

ЛИТЕРАТУРА

1. Турысов В.С. — Эксп. онкол., 1985, т. 7, № 3, с. 5—12.
2. Diamond L., Brien Th.G., Bairel W.M. — Adv. in Cancer Res., 1980, vol. 39, p. 1—74.
3. Fitzgerald D.J., Knowles S.E., Ballard F.J., Murray A.W. — Cancer Res., 1983, vol. 43, № 8, p. 3614—3618.
4. Imaida K., Fukushima S., Shirai T. et al. — Carcinogenesis, 1983, vol. 4, № 7, p. 895—899.
5. Imaida K., Fukushima S., Shirai T. et al. — Gann, 1984, vol. 75, № 9, p. 769—775.
6. Malkinson A.M., Beer D.S. — J. Nat. Cancer Inst., 1984, vol. 73, № 4, p. 925—934.
7. Sawada N., Tsukada H. — Gann, 1983, vol. 74, № 11, p. 806—809.
8. Telang S., Tong C., Williams G.M. — Carcinogenesis, 1982, vol. 3, № 10, p. 1175—1179.
9. Trosko J.E., Jotty L.P., Warren S.T. et al. In: Carcinogenesis. A comprehensive survey. N.Y.: Raven Press, 1982, vol. 7, p. 565—5687.
10. Umeda M., Noda K., Ono T. — Gann, 1980, vol. 71, № 5, p. 614—620.
11. Wärngård L., Flodström S., Ljungquist S., Ahlborg U. — Arch. Environmen. Contamin. and Toxicol., 1985, vol. 14, p. 541—546.
12. Wenner C.E., Tomei L.D., Leister K.J. — Transplant. Proc., 1984, vol. 16, № 2, p. 381—385.
13. Witschi H., Williamson D., Looock S. — J. Nat. Cancer Inst., 1977, vol. 58, № 2, p. 301—305.
14. Yamasaki H., Enomoto T., Martel N. In: Models, mechanisms and etiology of tumor promotion. IARC Sci. Publ. Lyon, 1984, № 56, p. 217—238.

УДК 576.3+581.17

ЦИТОЛОГИЯ

Т.А. ВОЙНО-ЯСЕНЕЦКАЯ, И.К. КОНДАКОВ, В.А. ТКАЧУК,
В.С. РЕПИН, член-корреспондент АН СССР В.Н. СМЕРНОВ

СИНЕРГИЗМ В ДЕЙСТВИИ СТИМУЛЯТОРОВ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИСТЕМЫ И ФОСФОИНОЗИТИДНОГО ОБМЕНА В ПЕРФУЗИРУЕМОЙ АОРТЕ КРОЛИКА

Повреждения эндотелиальных клеток и целостности эндотелиального покрова артерий является ключевым событием в патогенезе атеросклероза и других сосудистых заболеваний [1]. Нарушение морфологической целостности эндотелиального покрова ведет к увеличению проницаемости сосуда для циркулирующих в плазме макромолекул, в том числе липопротеидов низкой плотности (ЛНП) [2]. Экспериментально показано, что гиперхолестеринемия, диабет, факторы стресса ведут к частичному повреждению эндотелиальной выстилки артерий и локальному повышенному отложению ЛНП [3—5].

Ранее, изучая механизмы повреждающего действия адреналина в аорте кролика, мы обнаружили появление характерных морфологических повреждений эндотелия и ускорение включения ^{125}I -ЛНП в аорту. Оба эти явления предотвращались блокадой как альфа-, так и бета-адренорецепторов [5].

В настоящей работе продемонстрировано, что морфологическое повреждение эндотелия и увеличение транспорта ЛНП в перфузируемой аорте кролика могут быть вызваны: 1) одновременной активацией альфа- и бета-адренорецепторов или бета-адрено- и М-холинергических рецепторов агонистами; 2) повышением концентрации вторичных мессенджеров — циклического АМФ и диацилглицерина, являющихся продуктами активации бета- и альфа-адренорецепторов (или М-холинергических) соответственно.

Для поддержания интактности сегментов аорты кролика в условиях *in situ* проводили перфузию средой 199 при 37°C, гидростатическом давлении 100 мм рт. ст., напряжении кислорода в перфузате (P_{O_2}) не менее 80 мм рт. ст., скорости тока 10 мл/мин. Эндотелиальный покров сосудов исследовали методом растровой элект-

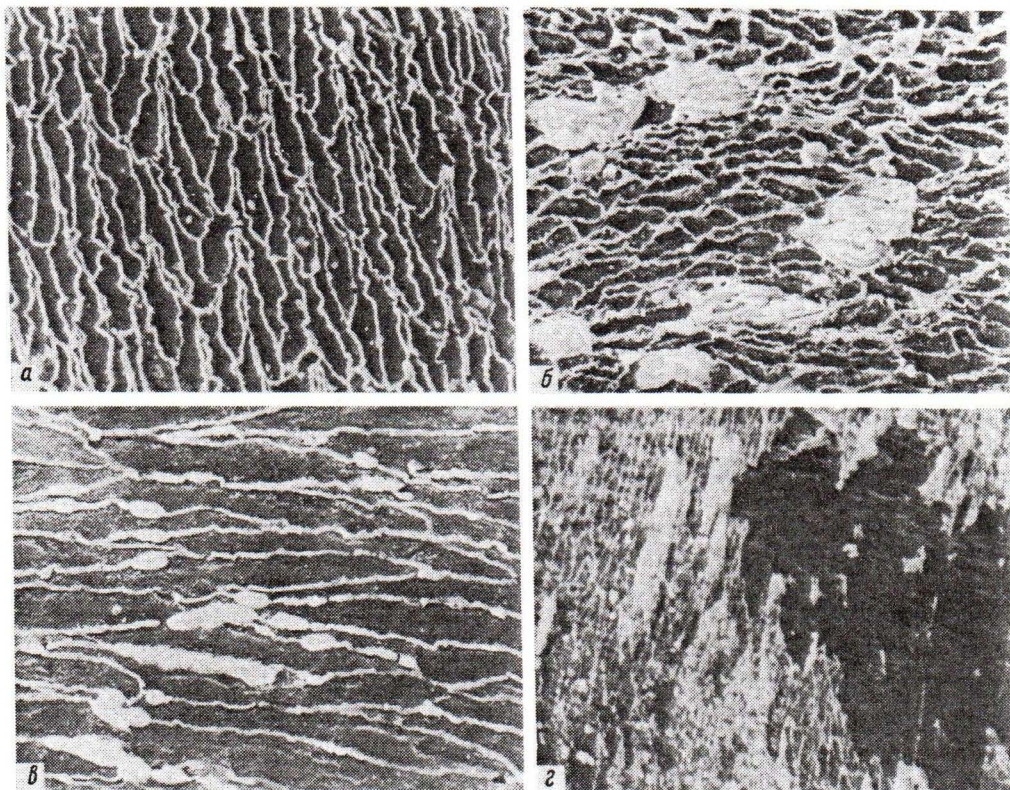


Рис. 1. *а* — луминальная поверхность грудной аорты кролика, контроль (РЭМ, 320 X); *б* — аргирофильные клетки (РЭМ, 320 X); *в* — расширение межэндотелиальных контактов (РЭМ, 640 X); *г* — зоны дезэндотелизации и аргирофилии (РЭМ, 160 X)

ронной микроскопии после импрегнации серебром и фиксации при физиологическом давлении [4]. Просматривали препараты на растровом электронном микроскопе PSEM-500 фирмы "Phillips", Голландия. Количественными критериями повреждения эндотелиального покрова были индекс повреждения эндотелия (число слущенных и аргирофильных клеток на 1 мм^2) и индекс повреждения межклеточных границ (число клеток с кратерами, стомами, стигматами и расширенными межклеточными границами на 1 мм^2).

Взаимодействие ЛНП со стенкой аорты исследовали радиоизотопным методом: для этого использовали ^{125}I -ЛНП в дозе 5 мкг по белку в 1 мл перфузата [2]. Содержание радиоактивной метки определяли на гамма-счетчике 1282 "CompuGamma" фирмы "LKB", Швеция. Включение ^{125}I -ЛНП выражали в пикограммах белка на 1 мм^2 луминальной поверхности.

Концентрацию циклического АМФ в сегментах аорты измеряли с помощью наборов для радиосатурационного определения цАМФ фирмы "Amersham", Великобритания. Среда 199 получена от фирмы "Gibco", Великобритания, фентоламин и пропранолол — от фирмы "Ciba-Geigy", Швейцария. Празозин был любезно предоставлен нам Г. Григоряном. Остальные вещества получены от фирмы "Sigma", США.

Одновременная активация альфа- и бета-адренорецепторов изопротеренолом, агонистом бета-рецепторов, и фенилефрином, агонистом альфа-рецепторов, в кон-

Таблица 1

Влияние агонистов и антагонистов адренорецепторов, М-холинергических рецепторов и стимуляторов аденилатциклазной системы и фосфоинозитидного обмена на морфологию эндотелия и включение ^{125}I -ЛНП в перфузируемую аорту кролика

Агент, мкМ	Индекс повреждения эндотелиальных клеток, кл/мм ²	Индекс повреждения межклеточных границ, кл/мм ²	Включение ^{125}I -ЛНП, %
Контроль	$2,3 \pm 0,5$	58 ± 10 (12)	100 ± 12 (12)
Изопротеренол, 10	$2,2 \pm 0,5$	43 ± 10 (8)	92 ± 8 (7)
Фенилефрин, 10	$1,8 \pm 0,4$	45 ± 8 (6)	94 ± 6 (5)
ИП, 10 + фенилефрин, 10	$12 \pm 3^*$	$218 \pm 21^*$ (8)	$258 \pm 21^*$ (6)
ИП + ФЕ + пропранолол, 10	$2,1 \pm 0,5$	43 ± 12 (6)	97 ± 8 (6)
ИП + ФЕ + фентоламин, 10	$2,0 \pm 0,5$	41 ± 8 (6)	82 ± 4 (6)
ИП + ФЕ + празозин, 10	$2,1 \pm 0,4$	49 ± 6 (4)	101 ± 10 (4)
ИП + ФЕ + иохимбин, 10	$14 \pm 4^*$	$199 \pm 18^*$ (5)	$202 \pm 12^*$ (5)
Карбамилхолин, 10	$1,6 \pm 0,1$	42 ± 8 (6)	108 ± 11 (6)
ИП + карбамилхолин, 10	$16 \pm 4^*$	$189 \pm 21^*$ (5)	$198 \pm 11^*$ (5)
ИП + К + атропин, 10	$2,1 \pm 0,6$	58 ± 11 (5)	99 ± 6 (5)
Форсколин, 10	$2,4 \pm 0,3$	59 ± 7 (6)	102 ± 10 (6)
Форбол-миристат-ацетат, 0,1	$2,9 \pm 0,6$	56 ± 12 (6)	—
Форсколин, 10 + ФМА, 0,1	30–40% луминальной поверхности аорты дезэндотелизировано		

Примечание. ИП — изопротеренол, ФМА — форбол-миристат-ацетат; ФЕ — фенилефрин; К — карбамилхолин. В скобках — число опытов. Звездочкой отмечено $P < 0,05$ по сравнению со значениями в контроле. Достоверность различий оценивали по T -критерию Стьюдента. Включение ^{125}I -ЛНП в нативную аорту кролика принято за 100% и составляет в среднем 120 ± 10 пг белка ЛНП на 1 мм².

центрации 10 мкМ приводила к появлению характерных повреждений эндотелия (рис. 1) и двухкратному ускорению транспорта ЛНП в стенку сосуда (табл. 1). Перфузия аорты одним фенилефрином или изопротеренолом не влияла на морфологию эндотелия и скорость включения ^{125}I -ЛНП. Как и катехоламиновые повреждения сосудистой стенки, повреждения, вызванные селективными агонистами, полностью предотвращались либо пропранололом, либо фентоламином. Показательно, что повреждения сосудистой стенки блокировались альфа-1-антагонистом празозином, но не альфа-2-антагонистом иохимбином (табл. 1). Эти данные позволили предположить, что катехоламинзависимые и изопротеренол-фенилефринзависимые повреждения аорты связаны с одновременной активацией бета- и альфа-1-адренергических рецепторов.

Известно, что активация альфа-1-адренорецепторов и ряда других рецепторов, в частности М-холинергических, связана с активацией фосфоинозитидного обмена [6]. Перфузия аорты кролика одновременно карбамилхолином (агонист М-холинергических рецепторов) и изопротеренолом (агонист бета-адренорецепторов) вызывала похожие повреждения эндотелиального покрова и соответствующее увеличение включения ^{125}I -ЛНП. Повреждения эндотелия полностью блокировались атропином, антагонистом М-холинергических рецепторов (табл. 1).

Как известно, активация фосфоинозитидного обмена альфа-1-адренорецепторами, М-холинергическими рецепторами приводит к гидролизу инозитол-4,5-дифосфата и образованию инозитол-3-фосфата и диацилглицерина. Активация бета-адренорецепторов связана с повышением уровня внутриклеточного цАМФ [7]. В следую-

шей серии опытов мы попытались выяснить, сопряжены ли повреждающие эффекты с повышением концентрации "вторых мессенджеров" — цАМФ и диацилглицерина — в сосудистой стенке. Для повышения внутриклеточной концентрации цАМФ использовали форсколин, активатор аденилатциклазы. Перфузия аорты кролика 10 мкМ форсколином приводила к достоверному повышению концентрации цАМФ на 278% (концентрация цАМФ в контрольных сегментах равнялась 169 ± 25 пмоль/г влажной массы и была принята за 100%), но не изменяла морфологии и проницаемости эндотелия. Сходным образом перфузия 0,1 мкМ 4-форбол-12-миристат-13-ацетатом (ФМА, стабильный аналог диацилглицерина, активатор протеинкиназы С) практически не влияла на морфологическую целостность и проницаемость эндотелиального покрова. Однако одновременная перфузия аорты 10 мкМ форсколином и 0,1 мкМ ФМА приводила к массивному появлению аргирофильных и частично слущенных клеток. Через 60 мин перфузии зоны дезэндотелизации занимали 30–40% от всей площади луминальной поверхности (рис. 1г). Обращало на себя внимание, что зоны индуцированной клеточной гибели и дезэндотелизации имели нерандомическое распределение, образуя "кластеры" разной площади. Ранее было известно, что индуцированную гибель эндотелиальных клеток *in situ* и в культуре можно вызвать цитотоксическими агентами: гомоцистеином, эндотоксином, перекисями липидов или активными формами кислорода [8–11]. Вызванная гибель эндотелиоцитов в перфузируемой аорте демонстрирует новое явление: синергизм в действии стимуляторов аденилатциклазной системы и фосфоинозитидного обмена в клетках сосудистой стенки.

Обнаруженное явление открывает новые подходы в изучении взаимодействия рецепторов и стимуляторов аденилатциклазной системы и фосфоинозитидного обмена в клетках сосудистой стенки. Выявленный нами синергизм в действии активаторов аденилатциклазной системы и фосфоинозитидного обмена может иметь практическое значение для разработки эффективных способов управления механизмами клеточной гибели.

Всесоюзный кардиологический научный центр
Академии медицинских наук СССР, Москва

Поступило
17 III 1986

ЛИТЕРАТУРА

1. Ross R., Harker L. — Science, 1976, vol. 193, p. 1094–1100.
2. Preobrazhensky S.N., Dolgov V.V., Flegel H.G. et al. Atherosclerosis, 1983, vol. 48, p. 147–155.
3. Долгов В.В., Преображенский С.Н., Войно-Ясенецкая Т.А., Репин В.С. — Арх. пат., 1982, № 11, с. 51–55.
4. Долгов В.В., Заикина О.Е., Бондаренко М.Ф., Репин В.С. — Diabetologia, 1982, vol. 22, p. 338–343.
5. Махмудов Р.М., Долгов В.В., Войно-Ясенецкая Т.А. и др. — Кардиология, 1984, № 8, с. 96–99.
6. Berridge M.J., Irvine R.F. — Nature, 1984, vol. 321, p. 315–321.
7. Robinson G.A., Buthcher R.W., Sutherland E.W. In: Cyclic AMP. N.Y.: London, 1971, p. 73–75.
8. Harker L.A., Ross R., Slichter J., Scott C.R. — J. Clin. Invest., 1976, vol. 58, p. 731–741.
9. Pesonen E., Karpio E., Rapola J. et al. — Atherosclerosis, 1981, vol. 40, p. 65–73.
10. Peng S.K., Taylor C.B., Hill J.C., Morin R.J. — Atherosclerosis, 1985, vol. 54, p. 121–133.
11. Weiss S.I., Young J., LoBuglio A.F. et al. — J. Clin. Invest., 1981, vol. 68, p. 714–721.