторов (обзидана), что удалось продемонстрировать на миометрии в условиях тонуса, вызванного ГРК. Впервые показана способность аналогов ЭСБАР (гистидина, триптофана, тирозина, милдроната и предуктала) проявлять β -адреносенсибилизирующую активность на фоне сыворотки крови (как источника ЭСБАР). Тем самым доказано, что сыворотка крови не препятствует проявлению β -адреносенсибилизирующей активности аналогов ЭСБАР. Подтверждена способность гистидина (как представителя аналогов ЭСБАР) препятствовать развитию десенситизации β -АР. Впервые это удалось продемонстрировать в условиях многократного кратковременного воздействия адреналина на спонтанно активный миометрий крысы. Впервые выявлена способность лизофосфатидилхолина (ЛФХ) и яичного желтка как источника ЛФХ снижать эффективность активации β_2 -АР миометрия крысы и впервые показана возможность ее восстановления под влиянием гистидина. Впервые установлено, что способность ЛФХ снижать эффективность активации передачи сигнала в отношении М-холинорецепторов миометрия крысы выражена в меньшей степени, чем в отношении β -АР. Тем самым впервые выявлена относительная специфичность хемоблокирующего действия ЛФХ. Новым является и обнаружение способности гистидина усиливать релаксирующее влияние адреналина на вход воды в миоциты матки крысы, которое, как впервые показано в данной работе, обусловлено активацией β_2 -АР. Результаты работы позволили сформулировать принципиально важное положение о том, что в основе механизма действия ЭСБАР и его аналогов (гистидина, трип-

тофана, тирозина, милдроната и предуктала) лежит их способность повышать сродство β_2 -АР к агонисту, а также способность репарировать повреждения, возникающие в процессе функционирования клеток, в том числе за счет восстановления конформационной структуры G-белка и/ или других посредников, участвующих в передаче сигнала от рецепторов внутрь клетки, следствием чего является рост эффективности этой передачи.

Научная значимость работы. Результаты исследования расширяют представление о механизме действия ЭСБАР и его аналогов, а также дают новые доказательства физиологической роли ЭСБАР. В частности, углублено представление об ЭСБАР и его аналогах, как факторах, повышающих эффективность активации метаботропных β_2 -АР за счет увеличения сродства этих рецепторов к агонисту, а также как факторах, препятствующих действию β -адреноблокаторов. Результаты исследования расширяют представление о ЛФХ как модуляторе β_2 -адрено- и М-холинорецепторов.

Практическая значимость работы. Получены доказательства возможности клинического применения аналогов ЭСБАР (в том числе путем внутривенного их введения) с целью повышения эффективности активации β -АР у пациентов с дефицитом адренергических воздействий и снижения десенситизации в отношении вводимых в организм β -адреномиметиков (например, при бронхиальной астме), а также в качестве антагонистов β -адреноблокаторов при их избыточном введении пациентам. Для диетологии важным является положение о том, что естественные компоненты пищи – гистидин, триптофан и тирозин после их приема могут оказать существенное влияние на процессы регуляции деятельности висцеральных систем организма и мозга. Для клиницистов представляют интерес сведения о способности милдроната и предуктала, которые широко используются в кардиологии и других разделах клинической медицины как антиоксиданты, оказывать β -адреносенсибилизирующее влияние, и тем самым снижать эффективность β -адреноблокаторов.

Внедрение Результаты работы используются в учебной и научной деятельности кафедры биологии Вятского государственного гуманитарного университета.

Апробация работы. Результаты исследования доложены на I всероссийской молодежной научной конференции «Молодежь и наука на сервере» (Сыктывкар, 2008), на Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня рождения академика Т. М. Турпаева «Механизмы нервных и нейроэндокринных регуляций» (Москва, 2008), на 12 Всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина» (С.-Петербург, 2009), на XI итоговой межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых и студентов Вятской государственной медицинской академии «Молодежь и медицинская наука в XXI веке» (Киров, 2009) на научной конференции Вятского государственного гуманитарного университета (2008, 2009), на заседании Кировского отделения физиологического общества имени И. П. Павлова (Киров, 2009). Результаты представлены в материалах VIII Молодежной научной конференции Института физиологии Коми НЦ УрО РАН «Физиология че-

ловека и животных: от эксперимента к клинической практике» (Сыктывкар, 2009), VIII юбилейной российской научной конференции с международным участием «Реабилитация и вторичная профилактика в кардиологии» (Москва, 2009), XIV международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации» (Москва, 2009), всероссийской научно-практической конференции молодых ученых, аспирантов и соискателей, посвященной 80-летию Вятской ГСХА (Киров, 2010), на XXI съезде физиологического общества им. И.П. Павлова (Калуга, 2010), всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы трансфизиологии и клинической медицины» (Киров, 2010).

По материалам диссертации опубликовано 13 работ, в том числе 4 статьи в журналах, включенных в Перечень ВАК России.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 150 страницах компьютерного текста и состоит из введения, трех глав (обзор литературы, объекты и методы исследования, результаты исследования и их обсуждение), заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 105 источников на русском языке и 182 на иностранных языках. Диссертация иллюстрирована 14 таблицами и 15 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Проведено 40 серий исследований, в которых оценивали влияние адреналина, ацетилхолина, ЛФХ, 100- и 50-кратных разведений сыворотки венозной крови 35 небеременных женщин как источника ЭСБАР, а также гистидина и других аналогов ЭСБАР на спонтанную или вызванную ГРК сократительную активность продольных полосок ($n=386$) рога матки небеременных крыс ($n = 117$), взятых в опыт в стадии метаэструса или диэструса. Ее определяли по картине влагалищного мазка (Киршенблат Я.Д., 1969). Забой крысы осуществляли по «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ МЗ СССР от 12.08.77). Полоски рога матки имели длину 5–8 мм и ширину 2–3 мм. Регистрацию их сократительной активности проводили на многоканальном «Миоцитографе» по методике Циркина В. И. и соавт. (1997) при 38 °С, постоянной скорости перфузии раствора Кребса со скоростью 0,7 мл/мин, пассивной аэрации рабочей камеры и исходной нагрузке полосок, равной 500 мг (4,9 мН). «Миоцитграф» включал самопишущие приборы типа Н-3020, механотроны 6МХ1Б или 6МХ1С, измерители-регуляторы температуры ТРМ1А «Овен» и шприцевые дозаторы (все – российского производства). Во всех сериях началу опытов предшествовал 30-минутный период адаптации полосок, т. е. перфузия раствором Кребса до установления стабильной спонтанной СА. Результаты тестирований полосок оценивали по механограммам. Изменение тонической активности полосок выражали в мН или в процентах к одному из этапов эксперимента. Забор венозной крови проводили (при добровольном согласии) у доноров в Кировском НИИ гематологии и переливания крови. Сыворотку получали путем центрифугирования при 1000 об/мин в течение 20 минут и исследовали в течение 3–6 часов от момента её забора.

В работе использовали раствор Кребса (рН = 7,4), содержащий (мм): NaCl – 136, KCl – 4,7, CaCl₂ – 2,52, MgCl₂ – 1,2, KH₂PO₄ – 0,6, NaHCO₃ – 4,7, C₆H₁₂O₆ – 11. Гиперкалиевый раствор Кребса дополнительно содержал 60 мМ KCl. Применяли адреналина гидрохлорид, атенолол (все – Россия), лизофосфатидилхолин (Украина), обзидан, метопролол (Германия), ацетилхолина хлорид, тирозин, триптофан (Бельгия), милдронат (Латвия), гистидин (Япония) и предуктал (Польша). Результаты исследования подвергнуты статистической обработке; различия оценивали по критерию Стьюдента и считали их достоверными при $p < 0,05$ (Гланц С., 1999).

Результаты исследования и их обсуждение

1. Способность сыворотки крови и аналогов ЭСБАР противодействовать влиянию β -адреноблокаторов на релаксирующий эффект адреналина (серии 1–15). С учетом того, что β -АР относятся к метаботропным рецепторам, все 15 серий проводили на фоне тонуса, повышенного ГРК. Это позволило минимизировать изменения СА, неизбежно происходящие при длительной работе с изолированным миометрием крысы. При замене раствора Кребса на ГРК тоническая активность (KCl-контрактура) развивалась относительно быстро (рис. 1–3). Она была устойчива на протяжении всего периода воздействия ГРК и многократно воспроизводилась. Адреналин (10^{-8} – 10^{-6} г/мл) вызывал дозозависимое и обратимое снижение KCl-контрактуры. Так, в сериях 1–3, проводимых по схеме: РК → ГРК → ГРК + Ад (соответственно в концентрации 10^{-8} , или 10^{-7} , или 10^{-6} г/мл) → РК, адреналин дозозависимо и обратимо снижал контрактуру соответственно до $71,8 \pm 4,7\%$, $56,7 \pm 6,3\%$ и $52,1 \pm 5,5\%$ от ее исходной величины. Поэтому в остальных сериях, проводимых на фоне KCl-контрактуры, адреналин использовали в концентрациях 10^{-8} или 10^{-7} г/мл, вызывающих выраженный, но не максимальный релаксирующий эффект. Это позволяло наблюдать β -адреномодулирующее действие сыворотки крови и аналогов ЭСБАР.

При исследовании влияния адреноблокаторов (атенолола, метопролола и обзидана, 10^{-9} – 10^{-6} г/мл) на релаксирующий эффект адреналина в сериях 4–6, которые проводили по схеме: РК → ГРК → ГРК + Ад, 10^{-7} г/мл → ГРК + Ад-7 + блокатор (его концентрация возрастала ступенчато с 10^{-9} до 10^{-6} г/мл) → РК, установлено (рис. 1; табл. 1), что селективные β_1 -адреноблокаторы атенолол и метопролол не влияют на релаксирующий эффект адреналина, а неселективный β -адреноблокатор обзидан (10^{-9} – 10^{-6} г/мл) дозозависимо снижает его. Частичную блокаду эффекта адреналина обзидан вызывал в концентрации 10^{-9} г/мл, а полную – в концентрации 10^{-7} г/мл (табл. 1 и 2). В целом, результаты серий 4–6 указывают на то, что релаксирующий эффект адреналина реализуется за счет активации лишь β_2 -АР, которые, как известно (Сизова Е. Н., Циркин В. И., 2006), доминируют в миоцитах продольного слоя рога матки небеременных крыс. Поэтому в сериях 7–15, в которых оценивали способность ЭСБАР и его аналогов противодействовать β -адреноблокатору, использовали обзидан.

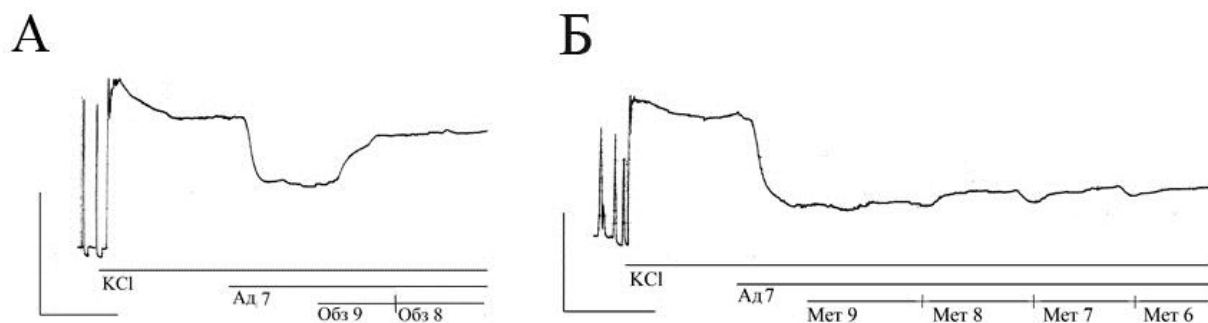


Рис. 1. Механограммы продольных полосок рога матки небеременных крыс, демонстрирующие β -адреноблокирующую способность обзидана (10^{-9} , 10^{-8} г/мл; Обз 9, 8; панель А) и отсутствие у метопролола (10^{-9} – 10^{-6} г/мл; Мет 9 – Мет 6; панель Б) β -адреноблокирующего эффекта. Горизонтальные линии под механограммами отражают воздействия соответствующих веществ, в том числе адреналина (10^{-7} г/мл; Ад 7). Калибровка – 10 мН, 10 мин.

Таблица 1

Величина тонуса ($M \pm m$), вызванного гиперкалиевым (60 мМ КСl) раствором Кребса у продольных полосок рога матки небеременных крыс на различных этапах эксперимента с адреналином (10^{-7} г/мл; Ад) и блокаторами – атенололом, метопрололом и обзиданом (10^{-9} – 10^{-6} г/мл)

Единицы измерения тонуса	Этапы эксперимента					
	1 КСl	2 КСl + Ад	3 КСl + Ад + блокатор, 10^{-9}	4 КСl + Ад + блокатор, 10^{-8}	5 КСl + Ад + блокатор, 10^{-7}	6 КСl + Ад + блокатор, 10^{-6}
Серия 4 – атенолол (n=10)						
мН	13,9±0,7	8,5±0,7 ¹	8,7±0,8 ¹	9,4±0,7 ¹	9,8±0,8 ¹	9,8±0,7 ¹
%	100	60,8±4,6 ¹	63,7±4,4 ¹	67,3±3,8 ¹	70,4±4,2 ¹	71,2±5,3 ¹
Серия 5 – метопролол (n=12)						
мН	12,5±1,1	7,0±0,9 ¹	7,1±0,9 ¹	8,0±1,0 ¹	8,3±1,0 ¹	8,6±1,0 ¹
%	100	55,2±4,8 ¹	55,4±4,6 ¹	63,0±5,8 ¹	65,3±4,8 ¹	68,5±5,9 ¹
Серия 6 – обзидан (n=10)						
мН	13,4±1,4	7,2±0,9 ¹	9,6±1,3 ¹	10,9±1,5 ²	13,0±1,5 ^{2,3}	12,8±1,6 ^{2,3}
%	100	54,1±4,5 ¹	70,5±4,7 ^{1,2}	79,8±5,3 ^{1,2}	96,8±1,9 ^{2,3,4}	100,4±1,7 ^{2,3,4}

^{1,2,3,4} – различие с соответствующим этапом достоверно ($p < 0,05$) по критерию Стьюдента.

Таблица 2

Концентрации обзидана, которые в опытах с продольными полосками рога матки небеременных крыс частично или полностью снимают релаксирующий эффект адреналина (10^{-7} г/мл) в отсутствии (контроль) и на фоне β -адреносенсибилизатора.

β -Адреносенсибилизатор (г/мл)	Число опытов	Концентрация обзидана (г/мл), снимающая эффект адреналина	
		частично	полностью
Контроль	10	10^{-9}	10^{-7}
Сыворотка, 1:100	10	10^{-8}	10^{-6}
Гистидин, 10^{-5}	5	10^{-7}	10^{-7}
Гистидин, 10^{-4}	8	10^{-7}	10^{-7}
Триптофан, 10^{-5}	5	10^{-6}	10^{-6}
Триптофан, 10^{-4}	11	10^{-8}	$> 10^{-6}$
Тирозин, 10^{-5}	5	10^{-8}	10^{-8}
Тирозин, 10^{-4}	9	10^{-7}	10^{-7}
Милдронат, 10^{-6}	11	10^{-7}	10^{-6}
Предуктал, 10^{-6}	12	10^{-9}	$> 10^{-6}$

Исследование влияния 100-кратного разведения сыворотки крови небеременных женщин (как источника ЭСБАР) на β -адреноблокирующее действие обзидана (серия 7, $n = 10$) проводили по схеме: РК \rightarrow ГРК \rightarrow ГРК + Ад-7 \rightarrow ГРК + Ад-7 + Сыв \rightarrow РК \rightarrow ГРК \rightarrow ГРК + Ад-7 \rightarrow ГРК + Ад-7 + обзидан (10^{-9} г/мл, Обз-9) \rightarrow те же воздействия + Сыв \rightarrow РК \rightarrow ГРК + Ад-7 + Обз-8 + Сыв \rightarrow ГРК + Ад-7 + Обз-7 + Сыв \rightarrow ГРК + Ад-7 + Обз-6 + Сыв \rightarrow РК. Установлено (рис. 2), что исходно, как и в опытах других исследователей (Сизова Е. Н., Циркин В. И., 2006), сыворотка крови не влияла на тоническую активность полосок, но проявляла β -адреносенсибилизирующую активность, т. е. усиливала релаксирующее действие адреналина.

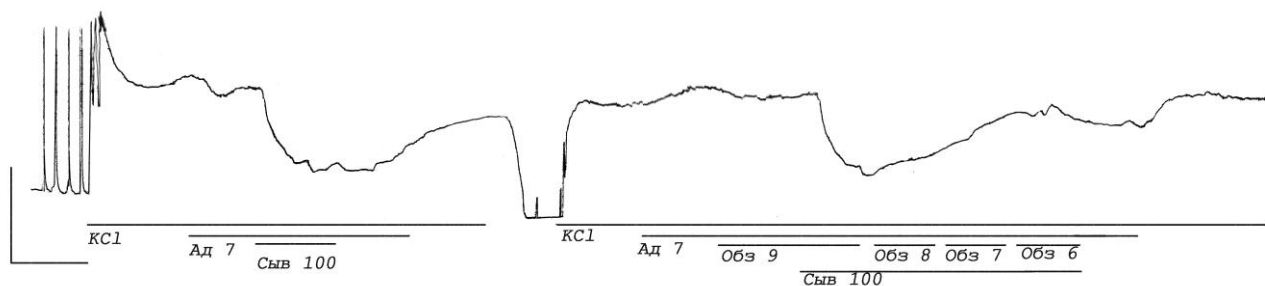


Рис. 2. Механограмма продольной полоски рога матки небеременной крысы, отражающая способность сыворотки крови (1:100, Сыв 100) оказывать адреносенсибилизирующий эффект и уменьшать бета-адреноблокирующие свойства обзидана (10^{-9} – 10^{-6} г/мл; Обз 9–6) на фоне КС1-контрактуры. Горизонтальные линии под механограммой означают момент воздействия веществ, в том числе адреналина (10^{-7} г/мл; Ад 7). Калибровка – 10 мН, 10 мин.

Так, если первоначально адреналин снижал КС1-контрактуру до $82,7 \pm 6,8\%$ от исходного уровня, то на фоне сыворотки крови (1:100) он снижал ее до $35,6 \pm 5,5\%$, т.е. проявлял достоверно ($p < 0,05$) более выраженное релаксирующее влияние, чем при 1-м тестировании. В этих условиях обзидан в концентрациях 10^{-9} г/мл не влиял на релаксирующий эффект адреналина, а в концентрациях 10^{-8} , 10^{-7} и 10^{-6} г/мл дозозависимо снижал его: КС1-контрактура восстанавливалась соответственно до $57,4 \pm 4,7\%$, $68,6 \pm 9,4$ и $87,2 \pm 9,0\%$ от исходного уровня. Таким образом, на фоне сыворотки крови концентрации обзидана, частично или полностью блокирующие эффект адреналина, составили соответственно 10^{-8} и 10^{-6} г/мл, что в 10 раз превышает исходные значения (табл. 2). Это означает, что сыворотка крови противодействует влиянию β -адреноблокатора на релаксирующий эффект адреналина. Скорее всего, это связано с наличием в ней ЭСБАР. Об этом свидетельствуют и результаты опытов с аналогами ЭСБАР (серии 8–15). Их проводили по измененной схеме: (табл. 3): РК \rightarrow ГРК \rightarrow ГРК + Ад 7 \rightarrow ГРК + Ад 7 + аналог ЭСБАР (в одной из концентраций) \rightarrow эти же компоненты + обзидан в возрастающих концентрациях от 10^{-9} до 10^{-6} г/мл. Результаты экспериментов показали, что подобно сыворотке крови исходно аналоги ЭСБАР проявляют β -адреносенсибилизирующую активность на фоне КС1-контрактуры, а при наличии в среде обзидана они снижают его способность блокировать релаксирующее действие адреналина (табл. 2 и 3), о чем свидетельствует 10–1000-кратный рост пороговых концентраций обзидана, частично или полностью снимающие релаксирующий эффект адреналина. Так, в серии 11 адреналин (10^{-7} г/мл) первоначально снижал

КСI-контрактуру до 89,9% от ее исходного уровня, на фоне триптофана (10^{-4} г/мл) он снижал ее до 65,3%, а на фоне триптофана и обзидана в концентрациях 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} и 10^{-6} г/мл – соответственно до 72,3%, 81,5%, 85,5% и 88,6% (табл. 3). Эти данные показывают, что триптофан повышает пороговые концентрации обзидана, частично или полностью блокирующие эффект адреналина, соответственно в 10 и в 100 раз.

Таблица 3

Величина тонуса ($M \pm m$; в мН и в % к 1-му этапу), вызванного гиперкалиевым (60 мМ КСI) раствором Кребса, у продольных полосок рога матки небеременных крыс на различных этапах эксперимента с адреналином (10^{-7} г/мл), аминокислотами (10^{-5} и 10^{-4} г/мл), милдронатом и предукталом (10^{-6} г/мл) и обзиданом (10^{-9} – 10^{-6} г/мл).

	Этапы эксперимента						
	1	2	3	4	5	6	7
	КСI	КСI + адреналин	КСI + адреналин + вещество	КСI + адреналин + вещество			
обзидан 10^{-9} г/мл				обзидан 10^{-8} г/мл	обзидан 10^{-7} г/мл	обзидан 10^{-6} г/мл	
Серия 8 – гистидин, 10^{-5} г/мл (n=5)							
мН	12,9±2,2	12,4±2,2	10,3±1,6	11,5±1,7	12,3±1,9	12,7±2,1	12,4±2,1
%	100	94,7±1,7 ¹	81,6±6,5 ¹	89,7±3,3 ¹	95,9±2,5	98,6±1,1 ^{3,4}	96,0±0,7 ¹
Серия 9 – гистидин, 10^{-4} г/мл (n=8)							
мН	15,7±1,4	14,5±1,3	11,7±1,5	13,1±1,4	14,1±1,2	14,8±1,3	14,7±1,3
%	100	92,7±1,4 ¹	74,6±7,1 ^{1,2}	85,1±6,3 ¹	91,9±5,7	96,2±6,4 ³	96,0±6,8 ³
Серия 10 – триптофан, 10^{-5} г/мл (n=5)							
мН	15,5±1,5	12,9±1,6	12,1±1,5	11,7±1,5	12,6±1,4	13,9±1,3	14,7±1,3
%	100	82,5±2,7 ¹	77,2±4,0 ¹	75,2±4,7 ¹	81,9±4,6 ¹	90,5±4,7	95,7±5,0 ^{2,3,4}
Серия 11 – триптофан, 10^{-4} г/мл (n=11)							
мН	15,5±0,9	13,8±0,7	9,9±0,7 ^{1,2}	10,9±0,5 ^{1,2}	12,4±0,5 ^{1,3,4}	13,1±0,6 ^{1,3,4}	13,5±0,6 ^{3,4}
%	100	89,9±1,8 ¹	65,3±4,1 ^{1,2}	72,3±4,0 ^{1,2}	81,5±2,9 ^{1,2,3}	85,5±2,8 ^{1,3,4}	88,6±3,1 ^{1,3,4}
Серия 12 – тирозин, 10^{-5} г/мл (n=5)							
мН	11,8±1,3	11,3±1,3	9,7±1,3	10,3±1,2	11,5±1,5	11,9±1,5	12,0±1,5
%	100	95,5±1,6 ¹	81,7±3,8 ^{1,2}	87,5±4,3 ¹	97,2±2,9 ³	100,3±3 ^{3,4}	101,5±2,5 ^{3,4}
Серия 13 – тирозин, 10^{-4} г/мл (n=9)							
мН	16,0±1,9	14,4±1,7	11,3±1,9	11,3±2,0	12,8±1,6	14,2±1,6	14,4±1,5
%	100	90,1±2,7 ¹	68,6±5,9 ^{1,2}	69,6±9,0 ^{1,2}	81,6±5,2 ¹	91,0±4,6 ³	93,4±5,4 ^{3,4}
Серия 14 – милдронат, 10^{-6} г/мл (n=11)							
мН	13,8±1,2	7,2±1,2 ¹	6,3±1,2 ¹	6,6±1,2 ¹	7,8±1,4 ¹	12,2±1,4 ^{2,3,4,5}	13,1±1,4 ^{2,3,4,5}
Серия 15 – предуктал, 10^{-6} г/мл (n=12)							
мН	15,7±1,7	10,9±1,7	9,1±1,4 ¹	10,8±1,1 ¹	12,3±1,1	14,9±1,3 ^{3,4}	15,0±2,3 ³
%	100	65,3±4,9 ¹	54,0±4,2 ¹	73,7±6,7 ^{1,3}	83,7±6,2 ^{1,2,3}	83,0±2,3 ^{1,2,3}	84,6±5,6 ^{1,2,3}

^{1,2,3,4,5} – различие с соответствующим этапом достоверно ($p < 0,05$) по критерию Стьюдента.

Как известно, классические β -адреноблокаторы оказывают свое действие за счет того, что в силу более высокого сродства к адренорецепторам, они конкурентно связываются с β -АР и тем самым препятствуют активации этих рецепторов агонистами (Кукес В. Г. и соавт., 2005). Способность ЭСБАР и его аналогов препятствовать действию обзидана подтверждает предположение о том, что один из механизмов их действия связан с повышением сродства β -АР к агонисту. Результаты серий 7–15 также дают основание считать, что ЭСБАР при достаточно высокой его концентрации в крови, которая, как показано (Сизова Е. Н., Циркин В. И., 2006; Хлыбова С. В., 2007), зависит от возраста, пола (у женщин – от фазы репродуктивного процесса) и наличия патологии, может существенно ослабить действие β -адреноблокаторов, используемых с лечебной

целью. Подобный эффект могут оказать и аналоги ЭСБАР, поступающие в организм с пищей (гистидин, триптофан, тирозин) или в виде лекарственных средств (милдронат, предуктал).

Таким образом, результаты наших исследований впервые показывают, что клиническая эффективность адреноблокаторов может зависеть от содержания в крови ЭСБАР и его аналогов.

2. Способность аналогов ЭСБАР проявлять β -адреносенсибилизирующую активность в присутствии 100-кратного разведения сыворотки крови как источника ЭСБАР (серии 16–20). Эксперименты по исследованию совместного действия 100-кратного разведения сыворотки крови небеременных женщин с одним из аналогов ЭСБАР проводили на фоне КСI-контрактуры по схеме: КР \rightarrow ГРК \rightarrow ГРК + Ад-8 \rightarrow ГРК + Ад-8 + Аналог \rightarrow РК \rightarrow ГРК \rightarrow ГРК + Ад-8 \rightarrow ГРК + Ад-8 + Сыв, 1:100 \rightarrow РК \rightarrow ГРК \rightarrow ГРК + Ад-8 \rightarrow ГРК + Ад-8 + Аналог + Сыв \rightarrow РК (рис. 3, табл. 4). В этих опытах исходно адреналин снижал КСI-контрактуру до 71,8–86,6% от ее исходного уровня. На фоне сыворотки крови (1:100) или на фоне аналога ЭСБАР – гистидина, триптофана, тирозина (все – 10^{-4} г/мл), милдроната и предуктала (оба – 10^{-6} г/мл) его релаксирующий эффект, как правило, достоверно возрастал. Это означает, что сыворотка крови и каждый из аналогов ЭСБАР проявляют β -адреносенсибилизирующую активность. При действии адреналина на фоне сыворотки крови (1:100) и аналога ЭСБАР релаксирующий эффект адреналина также был достоверно выше, чем при 1-м тестировании или при воздействии адреналина совместно с сывороткой крови, но не выше, чем при воздействии адреналина совместно с аналогом ЭСБАР. Так, в серии 18 исходно адреналин снижал КСI-контрактуру до 86,5% от ее первоначальной величины, а на фоне триптофана – до 69,7%, т. е. достоверно ($p < 0,05$) больше; аналогично – до и на фоне сыворотки адреналин снижал КСI-контрактуру соответственно до 92,9% и 84,2% ($p < 0,05$), а до и на фоне триптофана и сыворотки – соответственно до 92,3% и 74,6% ($p < 0,05$).

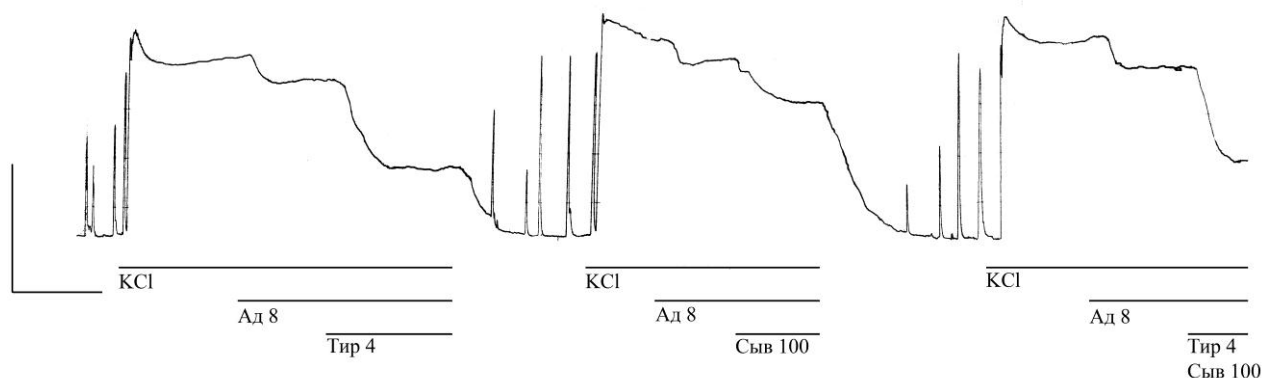


Рис. 3. Механограмма продольной полоски рога матки небеременной крысы, демонстрирующая бета-адреносенсибилизирующую активность тирозина (10^{-4} г/мл; Тир 4), 100-кратного разведения сыворотки крови (Сыв 100), в том числе при их совместном воздействии, на фоне КСI-контрактуры.

Горизонтальные линии означают момент воздействия веществ, включая адреналина (10^{-8} г/мл; Ад 8). Калибровка – 10 мН, 10 мин.

Таблица 4

Величина тонуса ($M \pm m$), вызванного гиперкалиевым (60 мМ КСl) раствором Кребса у продольных полосок рога матки небеременных крыс на различных этапах эксперимента с адреналином (10^{-8} г/мл; Ад), экзогенными сенситизаторами (С) – аминокислотами (10^{-4} г/мл), милдронатом и предукталом (10^{-6} г/мл), а также 100-кратным разведением сыворотки крови (Сыв).

Ед. измерения	Этапы эксперимента								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	КСl	КСl + Ад	КСl + Ад + С	КСl	КСl + Ад	КСl + Ад + Сыв	КСl	КСl + Ад	КСl + Ад + Сыв + С
Серия 16 – гистидин, 10^{-4} г/мл (n=12)									
мН	16,4± 0,9	13,2± 0,7 ¹	6,4± 1,0 ^{1,2}	18,7± 0,9	17,3± 1,0	16,0± 1,2	18,5± 1,2	17,1± 1,2	9,6± 1,4 ^{7,8}
%	100	81,6± 4,0 ¹	39,2± 6,1 ^{1,2}	100	92,8± 3,0 ⁴	85,0± 4,4 ⁴	100	93,0± 2,2 ⁷	53,5± 7,1 ^{7,8}
Серия 17 – тирозин, 10^{-4} г/мл (n=11)									
мН	13,6± 1,3	11,3± 1,6	6,3± 1,2 ^{1,2}	15,5± 1,2	13,7± 1,3	11,0± 1,2 ⁴	14,1± 1,7	11,7± 1,7	8,8± 1,3 ⁷
%	100	78,2± 7,4 ¹	43,9± 6,7 ^{1,2}	100	86,6± 4,2 ⁴	68,3± 5,1 ^{4,5}	100	79,5± 5,9 ⁷	58,7± 7,3 ^{7,8}
Серия 18 – триптофан, 10^{-4} г/мл (n=9)									
мН	13,9± 1,7	12,1± 1,5	9,8± 1,3	13,6± 2,1	12,6± 1,9	11,5± 1,8	13,5± 1,9	12,4± 1,7	9,8± 1,2
%	100	86,5± 2,3 ¹	69,7± 4,0 ^{1,2}	100	92,9± 0,8 ⁴	84,2± 2,4 ^{4,5}	100	92,3± 0,8 ⁷	74,6± 3,3 ^{7,8}
Серия 19 – милдронат, 10^{-6} г/мл (n=11)									
мН	10,9± 1,6	8,2± 1,6	6,4± 1,6	9,4± 1,8	8,2± 1,9	6,1± 1,4	9,8± 1,6	8,4± 1,7	6,8± 1,6
%	100	71,8± 4,7 ¹	52,4± 7,0 ^{1,2}	100	80,7± 5,3 ⁴	59,0± 4,5 ^{4,5}	100	80,5± 4,1 ⁷	61,9± 4,9 ^{7,8}
Серия 20 – предуктал, 10^{-5} г/мл (n=10)									
мН	10,7±1,0	8,2± 0,8	5,8± 0,9 ¹	9,9± 0,8	8,3± 0,6	6,3± 0,4 ^{4,5}	10,8± 1,3	9,9± 1,2	6,9± 0,9 ⁷
%	100	76,4± 2,3 ¹	53,0± 5,3 ^{1,2}	100	85,1± 2,4 ⁴	64,7± 2,6 ^{4,5}	100	90,9± 0,8 ⁷	64,0± 2,1 ^{7,8}

^{1...8} – различие с соответствующим этапом достоверно ($p < 0,05$) по критерию Стьюдента.

В целом, результаты серий 16–20 указывают на то, что сыворотка крови, независимо от наличия в ней ЭСБАР (в опытах с гистидином его содержание в сыворотке крови оказалось невысоким), не препятствует β -адреносенситизирующему эффекту аналогов ЭСБАР. В то же время не удалось наблюдать взаимного потенцирования эффектов ЭСБАР и его экзогенных аналогов. Это означает, что механизм β -адреносенситизирующей активности сыворотки крови такой же, как и у аналогов ЭСБАР. Есть так же все основания утверждать, что аналоги ЭСБАР можно использовать для изучения механизма действия ЭСБАР. Очевидно также, что при внутривенном введении аналогов ЭСБАР, например, с целью повышения эффективности активации β -АР при лечении бронхиальной астмы или угрозы преждевременных родов, кровь не будет препятствовать проявлению их β -адреносенситизирующей активности.

3. Способность гистидина противодействовать десенситизации, вызываемой многократными кратковременными (по 10 мин) воздействиями адреналина (серия 21). Опыты проводили на спонтанно активных полосках миометрия, на которых, как известно (Циркин В. И., Дворянский С. А., 1997; Сизова Е. Н., Циркин В. И., 2006), десенситизация проявляется достаточно яр-

ко. Их вели по схеме: РК → Ад-7 → РК → Ад-7 → РК → Ад-7 → Ад-7 + Гис-6 → РК → Ад-7 + Гис-6 → РК → Ад-7 + Гис-6 → РК (n=10). Было показано (рис. 4), что в условиях перфузии раствором Кребса полоски генерируют фазные сокращения. Их суммарная СА, т. е. сумма амплитуд, составила $73,2 \pm 3,4$ мН/10 мин. Адреналин (10^{-7} г/мл) при 1-м тестировании обратимо угнетал ее до $15,1 \pm 0,9$ мН/10 мин, или до 20,6% от исходной величины.

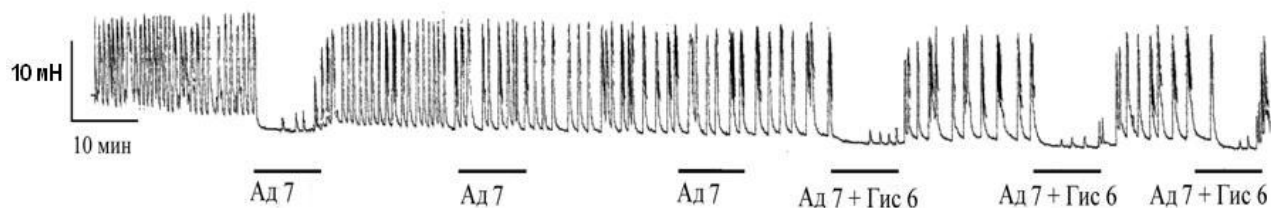


Рис. 4. Механограмма продольной полоски рога матки небеременной крысы, демонстрирующая способность гистидина (10^{-6} г/мл, Гис 6) препятствовать десенситизации, вызванной адреналином (10^{-7} г/мл, Ад 7). Горизонтальные линии означают момент воздействия. Калибровка – 10 мН, 10 мин.

Однако уже при 2-м тестировании адреналин оказывал более слабое угнетение спонтанной СА – с $62,0 \pm 3,5$ до $49,5 \pm 4,1$ мН/10 мин., т. е. всего лишь до 80% от исходного уровня, что говорит о выраженной десенситизации. Аналогичная ситуация повторилась при 3-м тестировании – адреналин снижал суммарную СА с $53,8 \pm 3,6$ до $42,1 \pm 2,0$ мН/10 мин, т. е. до 78%. Гистидин (10^{-6} г/мл) сам по себе не изменял суммарную СА полосок, но достоверно повышал способность адреналина ингибировать суммарную СА – на его фоне адреналин снижал суммарную СА с $40,5 \pm 3,3$ до $2,0 \pm 0,3$ мН/10 мин, т. е. до 5% от исходного уровня. При последующих двух тестированиях совместно с гистидином адреналин продолжал оказывать выраженный релаксирующий эффект – суммарная СА снижалась соответственно с $53,5 \pm 3,3$ до $4,8 \pm 0,9$ мН/10 мин, т. е. до 9% и с $51,7 \pm 2,8$ до $8,8 \pm 0,8$ мН/10 мин, т. е. до 17%. Таким образом, нами установлено, что гистидин даже в невысокой концентрации (10^{-6} г/мл) снимает развившуюся под влиянием периодических воздействий адреналина десенситизацию β -АР и препятствует ее дальнейшему развитию, т. е. пролонгирует действие адреналина как ингибитора СА. Наши результаты согласуются с данными Тумановой Т. В. и соавт. (2004) о способности гистидина восстанавливать эффективность активации β -АР миометрия крысы, сниженную в результате 30-минутного непрерывного воздействия адреналина. Как известно, десенситизация β -АР является результатом фосфорилирования β -АР под влиянием киназы β -АР и/или протеинкиназы А, которым противодействует фосфатаза (Сизова Е. Н., Циркин В. И., 2006). Результаты наших исследований позволяют считать, что гистидин восстанавливает нативную структуру β -АР, т. е. способствует их дефосфорилированию. Не исключено, что это связано с повышением активности фосфатазы под влиянием гистидина. Вероятно, подобный механизм действия характерен для ЭСБАР и других его аналогов. Полагаем, что способность ЭСБАР и его аналогов противодействовать развитию десенситизации и пролонгировать действие катехоламинов должна найти широкое клиническое применение, так как введение пациентам β -адреномиметиков, как правило, сопровождается развитием выраженной десенситизации.

4. Способность гистидина модулировать сократительные эффекты адреналина и ацетилхолина на фоне ЛФХ и куриного яичного желтка как источника ЛФХ (серии 22–30). Опыты с адреналином были выполнены на спонтанно активных полосках миометрия (серии 22) и на полосках в условиях их КС1-контрактуры (серии 23 и 24). Серию 22 ($n = 10$), в которой исследовали влияния ЛФХ на эффекты адреналина, проводили по схеме: РК → АД-8 → РК → АД-8 + Гис-6 → РК → ЛФХ-4 → ЛФХ-4 + АД-8 + Гис-6 → РК → АД-8 + Гис-6 → РК → АД-8 + Гис-4 → РК (рис. 5). Применение гистидина на первых этапах этой серии было связано с необходимостью снизить скорость десенситизации β -АР, вызываемой периодическими воздействиями адреналина. В этих опытах исходно адреналин (10^{-8} г/мл) снижал суммарную СА с $69,3 \pm 3,1$ до $34,4 \pm 2,4$ мН/10 мин, т. е. до 50% от исходного уровня. На фоне гистидина (10^{-6} г/мл) он снижал ее намного сильнее – с $66,2 \pm 3,2$ до $10,5 \pm 0,9$ мН/10 мин, т. е. до 16%. Сам по себе ЛФХ (10^{-4} г/мл) не влиял на суммарную СА – исходно она составляла $71,3 \pm 3,2$ мН/10 мин, а на фоне ЛФХ – $74,8 \pm 2,8$ мН/10 мин, или 105%. На фоне ЛФХ и гистидина адреналин первоначально сохранял способность ингибировать СА – он снижал суммарную СА с $74,8 \pm 2,8$ до $16,5 \pm 1,5$ мН/10 мин, т. е. до 22% от исходного уровня. Однако при двух последующих тестированиях, которые проводились после удаления ЛФХ, адреналин, несмотря на присутствие гистидина (10^{-6} г/мл), снижал суммарную СА на значительно меньшую величину – с $89,5 \pm 3,7$ до $44,2 \pm 3,5$ мН, т. е. до 49%, и с $88,5 \pm 4,6$ до $44,9 \pm 2,4$ мН, т. е. до 51%. Повышение в среде концентрации гистидина до 10^{-4} г/мл лишь в части опытов приводило к росту релаксирующего эффекта адреналина (рис. 5), хотя в среднем и в этих условиях адреналин снижал суммарную СА в меньшей степени – с $98,2 \pm 6,5$ до $46,1 \pm 10,1$ мН/10 мин, т. е. до 47%. Все это говорит о том, что ЛФХ проявляет β -адреноблокирующий эффект, но с большим латентным периодом. Этот эффект ЛФХ сохраняется 20–40 минут. Гистидин восстанавливает способность адреналина ингибировать спонтанную СА, но для этого он должен быть использован в высоких концентрациях и его эффект наблюдается не в 100% опытов.

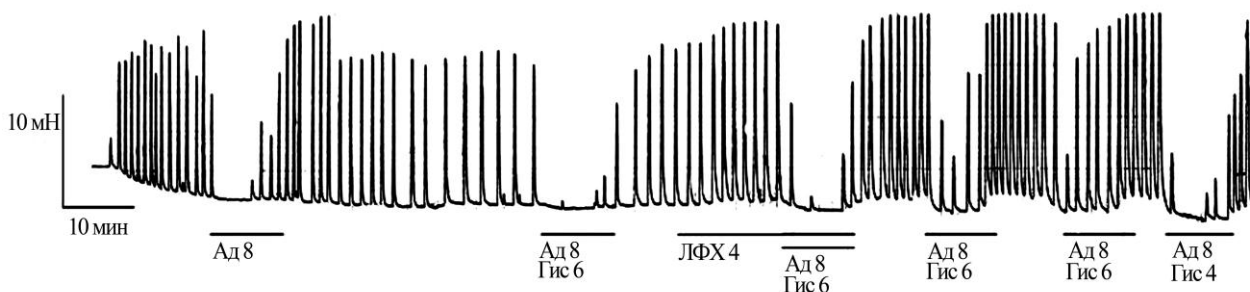


Рис. 5. Механограмма продольной полоски рога матки небеременных крыс, демонстрирующая способность лизофосфатидилхолина (10^{-4} г/мл; ЛФХ 4) оказывать бета-адреноблокирующее действие на фоне адреналина (10^{-8} г/мл; Ад 8) и гистидина (10^{-6} , 10^{-4} г/мл; Гис 6, 4). Горизонтальные линии означают момент воздействия. Калибровка – 10 мН, 10 мин.

Наши результаты частично подтверждают данные Пенкиной Ю.А. и соавт. (2008), согласно которым ЛФХ (10^{-5} г/мл) блокирует β -АР кардиомиоцитов лягушки и крысы, а гистидин (10^{-4} г/мл) снимает эту блокаду. По мнению этих

авторов, β -адреноблокирующий эффект ЛФХ обусловлен изменением конформации G-белка и других посредников передачи сигнала, а гистидин восстанавливает их нативную конформацию и тем самым восстанавливает эффективность передачи сигнала от рецептора внутрь клетки. Ранее было показано (Проказова Н. В. и соавт., 1998; Куншин А. А. и соавт., 2007), что ЛФХ может снижать эффективность активации М-холинорецепторов (М-ХР). Проказовой Н. В. и соавт. (1998) это объяснялось способностью ЛФХ активировать протеинкиназу С, в результате чего происходит фосфорилирование М-ХР. Мы полагаем, что в основе β -адреноблокирующего действия ЛФХ лежат оба указанных механизма, т. е. фосфорилирование β -АР под влиянием активированной ЛФХ протеинкиназы А и изменение конформации G-белка и других посредников, а гистидин дефосфорилирует β -АР (активируя фосфатазу) и восстанавливает конформацию участников передачи сигнала; тем самым он восстанавливает эффективность активации β -АР.

С учетом важности данных о способности ЛФХ как естественного компонента клетки снижать эффективность передачи сигнала от β -АР внутрь клетки, мы считали возможным получить дополнительное доказательство этому в опытах, в которых в качестве источника ЛФХ использовали куриный яичный желток (ЯЖ) в разведении 1:100 (серия 23) и 1:50 (серия 24). Ранее было показано, что ЯЖ в разведении 1:500, 1:100 и 1:50 за счет наличия в нем ЛФХ блокирует М-ХР гладких мышц трахеи коровы (Кононова Т.Н., 2004) и желудка крысы (Куншин А. А. и соавт., 2007). Кроме того, в этих опытах мы поставили задачу проверить способность ЛФХ (в составе ЯЖ) блокировать β -АР в условиях деполяризации. Поэтому опыты в серии 23 и 24 вели по схеме: РК \rightarrow ГРК \rightarrow ГРК + АД-7 \rightarrow РК \rightarrow ГРК \rightarrow ГРК + ЯЖ \rightarrow ГРК + ЯЖ + АД-7 \rightarrow КР \rightarrow ГРК \rightarrow ГРК + АД-7 \rightarrow РК \rightarrow ГРК \rightarrow ГРК + ЯЖ \rightarrow ГРК + ЯЖ + АД-7 \rightarrow ГРК + ЯЖ + АД-7 + Гис-5 \rightarrow РК. Нами установлено, что ЯЖ в разведении 1:100 (серия 23, $n = 5$) не влиял на релаксирующее действие адреналина, а в разведении 1:50 (серия 24, $n = 9$) проявлял β -адреноблокирующую активность. В частности, в серии 24 адреналин (10^{-7} г/мл) при 1-м тестировании снижал КС1-контрактуру до $70,2 \pm 6,3\%$ от исходного уровня, а ЯЖ не влиял на нее (на фоне ЯЖ ее амплитуда составила $113,3 \pm 7,9\%$ от исходного уровня). На фоне ЯЖ адреналин снижал контрактуру лишь до $85,9 \pm 4,1\%$ от ее исходной величины ($p_{2-1} > 0,05$), т. е. в определенной степени ниже, чем при 1-м тестировании. При 3-м тестировании, т. е. на фоне ЯЖ и гистидина (10^{-5} г/мл) адреналин снижал КС1-контрактуру до $60,2 \pm 5,4\%$ ($p_{3-2} < 0,05$). Это говорит о том, что гистидин достоверно повысил релаксирующий эффект адреналина, сниженный ЯЖ.

Таким образом, результаты серии 24 подтверждают вывод о том, что ЛФХ (в том числе в составе ЯЖ), снижает эффективность активации β -АР, а гистидин восстанавливает ее. Мы не исключаем, что подобно гистидину, такой же эффект будут оказывать триптофан, тирозин, предуктал и милдронат, а также ЭСБАР.

Исследование способности гистидина модулировать эффекты ацетилхолина в условиях воздействия ЛФХ и ЯЖ (серии 25–30) выполнено на спонтанно активных полосках миометрия. Эти опыты были проведены с целью

оценки специфичности действия ЛФХ и гистидина. Для этого оценивали влияние ЛФХ на эффективность активации М-ХР миометрия крысы и способность гистидина модулировать это влияние. Серию 25, в которой изучали эффект ЛФХ в концентрации 10^{-6} г/мл, вели по схеме: РК → АХ-6 → РК → ЛФХ → ЛФХ + АХ-6 → РК → АХ-6 → РК. По такой же схеме вели опыты с ЛФХ в концентрациях 10^{-5} и 10^{-4} г/мл (серии 26, 27) и с ЯЖ в разведениях 1:100 (серия 28) и 1:50 (серии 29). Во всех этих сериях АХ вызывал типичный обратимый стимулирующий эффект, а ЛФХ и ЯЖ, как и в сериях 22–24, сами по себе не влияли на суммарную СА полосок (рис. 6). В этих опытах ЛФХ (10^{-6} – 10^{-4} г/мл) и ЯЖ в разведении 1:100 не оказывали достоверного влияния на стимулирующий эффект АХ (рис. 6, А), а ЯЖ в разведении 1:50 снижал этот эффект в момент воздействия (серия 29), т. е. проявлял М-холиноблокирующую активность. Так, в серии 29 ($n = 9$) при 1-м тестировании АХ (10^{-6} г/мл) повышал суммарную СА до $105,1 \pm 13,9$ мН/10 мин, а при 2-м тестировании, т. е. на фоне ЯЖ он повышал ее лишь до $78,7 \pm 5,1$ мН/10 мин, что составляет $81,7 \pm 7,1\%$ от величины, наблюдаемой при 1-м тестировании АХ ($p_{2-1} < 0,05$). Это говорит о достоверном снижении стимулирующего эффекта АХ. После удаления ЯЖ способность АХ оказывать стимулирующий эффект восстанавливалась – при 3-м тестировании он повышал суммарную СА до $97,0 \pm 11,9$ мН/10 мин, или до $100,3 \pm 8,2\%$, т. е. также, как и 1-м тестировании.

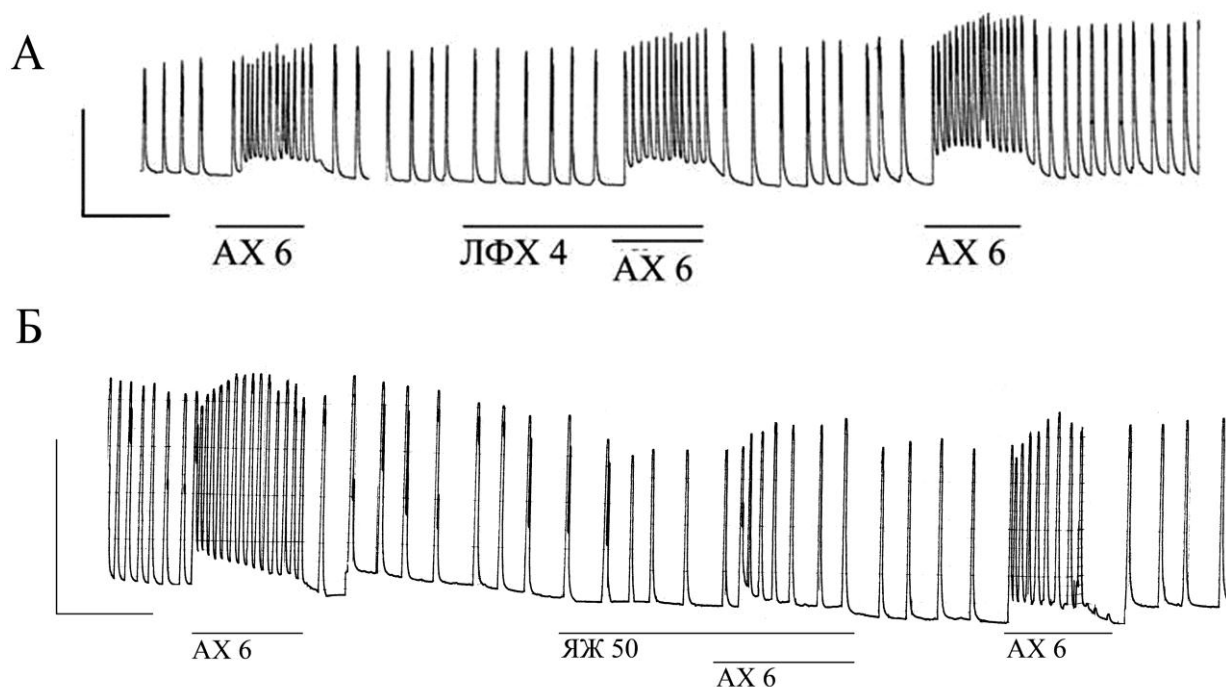


Рис. 6. Механограммы продольных полосок рога матки небеременных крыс, демонстрирующие влияние лизофосфатидилхолина (10^{-4} г/мл; ЛФХ 4) на эффект ацетилхолина (10^{-6} г/мл; АХ 6) – панель А, и М-холиноблокирующую способность куриного яичного желтка (1:50; ЯЖ 50) – панель Б. Горизонтальные линии означают момент воздействия веществ. Калибровка – 10 мН, 10 мин.

В серии 30 ($n = 10$) было исследовано влияние гистидина (10^{-4} г/мл) на М-холиноблокирующее действие ЯЖ в разведении 1:50. Опыты проводили по аналогичной схеме, но с добавлением этапа с гистидином, т. е. РК → АХ-6 →

РК → ЯЖ → ЯЖ + АХ-6 → РК → АХ-6 → РК → АХ + Гис-4 → РК. В этой серии ЯЖ снижал стимулирующий эффект АХ не в момент воздействия ЯЖ, как отмечено в серии 29, а после удаления ЯЖ. При этом гистидин не восстанавливал способность АХ повышать СА миометрия. Действительно, при 1-м тестировании АХ (10^{-6} г/мл) повышал суммарную СА до $184,1 \pm 35,7$ мН/10 мин, на фоне ЯЖ – до $155,7 \pm 21,9$ мН/10 мин, что составляет $90,7 \pm 10,7\%$ от 1-го тестирования АХ ($p_{2-1} > 0,05$), а при 3-м тестировании, т. е. после удаления ЯЖ он повышал суммарную СА до $132,8 \pm 31,1$ мН/10 мин, или до $71,4 \pm 9,5\%$ ($p_{3-2} < 0,05$), т. е. достоверно слабее. При 4-м тестировании, проводимом совместно с гистидином (10^{-4} г/мл), АХ повышал суммарную СА лишь до $135,0 \pm 22,2$ мН/10 мин или до $82,2 \pm 19,6\%$ ($p_{4-1,2,3} > 0,1$) от первого тестирования ацетилхолином.

В целом, результаты серий 28–30 указывают на то, что ЛФХ, содержащийся в яичном желтке, снижает эффективность передачи сигнала от М-ХР внутрь клетки, но слабее, чем в отношении передачи сигнала от β -АР. Т. е. М-холиноблокирующее влияние ЛФХ и ЯЖ слабее, чем их β -адреноблокирующее влияние. Это означает, что способность ЛФХ снижать эффективность передачи сигнала от рецепторов, ассоциированных с G-белком, зависит от вида рецепторов. Мы также не исключаем, что эта способность зависит и от вида клеток, так как согласно данным литературы, ЛФХ блокирует М-ХР миоцитов желудка крысы (Куншин А. А. и соавт., 2007) и М-ХР кардиомиоцитов сердца лягушки (Проказова Н. В. и соавт., 1998) и крысы (Коротаева К. Н., 2008).

5. Способность гистидина модулировать влияние адреналина на сократительную реакцию миоцитов в ответ на замену раствора Кребса дистиллированной водой (серии 31–40). Известно, что миоциты матки крысы содержат аквапорины, в том числе AQ1, AQ2, AQ3, AQ4, AQ5, AQ8 и AQ9 (Jablonski E. et al., 2003; Richard C et al., 2003; Lindsay L., Murphy C., 2006). При этом показано, что на процессы встраивания аквапоринов из цитоплазмы в поверхностную мембрану может влиять не только антидиуретический гормон, но и другие гормоны и медиаторы, в том числе ацетилхолин (Ishikawa Y et al., 1998; Inoue N. et al., 2003) и адреналин (Inoue N. et al., 2003; Yasui H. et al., 2008). Постановка эксперимента данного раздела работы (серии 31–40) базировалась на рабочей гипотезе, согласно которой замещение обычного раствора Кребса дистиллированной водой (ДВ) должно сопровождаться входом воды в миоциты через аквапорины. Вошедшая в миоциты вода вследствие нарушения работы митохондрий должна заблокировать работу Ca^{2+} -насосов клетки и тем самым временно повысить тонус миоцитов. Этому может также способствовать вход в миоциты ионов Ca^{2+} из внеклеточных пространств, а также феномен «зашелки», характерный, как известно (Циркин В. И., Трухина С. И., 2001), для гладких мышц. Очевидно, что если адреналин каким-либо образом влияет на состояние аквапоринов, активируя β -АР, то он должен изменить скорость нарастания тонуса, вызванного заменой раствора Кребса на ДВ. Очевидно также, что по мере вхождения воды в миоциты внутриклеточная концентрация Ca^{2+} и других ионов должна снижаться и все это будет приводить к падению тонуса. Гистидин, в силу присущей ему ЭСБАР-активности, должен усилить эффект адреналина.

Результаты серий 31, 35, 38, которые проводили на спонтанно активных полосках по схеме РК → ДВ, показали, что замена раствора Кребса на ДВ сопровождается торможением генерации фазных сокращений и развитием тонуса, для которого характерно постепенно снижение (рис. 7; табл. 5).

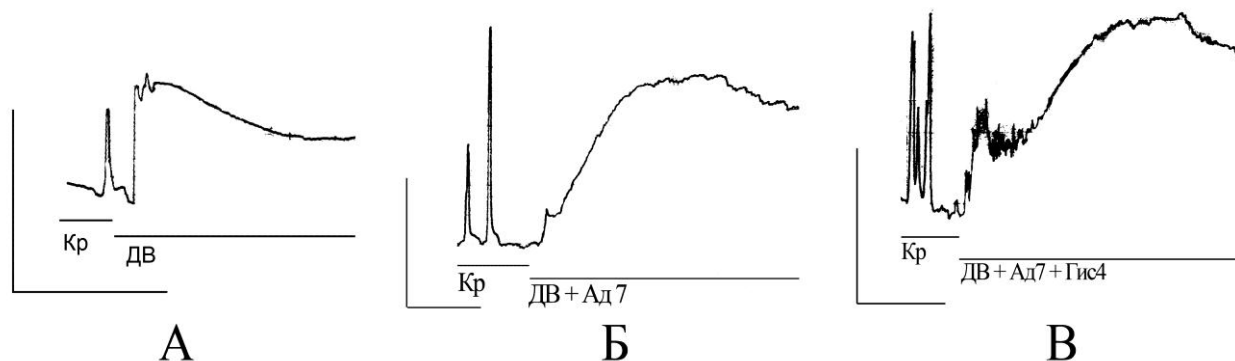


Рис. 7. Механограммы продольных полосок рога матки небеременных крыс, демонстрирующие изменение их напряжения при замене раствора Кребса (Кр) на дистиллированную воду (ДВ), в том числе совместно с адреналином (10^{-7} г/мл; Ад-7) или адреналином (10^{-7} г/мл) и гистидином (10^{-4} г/мл; Гис4). Горизонтальные линии под механограммами означают момент воздействия. Калибровка – 10 мН, 10 мин.

В серии 32, проведенной по схеме: РК → ДВ + АД-6, было показано (рис. 7, Б; табл. 5), что при замене раствора Кребса на воду, содержащую адреналин (10^{-6} г/мл), полоски миометрия изменяли свою СА по такому же типу, как и в серии 31, но абсолютная и удельная скорость нарастания максимального напряжения в этом случае были достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем в серии 31 (1,0 против 3,6 мН/мин и 0,03 против 0,09 мН/мин/мг сырой массы). Это означает, что адреналин снижает скорость перехода воды в миоциты.

Таблица 5

Параметры ($M \pm m$), характеризующие изменение напряжения продольных полосок рога матки небеременных крыс при воздействии дистиллированной воды (ДВ), в том числе совместно с адреналином (10^{-7} и 10^{-6} г/мл; Ад 7, Ад 6), обзиданом (10^{-6} г/мл; Обз 6), ницеголином (10^{-6} г/мл; Ниц 6) и гистидином (10^{-4} г/мл; Гис 4).

Параметры	Серии						
	31	32	33	34	35	36	37
	ДВ	ДВ + Ад 6	ДВ + Ад 6 + Обз 6	ДВ + Ад 6 + Ниц 6	ДВ	ДВ + Ад 7	ДВ + Ад 7 + Гис 4
Число полосок	9	10	13	8	10	10	10
Максимальное напряжение (F_{\max}), мН	11,7± 1,2	10,5± 1,8	9,6± 1,2	9,6± 1,0	13,8± 1,2	14,4± 1,2	14,0± 0,7
Время достижения F_{\max} , мин	3,4± 0,4	10,8± 1,1 ³¹	4,4± 0,6 ³²	11,9± 2,5 ^{31, 33}	5,6± 1,0	7,8± 1,2	12,7± 1,6 ^{35, 36}
Скорость нарастания F_{\max} , мН/мин	3,6± 0,3	1,0± 0,2 ³¹	2,3± 0,2 ^{31, 32}	1,0± 0,2 ^{31, 33}	3,0± 0,4	2,5± 0,5	1,5± 0,3 ³⁶
Удельная скорость нарастания F_{\max} , мН/мин / мг массы	0,09± 0,02	0,03± 0,006 ³¹	0,07± 0,01 ³²	0,03± 0,005 ^{31, 33}	0,07± 0,01	0,07± 0,01	0,04± 0,01 ^{35, 36}

^{31...36} – различие с соответствующим этапом достоверно ($p < 0,05$) по критерию Стьюдента.

Одним из объяснений этого может быть предположение о том, что адреналин способствует возвращению аквапоринов из поверхностной мембраны миоцита в цитоплазму или тормозит встраивание аквапоринов в эту мембрану. Конечно, не исключается и иное объяснение этого феномена, например, активация адреналином энергообразования в митохондриях, подвергаемых гипоосмотическому стрессу.

В серии 33, проводимой по схеме: РК → ДВ + Ад-6 + Обз-6, было показано, что при замене раствора Кребса на воду, содержащую адреналин (10^{-6} г/мл) и обзидан (10^{-6} г/мл), полоски миометрия изменяли свою СА по такому же типу, как и в сериях 31, 35, 38, при этом скорость нарастания максимального напряжения в этом случае была такой же, как в серии 31. Следовательно, обзидан блокировал эффект адреналина. В аналогичной серии 34, проведенной по схеме РК → ДВ + Ад 6 + Ниц-6, было показано, что в этом случае адреналин (10^{-6} г/мл), несмотря на наличие ницерголина (10^{-6} г/мл), продолжал оказывать тормозное влияние на развитие тонуса, как и в серии 32. Все это позволяет утверждать, что способность адреналина снижать скорость развития напряжения, вызванного заменой раствора Кребса на ДВ, реализуется за счет активации β -АР, причем, главным образом β_2 -АР, число которых, как известно (Циркин В. И., Дворянский С. А., 1997), доминирует в миоцитах матки крысы.

Результаты серий 31–34 дали нам основание поставить задачу – оценить возможность гистидина повысить эффективность активации β -АР адреналином, следствием которого является замедление скорости развития напряжения в условиях водной нагрузки. С этой целью мы провели синхронно три серии. Серию 35 вели по схеме РК → ДВ; серию 36 – по схеме: РК → ДВ + АД-7, а серию 37 по схеме РК → ДВ+АД-7 + гистидин, 10^{-4} г/мл. Было установлено, что замена раствора Кребса на ДВ повышает напряжение миометрия (серия 36), при этом адреналин в концентрации 10^{-7} г/мл не вызывал достоверного снижения скорости развития напряжения (табл. 5), однако в присутствии гистидина (10^{-4} г/мл) адреналин в этой же концентрации (серия 37) вызывал достоверное снижение абсолютной и удельной скорости развития напряжения (рис. 7, В, табл. 5). Косвенно, эти данные означают, что гистидин повышает эффективность активации β -АР под влиянием адреналина, в результате которой замедляется процесс перехода воды внутрь миоцита. Таким образом, нами установлено, что гистидин как экзогенный сенсibilизатор β -АР может проявлять свое действие не только в опытах с интактным миометрием, но и в условиях воздействия на миометрий ДВ.

В сериях 38–40 было установлено, что адреналин в еще более низкой концентрации (10^{-8} г/мл) не снижает скорость развития напряжения, а гистидин (10^{-4} г/мл) в этих условиях не проявляет β -адреносенсibilизирующую активность. Действительно, этот показатель при действии ДВ (серия 38), ДВ и адреналина (серия 39) и ДВ, совместно с адреналином и гистидином (серия 40) составил, соответственно $2,0 \pm 0,3$; $2,5 \pm 0,4$ и $2,8 \pm 0,4$ мН/мин ($p_{38-39,40} > 0,1$). Эти данные указывают на то, что способность адреналина уменьшать переход воды внутрь миоцита зависит от его концентрации в среде, а гистидин в этих условиях оказывает β -адреносенсibilизирующий эффект, но при использовании адреналина в концентрации, близкой к пороговой.

Таким образом, нами впервые установлено, что адреналин, активируя β_2 -АР, снижает скорость перехода воды из внеклеточной среды внутрь миоцитов (возможно, за счет торможения переноса аквапоринов из цитозоля в поверхностную мембрану миоцитов), а гистидин (как аналог ЭСБАР) повышает эффективность активации β_2 -АР в этих условиях, т. е. он проявляет β -адреносенсибилизирующую активность независимо от конечного результата этой активации.

Результаты исследования и данные литературы позволяют рассматривать ЭСБАР и его аналоги (гистидин, триптофан, тирозин, милдронат и предуктал) в качестве внеклеточных и внутриклеточных шаперонов, т.е. веществ, которые участвуют в репарации повреждений, возникающих в процессе функционирования клеток, благодаря чему восстанавливается эффективность передачи сигнала от β_2 -АР к внутриклеточным эффекторам. Это говорит, в целом, о перспективности применения аналогов ЭСБАР в клинической практике. В то же время можно констатировать, что многие аспекты, касающиеся механизмов действия и физиологической роли ЭСБАР и его аналогов, требуют дальнейшего изучения.

Выводы

1. На фоне тонической сократительной активности миометрия крысы, вызванной гиперкалиевым раствором Кребса (ГРК), адреналин (10^{-8} – 10^{-6} г/мл) вызывает дозозависимый и обратимый релаксирующий эффект. Он реализуется за счет активации β_2 -АР, так как его величина при действии адреналина (10^{-7} г/мл) не меняется в присутствии селективных β_1 -адреноблокаторов атенолола (10^{-9} – 10^{-6} г/мл) и метопролола (10^{-9} – 10^{-6} г/мл), но дозозависимо снижается при воздействии неселективного β -адреноблокатора обзидана (10^{-9} – 10^{-6} г/мл).

2. На фоне тонической сократительной активности миометрия крысы, вызванной гиперкалиевым раствором Кребса (ГРК), релаксирующий эффект адреналина (10^{-8} или 10^{-7} г/мл) усиливается под влиянием 100-кратного разведения сыворотки крови небеременных женщин, используемого в качестве источника ЭСБАР. Он также возрастает под влиянием аналогов ЭСБАР – гистидина (10^{-4} г/мл), триптофана (10^{-4} г/мл), тирозина (10^{-5} , 10^{-4} г/мл), милдроната (10^{-6} г/мл) и предуктала (10^{-6} г/мл). Это позволяет рассматривать ЭСБАР и аналоги ЭСБАР как факторы, повышающие эффективность активации метаболитных β_2 -АР.

3. В опытах с деполяризованным (ГРК) миометрием крысы 100-кратное разведение сыворотки крови небеременных женщин, так же как и аналоги ЭСБАР – гистидин (10^{-5} , 10^{-4} г/мл), триптофан (10^{-5} , 10^{-4} г/мл), тирозин (10^{-5} , 10^{-4} г/мл), милдронат (10^{-6} г/мл) и предуктал (10^{-6} г/мл) повышают в 10-100 раз пороговую концентрацию обзидана, при которой адреналин (10^{-7} г/мл) уменьшает свой релаксирующий эффект. Это говорит о том, что а) ЭСБАР и его аналоги могут снижать эффективность действия β_2 -адреноблокаторов; б) одним из механизмов действия ЭСБАР и его аналогов является их способность повышать сродство β_2 -АР к агонисту (возможно, за счет восстановления их конформационной структуры).

4. В опытах с деполяризованным (ГРК) миометрием крысы гистидин (10^{-4} г/мл), триптофан (10^{-4} г/мл), тирозин (10^{-4} г/мл), милдронат (10^{-6} г/мл) и предуктал (10^{-6} г/мл) сохраняют способность усиливать релаксирующее действие адреналина (10^{-8} г/мл) в присутствии 100-кратного разведения сыворотки крови небеременных женщин. Это означает, что а) сыворотка крови, независимо от наличия в ней ЭСБАР, не препятствует действию аналогов ЭСБАР; б) механизм действия ЭСБАР и его аналогов однотипен; в) поступающие в кровь (при пищеварении или при внутривенном введении) аналоги ЭСБАР могут проявлять присущую им β_2 -адреносенсибилизирующую активность.

5. В опытах с интактным миометрием крысы релаксирующий эффект адреналина (10^{-7} г/мл) при периодическом (по 10 мин, с 10-минутным интервалом) его воздействии постепенно снижается. Гистидин (10^{-6} г/мл) восстанавливает релаксирующий эффект адреналина и сохраняет его на этом уровне при последующих воздействиях совместно с адреналином. Это говорит о том, что а) гистидин препятствует развитию десенситизации β_2 -АР; б) аналоги ЭСБАР перспективно применять в клинической практике в качестве пролонгаторов (синергистов) β_2 -адреномиметиков.

6. В опытах с интактным или с деполяризованным (ГРК) миометрием крысы ЛФХ (10^{-4} г/мл) и яичный желток (в разведении 1:50) как источник ЛФХ снижают (с 10-минутным латентным периодом) релаксирующее действие адреналина (10^{-8} или 10^{-7} г/мл), а гистидин (10^{-4} г/мл) восстанавливает это действие адреналина. Это означает, что а) ЛФХ уменьшает эффективность активации β -АР; б) подтверждается гипотеза об универсальной способности гистидина восстанавливать передачу сигнала от β -АР внутрь клетки, независимо от причины, вызывающей ее нарушение; в) аналоги ЭСБАР перспективно применять в клинической практике в качестве веществ, восстанавливающих эффективность активации β -АР.

7. В опытах с интактным миометрием крысы куриный яичный желток (в разведении 1:50) как источник ЛФХ снижает (с 10-минутным латентным периодом) стимулирующий эффект ацетилхолина (10^{-6} г/мл). И хотя ЛФХ (10^{-6} – 10^{-4} г/мл) не проявляет подобной активности, это позволяет говорить о том, что а) ЛФХ способен снижать эффективность передачи сигнала от М-холинорецепторов (ХР) внутрь клетки, но способность ЛФХ в отношении М-ХР выражена в меньшей степени, чем в отношении β -АР; б) хемомодулирующая активность ЛФХ зависит от вида рецепторов, ассоциированных с G-белком.

8. В опытах с интактным миометрием крысы адреналин (10^{-6} г/мл) снижает скорость развития напряжения, вызываемого заменой раствора Кребса на дистиллированную воду. Этот эффект блокируется обзиданом (10^{-6} г/мл), но не ницерголином (10^{-6} г/мл) и усиливается (в отношении более низкой концентрации адреналина, равной 10^{-7} г/мл) гистидином в концентрации 10^{-4} г/мл. Эти данные указывают на то, что а) адреналин, активируя β_2 -АР, снижает скорость перехода воды из внеклеточной среды внутрь миоцитов (возможно, за счет торможения переноса аквапоринов из цитозоля в поверхностную мембрану миоцитов); б) гистидин (как аналог ЭСБАР) способен повышать эффективность активации β_2 -АР независимо от конечного результата этой активации.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.

Статьи в журналах, рекомендованных Перечнем ВАК

1. Торопов А. Л., Коротаева К. Н., Самоделкина Е. О., Циркин В. И., Вязников В. А. Влияние лизофосфатидилхолина на адreno- и м-холинореактивность гладких мышц и миокарда. // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия Биология, клиническая медицина. – 2010. – Т. 8. № 3. – С. 18–26.
2. Торопов А. Л., Циркин В. И. Влияние адреналина и гистидина на ответ изолированных гладких мышц матки крысы, вызванный заменой раствора Кребса на дистиллированную воду // Вестник Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского. – 2010. – № 2 (2). – С. 682–685.
3. Циркин В. И., Ноздрачев А. Д., Торопов А. Л., Эндогенный сенсibilизатор β -адренорецепторов и его аналоги в опытах с миометрием крысы уменьшают β -адреноблокирующий эффект обзидана // ДАН. – 2010. – Т. 435, № 1 – С. 131–137.
4. Торопов А. Л., Ноздрачев А. Д., Циркин В. И., Исследование механизма действия эндогенного сенсibilизатора бета-адренорецепторов (ЭСБАР) и его аналогов // Вестник Санкт-Петербургского ун-та. – 2011. – Сер. 3 (биология), № 1. – С. 27–42.

Статьи в журналах, сборниках и материалах конференций.

1. **Торопов А. Л.** Влияние лизофосфатидилхолина на эффективность активации М-холино- и β -адренорецепторов изолированного миометрия крысы // Молодежь и наука на севере: в 3 т. Т. II: Материалы докладов I всероссийской молодежной научной конференции. – Сыктывкар, 2008. – С. 262–263.
2. Березовчук Е. А., Боброва А. А., Самоделкина Е. О., Коротаева К. Н., **Торопов А. Л.** Изучение функциональной роли аквапоринов в деятельности миокарда, висцеральных и сосудистых гладких мышц // Молодежь и медицинская наука в XXI веке»: материалы XI итоговой межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием – Вятский медицинский вестник. – 2009. – № 1. – С. 95.
3. **Торопов А. Л.,** Циркин В. И., Костяев А. А. Способность сыворотки крови как источника эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов и гистидина уменьшать β -адреноблокирующее действие пропранолола в опытах с миометрием крысы // Эколого-физиологические проблемы адаптации: материалы XIV международного симпозиума. – М.: РУДН, 2009. – С. 402–404
4. **Торопов А. Л.** Гистидин и сыворотка крови снимают адреноблокирующее действие пропранолола в опытах с миометрием крысы // Физиология человека и животных: от эксперимента к клинической практике: тез. докл. VIII Молодежной научной конф. ИФ Коми НЦ УрО РАН. – Сыктывкар, 2009. – С. 198–210.
5. **Торопов А. Л.** Способность гистидина и сыворотки крови препятствовать адреноблокирующему действию пропранолола в опытах с миометрием крысы // Фундаментальная наука и клиническая медицина: тез. докл. 12 всерос. медико-биологической конф. молодых ученых. – СПб.: СПбГУ, 2009. – С. 374–375.
6. **Торопов А. Л.,** Циркин В. И., Костяев А. А. Эффективность действия β -адреноблокаторов может снижаться под влиянием эндогенного сенсibilизатора β -адренорецепторов и его компонентов // Там же. – С. 217–218.
7. Циркин В. И., Стрельникова А. И., **Торопов А. Л.,** Кашин Р. Ю., Коротаева К. Н., Самоделкина Е. О. Влияние факторов внешней среды на эффективность активации клеточных рецепторов // Там же. – С. 224–225.
8. **Торопов А. Л.,** Циркин В. И. Способность гистидина уменьшать β -адреноблокирующее действие обзидана в опытах с продольными полосками рога матки небеременных крыс // Науке нового века – знание молодых: материалы всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых. – Ч. II. Биологические науки, ветеринарные науки, технические науки. – Киров: ВГСХА, 2010. – С. 80–84.
9. **Торопов А. Л.,** Коротаева К. Н., Самоделкина Е. О., Циркин В. И., Вязников В. А., Проказова Н. В. Влияние лизофосфатидилхолина, яичного желтка и гистидина на адreno- и М-холинореактивность мышц // Вятский медицинский вестник. – 2010. – № 1. – С. 69–75.

Список сокращений:

Ад – адреналин
 α -АР – α -адренорецепторы
 β -АР – β -адренорецепторы
АХ – ацетилхолин
Гис – гистидин
ГРК – гиперкалиевый раствор Кребса
ДВ – дистиллированная вода
ЛФХ – лизофосфатидилхолин
М-ХР – М-холинорецепторы
Ниц – Ницерголин
Обз – обзидан
СА – сократительная активность
ЭСБАР – эндогенный сенсibilизатор β -адренорецепторов
ЯЖ – яичный желток

Цифра после сокращения означает отрицательный десятичный логарифм концентрации вещества (г/мл), например, Ад-7 = 10^{-7} г/мл.

Подписано в печать 18.03.2011 г.

Формат 64x80/16.

Бумага офсетная.

Усл. печ. л. 1,5.

Тираж 100 экз.

Заказ № 1625.

Издательство

Вятского государственного гуманитарного университета,
610002, г. Киров, ул. Красноармейская, 26, т. (8332) 673674