

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О НАЛИЧИИ В ЛИКВОРЕ ЧЕЛОВЕКА ЭНДОГЕННОГО СЕНСИБИЛИЗАТОРА β-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

Сизова Е.Н., Циркин В.И.

*Вятский социально-экономический институт, Кировская государственная медицинская академия, Киров*

**В опытах на 89 продольных полосках рога матки небеременных крыс показано, что ликвор женщин и мужчин в разведении 1:50 (но не в разведениях 1:100, 1:500, 1:10<sup>3</sup>, 1:10<sup>4</sup>, 1:10<sup>6</sup>, 1:10<sup>8</sup>, 1:10<sup>10</sup>, 1:10<sup>12</sup>) повышает способность адреналина (10<sup>-9</sup> или 10<sup>-8</sup> г/мл) ингибировать спонтанную сократительную активность полосок. Это говорит о наличии в ликворе человека эндогенного сенсibilизатора β-адренорецепторов. Выявлена также способность ликвора оказывать миоцитингибирующий (1:50-,..., 1:10<sup>10</sup>) и β-адреноблокирующий (1:10<sup>4</sup>, ликвор мужчин) эффекты, природа которых требует дальнейших исследований.**

На гладкомышечных объектах, обладающих высокой β-адренореактивностью, в частности на продольных полосках рога матки небеременных крыс, на циркулярных полосках коронарной артерии свиньи и на продольных полосках трахеи коровы показано [2,4,9,13,15,16], что 50-, 100-, 500-, 10<sup>3</sup>- и более кратные разведения сыворотки крови, мочи, слюны и околоплодных вод человека при 10-минутном воздействии способны обратимо усиливать релаксирующее действие адреналина; это объясняется наличием в исследованных жидкостях эндогенного сенсibilизатора β-адренорецепторов (ЭСБАР), повышающего эффективность взаимодействия катехоламинов с рецепторами. ЭСБАР рассматривается как один из модуляторов хемореактивности прямого действия [2,4,9,13,15,16]. В аналогичных экспериментах с миометрием крысы, коронарной артерией свиньи и трахеей коровы показано, что L-гистидин, L-триптофан и D-,L-тирозин или их смесь [4,12,13], а также применяемые в кардиологии метаболические препараты – триметазидин и милдронат [5,6,9,18] при их 10-минутном воздействии подобно сыворотке крови оказывают β-адреносенсibilизирующий эффект. Все это позволяет рассматривать гистидин, триптофан и тирозин в качестве вероятных компонентов ЭСБАР [4,12,13] и говорить о том, что ряд лекарственных средств может проявлять свойства ЭСБАР, что, вероятно, лежит в основе их лечебного или/и побочного действия [5,6,9,18]. В этом плане не исключено, что эффективность применения триптофана [10] и тирозина [19] при лечении депрессивных состояний также связана с их способностью оказывать β-адреносенсibilизирующее влияние на нейроны мозга. С другой стороны, получены сведения о наличии в крови эндогенных модуляторов прямого действия, из-

меняющих М-холинореактивность [3,7,11,13,17], Н-гистаминореактивность [17] и, вероятно, другие виды хемореактивности. В частности, в крови человека выявлен эндогенный блокатор М-холинорецепторов [3,16,17], который, по своей природе, учитывая данные [7,11], скорее всего, является лизофосфатидилхолином. Все это позволяет предположить наличие в организме человека системы эндогенной модуляции, регулирующей деятельность клеток различных органов тканей, в том числе нейронов мозга [17]. Целью данной работы явилось изучение наличия ЭСБАР в ликворе человека.

### Материал и методы

Исследован ликвор 10 мужчин и 10 женщин. Оценку β-адреномодулирующей активности 9 разведений ликвора (1:50, 1:100, 1:500, 1:10<sup>3</sup>, 1:10<sup>4</sup>, 1:10<sup>6</sup>, 1:10<sup>8</sup>, 1:10<sup>10</sup>, 1:10<sup>12</sup>) проводили по методике [15] на 89 продольных полосках (длиной 6-8 мм и шириной 2-3 мм) рога матки небеременных крыс (n=17), находящихся в фазе метаэструса или диэструса. Регистрацию сократительной активности (СА) полосок осуществляли на «Миоцитографе» [15] при 38°C и пассивной аэрации его рабочих камер (объемом 1мл) при непрерывной перфузии полосок раствором Кребса со скоростью 0,7 мл/мин и их исходной нагрузке в 4,9 мН. Раствор Кребса содержал (в мМ) NaCl-136, KCl-4,7, CaCl<sub>2</sub>-2,52, MgCl<sub>2</sub>-1,2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-0,6, NaHCO<sub>3</sub>-4,7, C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>-11,0 (pH -7,4). О наличии у ликвора способности оказывать β-адреномодулирующее действие судили по изменению β-адренореактивности полосок. Ее определяли по сократительной реакции спонтанно активных полосок на адреналин (10<sup>-9</sup> или 10<sup>-8</sup> г/мл). Тестирование адреналином проводили трижды (по 10-минут, с 10-20-минутными интервалами), в том числе до, на фоне и после 20-

минутного воздействия одного из 9 разведений ликвора (рис., панели А и Б). Результаты исследования подвергнуты статистической обработке, а различия, оцениваемые по критерию Стьюдента, считали достоверными при  $p < 0,05$ .

Результаты исследований и их обсуждение

Полоски обладали спонтанной СА (рис.): на 10-минутном интервале они генерировали 5,8–12,0 сокращений с амплитудой 4,9–12,0 мН, а их суммарная СА достигала 42,1–110,0 мН/10мин. Адреналин ( $10^{-9}$  и  $10^{-8}$  г/мл) при 1-м тестировании (рис.) обратимо угнетал частоту сокращений (до 65,3–88,9% от исходного уровня), их амплитуду (до 42,4–95,2%) и суммарную СА (до 50,4–88,0%), что, согласно [8,15], объясняется активацией  $\beta$ -адренорецепторов.

Влияние ликвора на спонтанную СА полосок зависело от степени его разведения и, в определенной степени, от пола исследуемых. У женщин почти все разведения ликвора (1:50, 1:100, 1:500,  $1:10^3$ ,  $1:10^4$ ,  $1:10^6$ ,  $1:10^8$ ,  $1:10^{10}$ ) как правило, достоверно уменьшали СА. Например, суммарная СА при их воздействии снижалась соответственно ( $M \pm m$ ) до  $79,2 \pm 6,63\%*$ ,  $82,7 \pm 8,57\%$ ,  $60,6 \pm 11,3\%*$ ,  $70,4 \pm 14,8\%$ ,  $83,8 \pm 6,61\%*$ ,  $67,5 \pm 8,03\%*$ ,  $76,2 \pm 12,5\%$  и  $77,5 \pm 8,85\%*$  от фонового уровня (символ \*здесь и далее означает достоверное изменение в сравнении с исходным уровнем,  $p < 0,05$ ). Разведение  $1:10^{12}$  ликвора женщин не влияло на СА полосок (суммарная СА составила  $92,0 \pm 9,02\%$ ). У мужчин разведения ликвора 1:50, 1:100, 1:500,  $1:10^3$ ,  $1:10^4$  не вызвали достоверного снижения СА: суммарная СА составила соответственно  $89,1 \pm 5,40\%$ ,  $88,3 \pm 16,50\%$ ,  $91,3 \pm 10,30\%$ ,  $84,0 \pm 8,65\%$  и  $81,2 \pm 9,23\%$  от фонового уровня. В то же время разведения  $1:10^6$ ,  $1:10^8$ ,  $1:10^{10}$  и в, определенной степени,  $1:10^{12}$  достоверно уменьшали ее (в частности, снижали суммарную СА соответственно до  $73,6 \pm 12,40\%*$ ,  $87,8 \pm 6,14\%*$ ,  $76,4 \pm 9,61\%*$  и  $77,8 \pm 13,30\%$  от фонового уровня). Эти результаты согласуются с данными [3,9,13,15,16] о способности больших ( $1:10^3$  и выше) разведений сыворотки крови человека оказывать миоцитингибирующий эффект в опытах с миометрией крысы; этот эффект в большей степени выражен у сыворотки крови женщин, а его наличие объясняется содержанием в крови эндогенного ингибитора сократимости миоцитов. Очевидно, что ликвор человека также содержит его. Не исключено, что эндогенный ингибитор сократимости миоцитов, содержащийся в ликворе, представляет собой комплекс молекул, среди которых имеется и агонисты  $\beta$ -адренорецепторов, так как их блокада обзиданом ( $10^{-6}$  г/мл) снимает ингибирующее действие ликвора (рис., панель В). Следует подчеркнуть, что ни одно из разведений ли-

квора (в том числе 1:50 и 1:100) не усиливало спонтанную СА полосок, это существенно отличается ликвор от сыворотки крови, 10-, 50- и 100-кратные разведения которой, согласно [3,9,13,15,16], повышают тоническую и фазную СА миометрия крысы, что объясняется наличием в крови эндогенного активатора сократимости миоцитов. Это позволяет заключить, что в ликворе такой фактор отсутствует.

Влияние ликвора на  $\beta$ -адренореактивность тест-объекта зависела от кратности его разведения – и у женщин, и у мужчин 50-кратное разведение достоверно усиливало ингибирующее влияние адреналина, т.е. проявляло  $\beta$ -адреносенсибилизирующую активность. Так, при 1-м тестировании адреналин снижал суммарную СА в опытах с ликвором женщин до  $71,8 \pm 9,16\%*$  от фонового уровня, а в опытах с ликвором мужчин – до  $88,0 \pm 7,99\%*$ , а при 2-м тестировании (т.е. на фоне ликвора) соответственно – до  $27,2 \pm 9,31\%^{*a}$  и  $49,8 \pm 11,9\%^{*a}$  (символ <sup>a</sup> здесь и далее означает достоверность различия с 1-м тестированием адреналином,  $p < 0,05$ ); при 3-м тестировании он снижал ее соответственно до  $76,6 \pm 11,1\%*$  и  $92,1 \pm 4,12\%$ . Это означает, что 50-кратное разведение ликвора содержит ЭСБАР. Все остальные разведения ликвора женщин и мужчин ( $1:100$ ,  $1:500$ ,  $1:10^3$ ,  $1:10^4$ ,  $1:10^6$ ,  $1:10^8$ ,  $1:10^{10}$ ,  $1:10^{12}$ ), как правило, не проявляли  $\beta$ -адреномодулирующую активность. Например, в опытах с  $10^3$ -кратным разведением ликвора женщин при 1-м, 2-м и 3-м тестированиях адреналин снижал суммарную СА соответственно до  $68,3 \pm 6,73\%*$ ,  $63,9 \pm 12,9\%*$  и  $83,3 \pm 9,96\%$  от фонового уровня. Исключение составило  $10^4$ -кратное разведение ликвора мужчин – оно достоверно снижало реакцию полосок на адреналин, т.е. проявляло  $\beta$ -адреноблокирующее действие: например, суммарная СА полосок при 1-м, 2-м и 3-м тестированиях адреналином снижалась соответственно до  $51,5 \pm 11,6\%*$ ,  $79,2 \pm 5,19\%^{*a}$  и  $96,7 \pm 3,33\%$  от исходного уровня. Ранее нами было показано [13,14], что небольшие ( $1:10$ ,  $1:50$ ) разведения сыворотка крови человека способны проявлять  $\beta$ -адреноблокирующую активность (это объяснялось наличием в крови эндогенного блокатора  $\beta$ -адренорецепторов), причем сыворотка крови мужчин такую активность проявляла чаще, чем сыворотка женщин. Не исключено, что выявленная нами способность ликвора мужчин проявлять  $\beta$ -адреноблокирующую активность также связана с наличием у мужчин в ликворе эндогенного блокатора  $\beta$ -адренорецепторов.

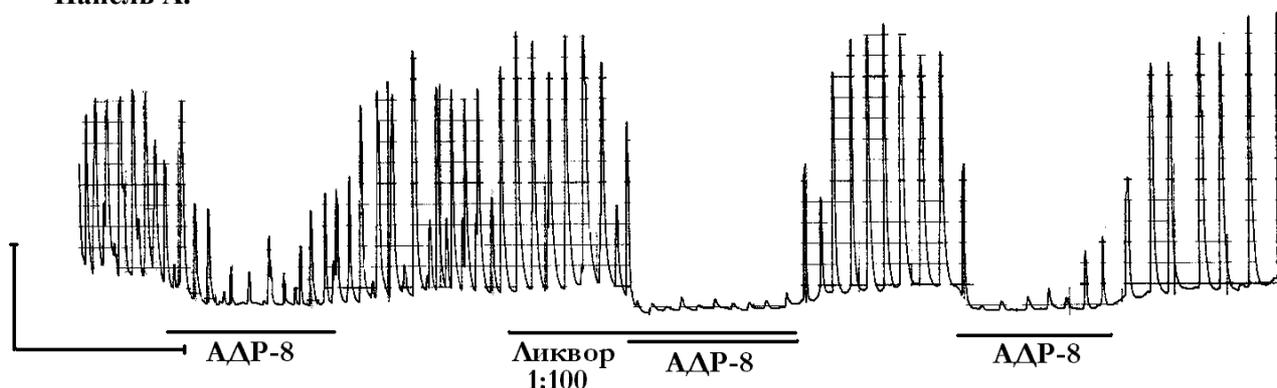
В целом, учитывая данные о том, что сыворотка крови человека проявляет  $\beta$ -адреносенсибилизирующую активность в разведениях вплоть до  $1:10^3$ – $1:10^4$  [3,9,13,15,16], а ли-

квор - лишь в разведении 1:50, результаты исследований позволяют заключить, что в ликворе женщин и мужчин (как и в сыворотке крови) имеется ЭСБАР, но его содержание в ликворе меньше (в 20-200 раз). Не исключается, что ликвор может содержать и эндогенный блокатор  $\beta$ -адренорецепторов, уровень которого у мужчин, вероятно, больше, чем у женщин.

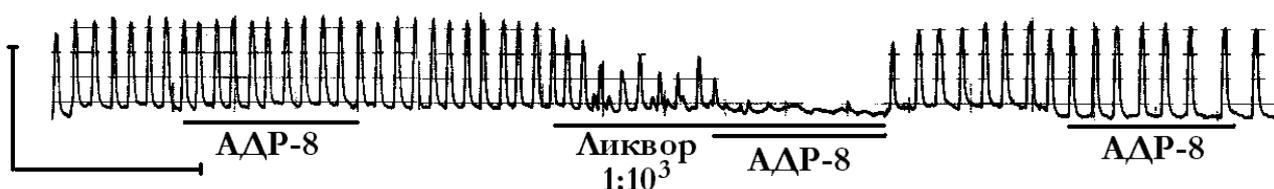
При исследовании механизма действия ЭСБАР, выявляемого в ликворе человека, показано, что подобно ЭСБАР, содержащемуся в сыворотке крови, он способен проявлять свое действие на фоне калиевой контрактуры, т.е. в условиях деполяризации клетки гиперкалиевым раствором (рис., панель Г). С учетом данных [4,12,13], это позволяет предположить, что основными компонентами ЭСБАР ликвора (как и крови) являются гистидин, триптофан и тирозин. Очевидно, что эти аминокислоты способны повышать  $\beta$ -адренореактивность нейронов мозга и тем самым изменять их ответы на адренергические медиаторы. Не исключено, что в основе известного

положительного клинического эффекта триптофана [10] и тирозина [19] при депрессивных состояниях лежит их  $\beta$ -адреносенсибилизирующая активность. Следует отметить, что наша попытка [1] экспериментально доказать способность гистидина повышать  $\beta$ -адренореактивность нейронов изолированной коры мозжечка крысы пока не дала положительного результата, хотя в этих опытах была выявлена способность гистидина повышать устойчивость нейронов к гипоксии. Полагаем, что дальнейшее изучение вопроса о роли ЭСБАР (как и других эндогенных модуляторов хемореактивности) в деятельности нейронов мозга в условиях нормы и патологии, а также использование гистидина, триптофана, тирозина, предуктала, милдроната и других возможных экзогенных сенсибилизаторов  $\beta$ -адренорецепторов для профилактики и лечения заболеваний, вызванных дефицитом  $\beta$ -адренергических влияний, может стать одним из перспективных направлений в неврологии и психиатрии.

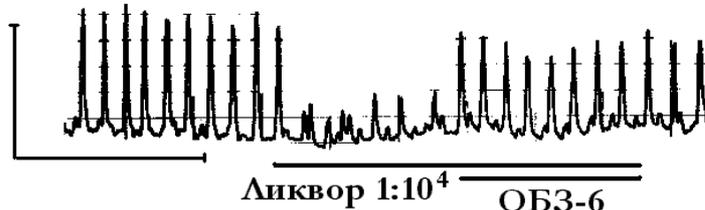
Панель А.

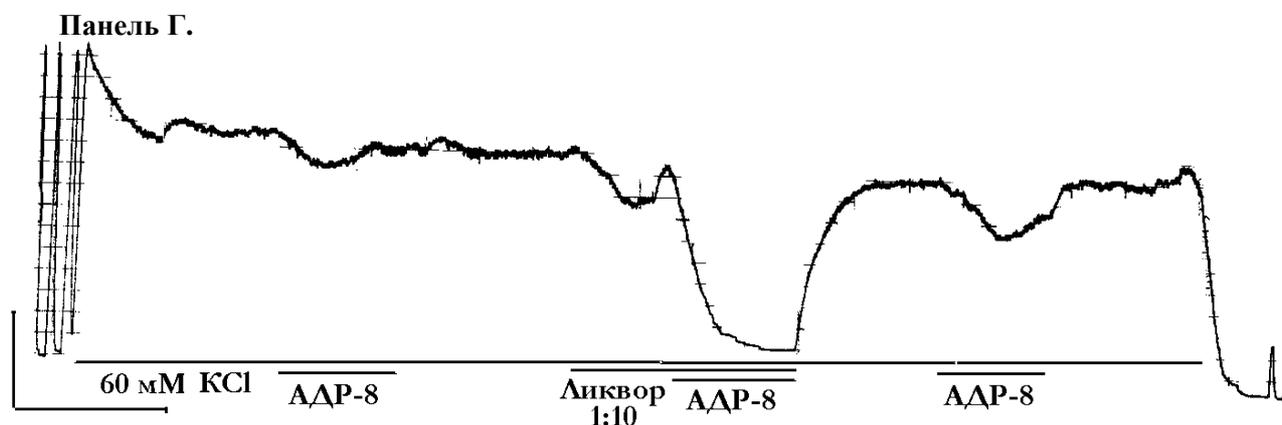


Панель Б.



Панель В.





**Рисунок.** Сократительные эффекты адреналина ( $10^{-8}$  г/мл; АДР-8), обзидана ( $10^{-6}$  г/мл; ОБЗ-6), 100-кратного (панель А),  $10^3$ -кратного (панель Б) и  $10^4$ -кратного (панель В) разведений ликвора человека в опытах со спонтанно активными (панели А, Б и В) продольными полосками рога матки небеременной крысы, а также в опытах с полосками, сократительная активность которых повышена гиперкалиевым (60 mM KCl; панель Г) раствором Кребса. Калибровка – 10 мН, 10 мин.

### Литература

1. Власова И.Г., Циркин В.И. Мат. I международн. конф. // «Хроноструктура и хроноэкология репродуктивной функции» - М.- изд-во РУДН.- 2000.- С.49-51.

2. Мальчикова С.В., Сизова Е.Н., Циркин В.И. и др. // Рос. кардиол. журн.- 2003.- №3.- С.33-39.

3. Мальчикова С.В., Сизова Е.Н., Циркин В.И., Гуляева С.Ф., Трухин А.Н. //Рос. физиол. журнал им. И.М. Сеченова. 2003.- Т.89, №5.- С.556-563.

4. Ноздрачев А.Д., Туманова Т.В., Дворянский С.А. и др. Доклады РАН.// 1998.- Т.363, №1.- С.133-136.

5. Подтетенев А.Д., Братчикова Т.В., Котайш Г.А. Регуляция родовой деятельности.- М.: Изд-во РУДН, 2003; 53.

6. Подтетенев А.Д., Сизова Е.Н., Циркин В.И. и др. //Новые технологии в акушерстве и гинекологии: сб. матер. научно-практ. конф. акушеров-гинекологов Московского региона.- М.- ГВКГ им. Н.Н. Бурденко.- 2002.- С.46-51.

7. Проказова Н.В., Звездина Н.Д., Сусллова И.В. и др. //Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 1998; 84: 10: 969-978.

8. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л., Петров В.И. Рецепторы физиологически активных веществ.- Волгоград, изд-во «Семь ветров». 1999; 640.

9. Сизова Е.Н., Циркин В.И., Подтетенев А.Д. и др. // Рос. кардиол. журн.- 2002.- №2.- С.50-56.

10. Сметник В.П., Тумилович Л.Г. Неоперативная гинекология. В 2-х книгах. С-Пб. 1995. Книга 1: 223; Книга 2: 200.

11. Сусллова И. В., Коротаева А. А., Проказова Н. В. // Доклады РАН.- 1995.- Т.342, №2.- С.273-276.

12. Туманова Т.В., Циркин В.И., Дворянский С.А. //Сб. научн.тр. Киров: КГМА.- 2001.- С.48-51.

13. Циркин В.И., Дворянский С.А. Сократительная деятельность матки (механизмы регуляции). Киров. 1997; 270.

14. Циркин В.И., Дворянский С.А., Братухина С.В. и др. // Бюл. эксп. биол. и мед. 1997.- Т.123, №3.- С.248-252.

15. Циркин В.И., Дворянский С.А., Ноздрачев А.Д. и др. // Доклады РАН. 1997.- Т.352, №1.- С.124-126.

16. Циркин В.И., Ноздрачев А.Д., Сазанова М.Л. и др. // Доклады РАН.- 2003.- Т.388, №5.- С.704-707.

17. Циркин В.И., Ноздрачев А.Д., Сизова Е.Н. и др. // Доклады РАН.- 2002.- Т.383, №5.- С.698-701.

18. Циркин В.И., Сизова Е.Н., Подтетенев А.Д. и др. // Рос. кардиол. журн.- 2002.- №1.- С.45-52.

19. Tyrrell H. A., Maher T. J. Tyrosine: // J. Nutr. and Environ. Med.- 1998.-V.4.- P.349-359.

**Experimental data about presence in human liquor of endogenic sensibilizator of  $\beta$ -adrenoceptors**

Sizova E.N., Tsirkin V.I.

In the experiences which have been carried out on 89 longitudinal stripes of uterus horns of nonpregnant rats, it is shown, that women and men liquor in dissolution 1:50 (but not in dissolutions 1:100, 1:500,  $1:10^3$ ,  $1:10^4$ ,  $1:10^6$ ,  $1:10^8$ ,  $1:10^{10}$ ,  $1:10^{12}$ ) enhances ability of adrenaline ( $10^{-9}$  or  $10^{-8}$  g/ml) to inhibit spontaneous contractile activity of stripes. Also it is shown that liquor of man and women ( $1:50$ -, ...,  $1:10^{10}$ ) inhibits contractions of myocytes and liquor of man renders  $\beta$ -adrenoblocking effect ( $1:10^4$ ) which nature demands the further researches.