

Активация центральных α_2 -адренорецепторов в пре- и раннем постнатальном периодах как возможность коррекции артериальной гипертензии

Р.С. Хрусталева, Н.А. Фельдшерова, В.А. Цырлин

Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург

Резюме

В статье представлены данные о том, как активация центральных α_2 -адренорецепторов крыс линии SHR в пре- и раннем постнатальном периодах влияет на последующее течение артериальной гипертензии. Показано, что введение гуанфацина беременным самкам с 10 по 18 сутки беременности или со 2 по 15 сутки после рождения потомства влияет на уровень АД у крыс-потомков после достижения ими половозрелого возраста. Отмечено, что у самок – потомков эффект гуанфацина более выражен, чем у самцов, что, возможно, обусловлено влиянием андрогенов на плотность адренорецепторов мозга.

Ключевые слова: α_2 -адренорецепторы, артериальная гипертензия, гуанфацин.

Activation of the central α_2 -adrenoceptors in pre- and early postnatal periods as a possible way of arterial hypertension correction

R.S. Chrustaleva, N.A. Feldsherova, V.A. Tsyrlin,

Almazov Federal Center of Heart, Blood and Endocrinology. St.Petersburg

Resume

The central α_2 -adrenoceptors in SHR rats in pre- and early postnatal periods were activated to study evolution of arterial hypertension in offsprings. It is demonstrated that the injection of guanfacine to female from 10th to 18th days of pregnancy or since 2nd to 15th days after delivery reduce the blood pressure level in the posterity after their achievement of puberty. This effect is less significant in male offsprings. It is suggested that the less effect in male-offsprings is conditioned by the different density of adrenoceptors which depends on androgene hormones.

Key words: α_2 -adrenoceptors, hypertension, androgene hormones.

Статья поступила в редакцию: 15.11.06. и принята к печати: 12.12.06.

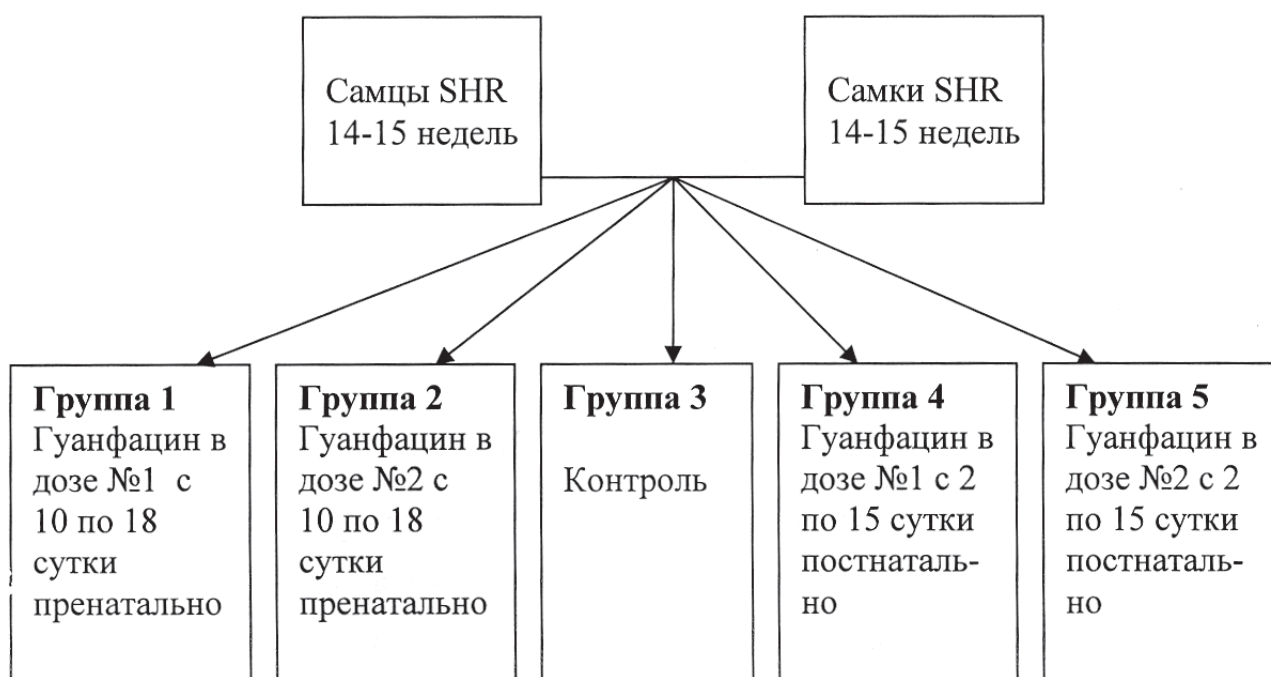
Повышение активности симпатической нервной системы (СНС) при артериальной гипертензии (АГ) любого генеза в настоящее время не вызывает сомнения [4, 6, 9, 19]. Однако механизмы этого повышения окончательно не установлены и обсуждается несколько гипотез, объясняющих возможные причины нарушения функции СНС [4,5,6], ведущего к развитию АГ. Одной из них является изменение активности адренергических механизмов центральной нервной системы [6, 10, 14, 17, 18, 20, 21].

Известно [1, 6], что активация центральных альфа₂-адренорецепторов приводит к угнетению активности преганглионарных симпатических нейронов и нарушению высвобождения норадреналина из окончаний постганглионарных симпатических нервов. Из этого следует, что одним из факторов, который способствует увеличению активности СНС, может являться снижение плотности альфа₂-адренорецепторов в стволовых отделах головного мозга у гипертензивных животных вследствие либо уменьшения их развития в онтогенезе, либо увеличения скорости деградации [7, 8, 13, 16]. Отмечена отрицательная корреляция между уровнем матричной РНК альфа₂-адренорецепторов в продолговатом мозге и уровнем систолического артериального давления (АД) и активностью СНС.

Формирование рецепторного звена норадренергической системы мозга у крыс начинается во второй половине эмбрионального развития и заканчивается к двухмесячному возрасту. В эти же сроки онтогенеза происходит становление систем синтеза, выделения и обмена норадреналина [9]. Уже на ранних этапах развития отмечаются особенности функционирования центральной норадренергической системы у животных, у которых впоследствии развивается артериальная гипертензия [13].

Регуляция плотности рецепторов может происходить за счет изменений на любой из ступеней его экспрессии – от транскрипции гена до деградации рецепторного белка. Норадреналин сам осуществляет регуляцию количества альфа₂-адренорецепторов в мозге [10, 11], сосудах [12] и в почке [15], и при активации адренорецепторов их плотность уменьшается. В настоящее время в литературе практически не представлены данные о наиболее оптимальных сроках воздействия на процессы экспрессии адренорецепторов, а также нет сведений о том, как будет развиваться гипертензия у потомства в долгосрочном режиме, если беременным самкам линии SHR вводить препараты, активирующие альфа₂-адренорецепторы мозга и снижающие активность СНС. В связи с этим, целью данной

Рис. 1. Схема проведения эксперимента

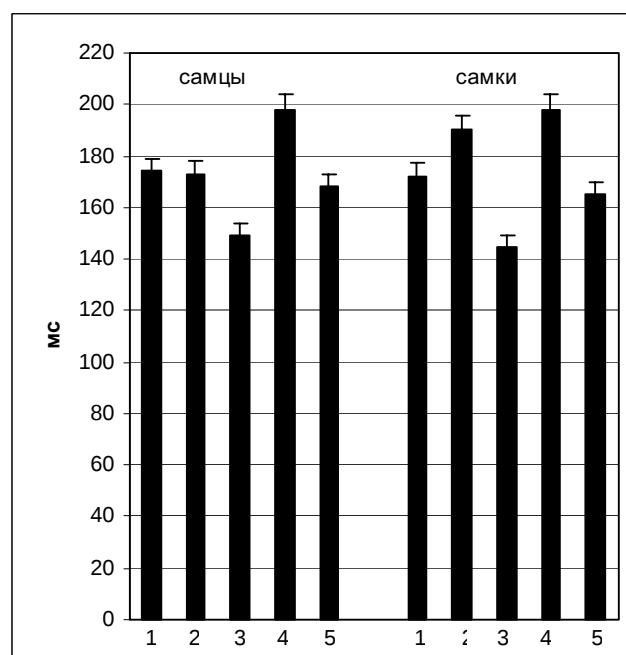
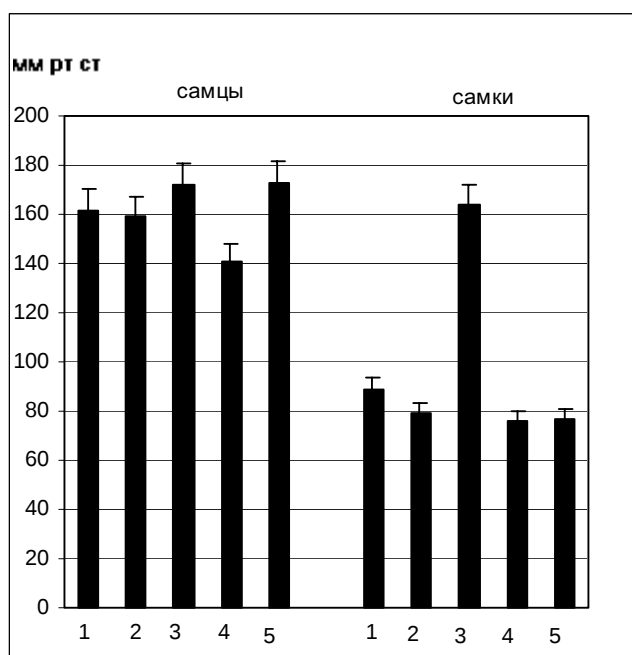


Объяснения в тексте

Рис. 2. Артериальное давление (А) и межсистольный интервал (Б) у крыс – потомков, которым вводился гуанфацин в пери- и ранний постнатальный периоды развития

А.

Б.



Объяснения в тексте, на оси абсцисс – группы животных согласно схеме проведения экспериментов, представленных на рис.1.

работы явилось изучение возможности влияния на развитие артериальной гипертензии у потомства спонтанно гипертензивных крыс при активации центральных альфа₂-адренорецепторов в пре- и раннем постнатальном периодах.

Материалы и методы

Крысы линии SHR (виварий Института физиологии им. И.П. Павлова РАН) спаривались в возрасте 16–18 недель для получения потомства. Угнетение активности СНС достигалось введением гуанфацина – препарата, проникающего через гемато-энцефалический и плацентарный барьеры и активирующего α₂ – адренорецепторы мозга. Раствор гуанфацина в дозах 0,033 мг/кг и 0,017 мг/кг с пищей скормливался беременным самкам с 10 по 18 сутки беременности (группы № 1 и № 2, рис. 1), а в группах № 4 и № 5 (рис. 1) – со 2-х по 15 сутки после родов. В контрольной группе (группа 3, рис. 1) самки не получали гуанфацин. В период вскармливания крысята содержались с самками, а затем разделялись по половому признаку и содержались отдельно.

В возрасте 16–18 недель выросшим крысам-потомкам под комбинированным наркозом (оксифурилат натрия и нембутал внутримышечно и подкожно) вживлялись полиэтиленовые катетеры диаметром 0,6 мм в бедерные артерию и вену, проводились под кожей в затылочную область и крепились там к коже. На вторые сутки после постановки катетеров, после 30-минутного периода адаптации, в условиях свободного бодрствования производилось измерение АД, вариабельности АД, частоты сокращений сердца (ЧСС) (измерялся межсистолический интервал – МСИ), артериальный барорецепторный рефлекс (АБРР). Величина АБРР оценивалась по корреляции сдвига АД и МСИ после внутривенного введения 0,1 мл 1 % раствора мезатона, разведенного физиологическим раствором в соотношении 1:40. Измерения осуществлялись с использованием АЦП, соединенного с IBM-совместимым компьютером.

Для оценки функционального состояния альфа₂-адренорецепторов в отдельной серии экспериментов выросшим крысам-потомкам вводили агонист этих рецепторов клонидин из расчета 10 мкг/кг и оценивали изменения основных гемодинамических показателей по сравнению с крысами контрольной группы.

Полученные данные обрабатывались с использованием пакета программ Statistica 5,0.

Результаты

Показатели АД и МСИ у крыс-потомков в возрасте 16–18 недель, получавших гуанфацин в разные периоды развития, представлены на рис. 2. Обнаружены существенные различия в уровне АД у самцов и самок в возрасте 16–18 недель. Если АД у самцов, получавших гуанфацин в дозе 0,033 мг/кг только в постнатальном периоде, достоверно ниже, чем в контроле, то у самок, получавших гуанфацин в дозах как 0,017, так и 0,033 мг/кг в пренатальном (группы № 1 и № 2) и в постнатальном периодах (группы № 4 и № 5), наблюдался значительно более низкий уровень АД и ЧСС (рис. 2А, 2Б).

Анализ величины АБРР у самцов в возрасте 16–18 недель показал, что в группах № 1 и № 2, когда крысы

получали препарат в пренатальном периоде, рефлекс значительно ниже, чем в контрольной группе. В то же время, у крыс в группах, получавших гуанфацин в постнатальном периоде, величина АБРР была достоверно выше контроля (группа № 4), либо не отличалась (группа № 5) (табл.1).

Вариабельность АД у крыс во всех подопытных группах достоверно не отличалась от контроля (табл. 1).

Таблица 1
**ВЕЛИЧИНА АБРР И ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ АД
У КРЫС-САМЦОВ РАЗНЫХ ОПЫТНЫХ ГРУПП
ВОЗРАСТЕ 16–18 НЕДЕЛЬ**

Группа	Измеряемые параметры	
	АБРР мс/мм рт. ст.	Вариабельность АД (% от исходного уровня)
Группа №1,n=9	0,472±0,10*	29,5±0,64
Группа №2,n=8	0,389±0,10*	31,3±0,97
Группа №3,n=10	0,607±0,03	34,8±1,37
Группа №4,n=10	0,718±0,03*	29,5±2,50
Группа №5,n=8	0,576±0,06	31,7±3,20

*p < 0,05

Для оценки функционального состояния альфа₂-адренорецепторов у животных, которые получали гуанфацин в разные периоды онтогенетического развития, проводился тест с оценкой изменения системной гемодинамики на введение агониста альфа₂-адренорецепторов клонидина.

Анализ проведенных исследований показал, что введение клонидина животным в возрасте 16–18 недель, получавшим гуанфацин как в пренатальном, так и раннем постнатальном периодах, вызывало менее интенсивное снижение АД по сравнению с контрольной группой (группа №3) (табл. 2). У контрольной группы животных средний уровень АД снижался на 49,5±4,2 мм рт.ст., в то время как у животных группы № 4 всего на 26,5±3,3 мм рт.ст. Урежение ЧСС было наиболее выражено у крыс в контрольной группе животных (на 57,6±2,6 мс) и менее выражено в группах № 4 и № 5 (на 31,3±4,7 мс и 27,6±5,2 мс, соответственно). АБРР после введения клонидина увеличивался у животных во всех группах, но в большей степени у крыс в группе № 4 (по сравнению с контрольной). Вариабельность АД после введения клонидина у крыс во всех опытных группах и контроле снижалась одинаково (табл.2) по сравнению с состоянием до введения препарата (табл.1).

Обсуждение

Патогенетическая роль увеличения активности СНС в возникновении и прогрессировании АГ проявляется в усилении вазоконстрикции, а также в трофическом влиянии на гладкие мышцы сосудов и сердца [6]. Одной из причин усиления этой активности может быть изменение метаболизма центральных адренергических систем. Dawson et al. [12], Yao [21] показали, что гипертензивные крысы (по сравнению с нормотензив-

**ИЗМЕНЕНИЕ СИСТЕМОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ КЛОНИДИНА (10 МКГ/КГ)
У КРЫС-САМЦОВ РАЗНЫХ ГРУПП В ВОЗРАСТЕ 16–18 НЕДЕЛЬ**

Группа	Измеряемые параметры			
	Д АД мм рт. ст.	Д МСИ мс	Д АБРР мс/мм рт. ст.	Д Вариабельность АД (% от исходного уровня)
Группа № 1, n=9	-30,7±2,8*	30,7±9,0*	0,235±0,03	-17,9±0,83
Группа № 2, n=8	-38,7±1,3*	34,5±5,2*	0,215±0,03	-20,6±0,58
Группа № 3, n=10	-49,5±4,2	57,6±2,6	0,217±0,07	-12,8±1,38
Группа № 4, n=10	-26,5 ±3,3*	31,3±4,7*	0,325±0,05*	-11,3±0,43
Группа № 5, n=8	-33,7±3,1*	27,6±5,2*	0,161±0,03	-10,7±0,9

* $p < 0,05$ по сравнению с группой 3

ными крысами линии WKY) имеют повышенный уровень норадреналина в структурах мозга, имеющих отношение к регуляции кровообращения, и это увеличение обуславливает развитие и поддержание гипертензии у крыс линии SHR.

Известно, что выраженность АГ у спонтанно гипертензивных крыс ослабляется или усиливается при фармакологическом воздействии на системы, ответственные за ее развитие в определенных онтогенетических периоды. В исследованиях McCarty, Lee [10], было отмечено, что у взрослых крыс линии SHR, которым осуществлялась блокада альфа₁-адренорецепторов с 1 по 21 день постнатального развития, уровень АД ниже, чем у контрольных животных. Однако у крыс линии WKY этот феномен не проявлялся. В настоящей работе фармакологическое воздействие на адренергические системы было реализовано агонистом альфа₂-адренорецепторов гуанфацином. Известно, что гуанфацин проникает через гематоэнцефалический и плацентарный барьеры, и в проведенных исследованиях препарат, при его назначении крысам в пре- и постнатальном периодах, по-видимому, воздействовал на альфа₂-адренорецепторы как тканей, так и нервных структур головного мозга. Период введения препарата совпадал с периодом формирования рецепторного звена норадренергической системы, так как показано резкое увеличение количества альфа-адренорецепторов к 21 дню эмбрионального развития в стволе головного мозга крысы [3]. Связывание гуанфацина с адренорецепторами соматических нейронов приводит к активации адренорецептивных нейронов, а воздействие на альфа₂-адренорецепторы пресинаптических окончаний – к уменьшению выделения норадреналина. Можно предположить, что гуанфацин, в конечном счете, увеличивает плотность адренорецепторов в период их окончательного созревания. Основанием для такого предположения являются данные о том, что блокатор альфа₂-адренорецепторов иохимбин снижает концентрацию норадреналина в структурах мозга, в основном, за счет блокады рецепторов в пресинаптических окончаниях, контролирующих выделение норадреналина [12].

Вероятно этим обстоятельством и объясняются полученные нами результаты, представленные на рис. 2. Как видно из рис. 2, у взрослых гипертензивных крыс-

самцов, которым в период раннего постнатального развития в течение 14 суток вводился гуанфацин, уровень АД и ЧСС был ниже, чем у крыс в группе контроля. Причем, если у детей-самцов эффект гуанфацина проявляется только после введения препарата кормящим самкам в дозе 0,033 мг/кг в постнатальном периоде (группа № 4, рис. 1), то у детей-самок гуанфацин приводил к снижению АД при его назначении матерям как в пре-, так и в постнатальном периодах (рис. 2).

Разница во влиянии гуанфацина на развитие АГ у потомства разного пола до конца не ясна. Известно, однако, что снижение уровня тестостерона у крыс повышает плотность альфа₂-адренорецепторов в стволе головного мозга [2], так как андрогены регулируют экспрессию альфа₂-адренорецептора [7, 8]. Одним из возможных объяснений наблюдаемых нами различий в показателях гемодинамики (рис. 2, табл. 1) у взрослых особей является разное количество (и, возможно, степень созревания) альфа₂-адренорецепторов у эмбрионов разного пола, что проявляется разной степенью связывания гуанфацина с альфа₂-адренорецепторами. Именно поэтому недостаточное развитие альфа-адренорецепторов у эмбрионов-самцов и является причиной неэффективности гуанфацина на развитие АГ у этих животных в половозрелый период.

Это предположение вступает в определенное противоречие с результатами экспериментов, когда крысам – самцам, получавшим гуанфацин в период пре- и постнатального развития, в возрасте 16–18 недель вводился активатор альфа₂-адренорецепторов клонидин. Как показали проведенные наблюдения (табл. 2), снижение АД и урежение ЧСС у крыс во всех опытных группах отличается от контрольной (табл. 2), однако у крыс, которым гуанфацин вводился в период постнатального развития, степень гипотензии была меньше, чем у животных, которым препарат вводился в пренатальный период. Если исходить из предположения о том, что у этих крыс плотность альфа-адренорецепторов выше (с этим и связаны, по-видимому, более низкий уровень АД и ЧСС), то клонидин у этих крыс должен снижать АД в большей степени, чем в контроле.

Для объяснения этого противоречия можно высказать два предположения. Первое заключается в том, что меньшая степень гипотензии после введения кло-

нидина у животных группы № 4 может быть обусловлена более низким исходным уровнем артериального давления (рис.2). Второе объяснение может заключаться в следующем. Клонидин не только активирует постсинаптические альфа₂-адренорецепторы, но и оказывает выраженное влияние на альфа₂-адренорецепторы, расположенные на пресинаптических окончаниях и регулирующих выделение норадреналина [1]. Не исключено, что именно пресинаптический компонент в действии клонидина и проявляется при введении препарата животным, у которых активация альфа₂-адренорецепторов происходила в ранний постнатальный период. Как показали исследования, проведенные Dawson et al. [11], блокатор альфа₂-адренорецепторов иохимбин снижает концентрацию норадреналина в периферических тканях. Если у половозрелых крыс в наших экспериментах активность периферических адренорецепторов была выше, чем в контрольной группе животных, периферическая активность клонидина должна препятствовать его центральному гипотензивному действию. В любом случае проведенное исследование показало, что фармакологическое воздействие на формирование альфа₂-адренорецепторов мозга крыс линии SHR в пре- и ранний постнатальный период может влиять на последующее развитие АГ.

Литература

1. Алмазов В.А., Цырлин В.А., Шляхто Е.В., Маслова Н.П. Антигипертензивные препараты. Санкт-Петербург, изд. СПбГМУ, 1997, 231 с.
2. Калинина Т.С., Сурнина Н.Ю., Юшкова А.А. и др. Экспрессия альфа 2 адренорецепторов головного мозга под действием стероидных гормонов. Мат. конфер. «Эндокринная регуляция физиологических функций в норме и патологии», 2002, 34.
3. Лушкова А.А., Дыгало Н.Н. Изменение количества альфа 2- и бета – адренорецепторов в мозговом стволе и церебральной коре крыс в онтогенезе. Российский физиол. журн. и м. И. М. Сеченова. 1995; 81 (2): 7–11.
4. Маркель А.Л. Роль катехоламинов в развитии спонтанной артериальной гипертензии у крыс линии SHR. Успехи физиологических наук. 1983; 14: 67–84.
5. Постнов Ю.В., Орлов С.Н. Первичная гипертензия как патология клеточных мембран. М., Медицина. 1987. 191 с.
6. Цырлин В.А. Центральная регуляция кровообращения и артериальная гипертензия. Артериальная гипертензия. 2006; 12(1): 66–79.
7. Шишкина Г.Т., Дыгало Н.Н. Молекулярная физиология адренергических рецепторов. Успехи физиологических наук. 1997; 28(1): 61–74.
8. Шишкина Г.Т., Дыгало Н.Н. Подтип-специфические клинически важные эффекты альфа2-адренорецепторов. Успехи физиологических наук. 2002; 33(2): 30–40.
9. McCarty R. Sympathetic nervous system development in hypertensive rats. J Hypertens Suppl. 1986; 4(3): S155–7.
10. McCarty R.; Lee J.H. Prewaning Administration of Terazosin Decreases Blood Pressure of Hypertensive Rats in Adulthood. Hypertension; 1996. 27: 1115–1120.
11. Dawson R. Jr., Nagahama S., Oparil S. Yohimbine-induced alterations of monoamine metabolism in the spontaneously hypertensive rat. I. The peripheral nervous system. Brain Res Bull. 1987; 19(1): 101–108.
12. Dawson R. Jr., Nagahama S., Oparil S. Yohimbine-induced alterations of monoamine metabolism in the spontaneously hypertensive rat of the Okamoto strain (SHR). II. The central nervous system (CNS). Brain Res Bull. 1987; 19(5): 525–534.
13. Howes LG, Rowe PR, Summers RJ, Louis WJ. Age related changes of catecholamines and their metabolites in central nervous system regions of spontaneously hypertensive (SHR) and normotensive Wistar-Kyoto (WKY) rats. Clin Exp Hypertens. 1984; 6(12): 2263–77.
14. Jonsson J. R., Head R. J., AND Frewin D.B.. Effect of α_1 -adrenoceptor blockade on the development of hypertension in the spontaneously hypertensive rat. Eur. J. Pharmacol. 1992; 221: 263–268.
15. Sanchez, A., Vidal M. J., Martinez-Sierra R., et al.. Ontogeny of renal alpha-1 and alpha-2 adrenoceptors in the spontaneously hypertensive rat. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1986; 237: 972–979.
16. Smith P. G., Poston G.W., Mills S E.. Ontogeny of neural and non-neural contributions to arterial blood pressure in spontaneously hypertensive rats. Hypertension. 1984; 6: 54–60.
17. Tsuda K., Tsuda S., Masuyama Y., Goldstein M. Alterations in catecholamine release in the central nervous system of spontaneously hypertensive rats. Jap. Heart J. 1991; 32(5): 701–709.
18. Tsuda K., Tsuda S., Nishio I. Role of alpha2-adrenergic receptors and cyclic adenosine monophosphate-dependent protein kinase in the regulation of norepinephrine release in the central nervous system of spontaneously hypertensive rats. J Cardiovasc Pharmacol. 2003; 42. Suppl 1: S81–85.
19. Unger T, Rettig R. Development of genetic hypertension: is there a “critical phase”? Hypertension. 1990; 16: 615–616.
20. Yao H. Monoamine contents and norepinephrine turnover in brain stem nuclei of young and adult spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. Fukuoka Igaku Zasshi. 1990; 81(11): 370–383.
21. Young RL, Jonsson JR, Mano MT, Frewin DB, Head RJ. Influence of alpha₁- and alpha₂-adrenoceptor antagonist therapy on the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. J Cardiovasc Pharmacol. 1993; 21: 786–790.