

УДК 612. 018

СОКРАТИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ГЛАДКИХ МЫШЦ АРТЕРИЙ И ВЕНЫ ПУПОВИНЫ ЧЕЛОВЕКА И СПОСОБНОСТЬ СЫВОРОТКИ ПУПОВИННОЙ КРОВИ ПОВЫШАТЬ ИХ α -АДРЕНОРЕАКТИВНОСТЬ

Циркин В.И.¹, Сазанова М.Л.², Сизова Е.Н.³,
Хлыбова С.В.¹, Дворянский С.А.¹

¹Кировская государственная медицинская академия,

²Вятский государственный гуманитарный университет,

³Вятский социально-экономический институт, Киров

Сегменты артерий (n=172) и вены (n=80) пуповины новорожденных (n=68) не обладают спонтанной активностью и имеют низкий базальный тонус. Он не меняется под влиянием ацетилхолина (10^{-6} г/мл) и сыворотки (1:100) пуповинной крови, снижается в бескальциевом растворе и возрастает (особенно, у сегментов артерий) в гипонатриевой или гиперкалиевой (60 мМ КСl) среде или при действии адреналина и норадреналина (10^{-7} и 10^{-6} г/мл). Сыворотка (1:100) усиливает вазоконстрикторный эффект катехоламинов (10^{-6} г/мл), что говорит о наличии в ней эндогенного сенсibilизатора α -адренорецепторов (ЭСААР) и об участии катехоламинов в регуляции фетоплацентарного кровообращения.

Данные о физиологических свойствах гладких мышц сосудов пуповин малочисленны и противоречивы [1-7,12]. Не исследовалось и влияние на них эндогенных модуляторов хемореактивности, существование которых в сыворотке крови матери и плода установлено ранее [8,9,10]. Целью работы являлось изучение физиологических свойств миоцитов артерий и вены пуповины новорожденных и влияние на них 100-кратного разведения сыворотки пуповинной крови новорожденных. Для этого исследовали фоновую сократительную активность (СА) сегментов артерий и вены пуповины и влияние на нее гипокальциевой или гипонатриевой среды (при замене раствора Кребса на бескальциевый раствор Кребса, а также на изотонический раствор сахарозы или на дистиллированную воду), гиперкалиевый среды (60 мМ КСl), ацетилхолина (10^{-6} г/мл), адреналина, норадреналина (10^{-8} - 10^{-6} г/мл) и сыворотки крови (1:100).

Материал и методы

Опыты проведены с сывороткой пуповинной крови 68 новорожденных, а также с их кольцевыми сегментами артерий и вены пуповины. Роды были срочными (38-40 недель). Новорожденные разделены на четыре группы – с неосложненным течением беременности и родов (n=24, группа 1), при наличии слабости родовой деятельности (n=14, группа 2), позднего гестоза (n=14; группа 3) или анемии беременных (n=16, группа 4). Кольцевые сегменты (1-2 мм в ширину) артерий (172) и вены (80) с интактным эндотелием иссекали из средней части пуповины. Их сократительную активность (СА) регистрировали по [10] на «Миоцитографе» при 38°C, скоро-

сти перфузии раствора Кребса (его состав, в мМ: NaCl - 136, KCl - 4,7, CaCl₂ - 2,52, MgCl₂ - 1,2, KH₂PO₄ - 0,6, NaHCO₃ - 4,7, C₆H₁₂O₆ - 11; pH-7,4), равной 0,7 мл/мин, и при пассивной аэрации рабочей камеры. Применяли адреналина гидрохлорид, норадреналина гидротартрат, ацетилхолина хлорид и пропранолол (обзидан). Сыворотку получали центрифугированием (2000 об/мин, 10 мин) пуповинной крови, взятой общепринятым способом (до исследования ее хранили при 4°C в течение 3-30 ч.). Эксперименты состояли в том, что сегменты сосудов в течение 40-60 мин перфузировали раствором Кребса; затем его заменяли (на 10-20 мин) в зависимости от задач исследования бескальциевым раствором Кребса, изотоническим (280 мМ) раствором сахарозы, дистиллированной водой, гиперкалиевым (60 мМ КСl) раствором Кребса либо раствором Кребса, содержащим исследуемое вещество (адреналин, норадреналин, ацетилхолин) и/или сыворотку пуповинной крови (1:100). Оценку холино- и адреномодулирующей активности сыворотки крови проводили по [8,10] путем трехкратного тестирования сегментов сосудов ацетилхолином (10^{-6} г/мл), адреналином или норадреналином (10^{-6} г/мл) на фоне базального тонуса по схеме: раствор Кребса → катехоламин (или ацетилхолин) → раствор Кребса → сыворотка (1:100) → сыворотка (1:100) + катехоламин (ацетилхолин) → раствор Кребса → катехоламин (ацетилхолин) → раствор Кребса (каждый этап – по 10 минут). В части опытов трехкратное тестирование (до, на фоне и после воздействия сыворотки крови) ацетилхолином (10^{-6} г/мл) или адреналином (10^{-8} г/мл) осуществляли в условиях КСl-вызванной

активности. Сырую массу сегментов сосудов определяли на торсионных весах типа WT-500. Различия между результатами исследования оценивали по критерию Стьюдента, принимая их достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Сегменты артерий и вены не обладали спонтанной фазной СА. Они имели низкий базальный тонус (рис.), который в бескальциевом растворе Кребса уменьшался (рис., панель А), причем у сегментов вены ($n=7$, из всех групп) более выражено (до $0,45 \pm 0,05^*$ мН/мг от исходного уровня; здесь и далее * означает, что различие с сегментами артерий достоверно, $p < 0,05$), чем у сегментов артерий (до $0,17 \pm 0,03$ мН/мг, $n=12$; $p < 0,05$). Эти результаты согласуются с данными [4,7] и позволяют считать, что тонус миоцитов сосудов пуповины формируется благодаря входящему потоку ионов Ca^{2+} .

Сыворотка (1:100) крови не влияла на базальный тонус сосудов. Это означает, что содержащийся в ней, согласно [9], эндогенный активатор сократимости миоцитов (ЭАСМ), действие которого, вероятно, связано с увеличением входа Ca^{2+} в миоциты, не участвует в регуляции фетоплацентарного кровообращения.

Гиперкалиевый (60 мМ КС1) раствор Кребса, как и в опытах [12], повышал тонус сегментов вены и артерий, вызывая в ряде случаев появление низкоамплитудных фазных сокращений (рис., Г). Это означает, что миоциты сосудов пуповины содержат потенциалчувствительные кальциевые каналы, по которым Ca^{2+} поступают из среды и повышают СА миоцитов. Величина тонической СА, вызванной гиперкалиевым раствором, у сегментов вены во всех четырех группах (1, 2, 3 и 4) была ниже, чем у сегментов артерий - соответственно $0,47 \pm 0,13^*$; $0,31 \pm 0,02^*$; $0,25 \pm 0,03^*$ и $0,32 \pm 0,04^*$ мН/мг ($p_{1,2,3,4} > 0,1$) против $1,58 \pm 0,34$; $0,61 \pm 0,06$; $0,89 \pm 0,11$ и $0,57 \pm 0,07$ мН/мг ($p_{1-2,3,4} < 0,05$; $p_{3-2,4} < 0,05$). При этом в группах 2, 3 и 4 тоническая СА и у сегментов вены (тенденция), и у сегментов артерий (достоверно) была ниже, чем в группе 1. Это позволяет утверждать, что наличие акушерской патологии снижает эффективность электромеханического сопряжения в миоцитах сосудов пуповины. Сыворотка (1:100) крови не изменяла КС1-вызванный тонус; это означает, что ЭАСМ не способен влиять на тонус миоцитов сосудов пуповины и в условиях деполяризации.

Замена раствора Кребса на изотонический раствор (280 мМ) сахарозы (рис., Б) повышала тонус сегментов вены (в группах 1, 2, 3 и 4 соответственно до $0,33 \pm 0,04$; $0,54 \pm 0,03$; $0,45 \pm 0,03$ и $0,59 \pm 0,05$ мН/мг; $p_{1-2,3,4} < 0,05$; $p_{3-4} < 0,05$) и артерий (до $0,56 \pm 0,11$; $0,76 \pm 0,13$; $0,51 \pm 0,07$ и $0,67 \pm 0,07$

мН/мг; $p_{1,2,3,4} > 0,1$; $p_{в-а} > 0,05$), что объясняется, согласно [9], снижением работы Na^+-Ca^{2+} -обменного механизма, приводящего к росту $[Ca^{2+}]_i$. Выявляемые различия говорят о том, что интенсивность работы Na^+-Ca^{2+} -обменного механизма в миоцитах вены, в определенной степени, ниже, чем в миоцитах артерий, а также о повышении интенсивности работы этого механизма в миоцитах вены при наличии акушерских осложнений. Замена раствора Кребса на дистиллированную воду тоже вызывала транзиторное повышение тонуса сегментов сосудов (рис., В). Это объясняется снижением интенсивности работы Na^+-Ca^{2+} -обменного механизма (вследствие низкой концентрации Na^+ в среде), а также оводнением миоцитов в связи со снижением осмотического давления среды. Повышение тонуса (мН/мг) у сегментов вены было ниже (в группах 1, 2, 3 и 4 - соответственно $1,13 \pm 0,26^*$; $0,87 \pm 0,1^*$; $1,05 \pm 0,13^*$ и $2,02 \pm 0,25^*$; $p_{4-1,2,3} < 0,05$), чем у сегментов артерий (соответственно - $3,30 \pm 0,85$; $1,55 \pm 0,14$; $2,88 \pm 0,48$ и $1,35 \pm 0,11$; $p_{1-2,4} < 0,05$; $p_{3-2,4} < 0,05$; $p_{в-а} < 0,05$). Эти данные подтверждают вывод о более низкой интенсивности работы Na^+-Ca^{2+} -обменного механизма в миоцитах вены.

В отличие от [2-7], нам не удалось выявить способность ацетилхолина (10^{-6} г/мл) повышать тонус сегментов артерий и вен пуповины - он не влиял на базальный тонус и КС1-вызванную СА сегментов сосудов, в том числе на фоне сыворотки (1:100), что, вероятнее всего, объясняется отсутствием М-холинорецепторов в миоцитах сосудов пуповины.

Адреналин (рис., Д) и норадреналин в концентрации 10^{-8} г/мл не влияли на тонус сегментов сосудов пуповины, в том числе повышенный гиперкалиевым раствором (рис., Г). В более высоких концентрациях (10^{-7} , 10^{-6} г/мл) катехоламины дозозависимо повышали тонус, особенно у сегментов артерий. Так, в концентрации 10^{-7} г/мл адреналин повышал тонус у сегментов вены ($n=10$, из всех групп) - до $0,22 \pm 0,02^*$ мН/мг, а у сегментов артерий ($n=10$, из всех групп) - до $0,29 \pm 0,01$ мН/мг; для норадреналина эти значения составили соответственно $0,20 \pm 0,01^*$ мН/мг и $0,34 \pm 0,03$ мН/мг; в концентрации 10^{-6} г/мл адреналин повышал тонус у сегментов вен и артерий соответственно до $0,28 \pm 0,01^*$ и $0,53 \pm 0,06$ мН/мг, а норадреналин - до $0,40 \pm 0,03^*$ и $0,52 \pm 0,04$ мН/мг ($p_{7-6} < 0,05$). В ряде опытов катехоламины одновременно с повышением тонуса вызывали генерацию фазных сокращений (рис., Д). Обзидан (10^{-8} г/мл) не влиял (рис. 1, Д) на эффект адреналина (10^{-6} г/мл). Это означает, что вазоконстрикторное действие катехоламинов, выявленное и в исследованиях [2-7], обусловлено активацией α -АР, плотность которых в мио-

цитах вены, возможно, ниже, чем в миоцитах артерий. Сыворотка (1:100) достоверно повышала вазоконстрикторный эффект высоких (10^{-6} г/мл) концентраций адреналина (рис. 1, Д) и норадреналина. Так, в опытах с сегментами вены ($n=10$) адреналин (10^{-6} г/мл) при 2-м тестировании, т.е. на фоне сыворотки (1:100) увеличивал их тонус до $0,37 \pm 0,03^*$ мН/мг, или до $131,4 \pm 10,0\%$ от уровня, наблюдаемого при 1-м тестировании; следовательно, дополнительный достоверный ($p < 0,05$) прирост тонуса составил $0,12 \pm 0,02$ мН/мг; для сегментов артерий ($n=10$) эти показатели были равны соответственно $0,84 \pm 0,11$ мН/мг, $162,1 \pm 14,5\%$ и $0,31 \pm 0,08$ мН/мг ($p < 0,05$), т.е. были выше, чем у сегментов вены. Для норадреналина (10^{-6} г/мл) в опытах с сегментами вены эти показатели составили соответственно $0,57 \pm 0,04^*$ мН/мг, $140,5 \pm 4,7\%$ и $0,34 \pm 0,05$ мН/мг ($p < 0,05$), а с сегментами артерий - $0,73 \pm 0,05$ мН/мг, $141,4 \pm 7,6\%$ и $0,42 \pm 0,07$ мН/мг ($p < 0,05$). Следовательно, сыворотка (1:100) про-

являет α -адреносенсибилизирующую активность, что можно объяснить наличием в пуповинной крови эндогенного сенсибилизатора α -АР (ЭСААР). В условиях КС1-вызванного тонуса сегментов сосудов (рис., Г) сыворотка крови (1:100) не способствовала появлению у адреналина, используемого в низких концентрациях (10^{-8} г/мл), вазоконстрикторного эффекта. Однако это не исключает, что α -адреносенсибилизирующая активность сыворотки пуповинной крови может проявляться и в условиях деполяризации миоцитов. В целом, результаты исследования позволяют заключить, что катехоламины за счет активации α -АР участвуют в регуляции тонуса артерий и вены пуповины, а тем самым - фетоплацентарного кровотока. Их вазоконстрикторное действие может усиливаться за счет имеющегося в крови ЭСААР, который, вероятно, является компонентом системы эндогенных модуляторов хемореактивности.

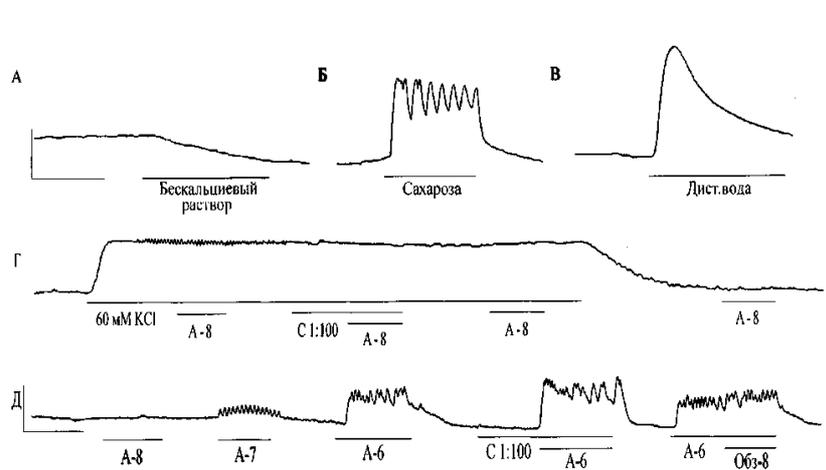


Рисунок 1. Механограммы кольцевых сегментов артерий пуповины человека, демонстрирующие влияние бескальциевого раствора Кребса (панель А), изотонического раствора сахарозы (Б), дистиллированной воды (В), отсутствие вазоконстрикторного эффекта адреналина (10^{-8} г/мл; А-8) и α -адреносенсибилизирующего эффекта 100-кратных разведений сыворотки пуповинной крови (С 1:100) на фоне гиперкалиевого (60 мМ КС1) раствора Кребса (Г), вазоконстрикторный эффект адреналина (панель Д) в концентрациях 10^{-8} , 10^{-7} и 10^{-6} г/мл (соответственно А-8, А-7 и А-6), а также α -адреносенсибилизирующую активность 100-кратных разведений сыворотки пуповинной крови (С 1:100). Обз-8 - обзидан в концентрации 10^{-8} г/мл. Горизонтальная линия под механограммой указывает на момент действия вещества или сыворотки пуповинной крови. Калибровка 10 мН, 10 мин.

Представленный материал показывает, что удельная тоническая активность, вызываемая гиперкалиевым раствором Кребса, изотоническим раствором сахарозы, дистиллированной водой и катехоламинами, у сегментов вены, как правило, была ниже, чем у сегментов артерий. Это позволяет предположить, что регулирующие влияния со стороны плода или матери в отноше-

нии фетоплацентарного кровотока преимущественно отражаются на притоке крови к плаценте, чем на ее оттоке.

В заключение отметим, что подобно [2,7], нами выявлены изменения физиологических свойств у миоцитов сосудов пуповины при наличии акушерских осложнений. В частности, при слабости родовой деятельности, позднем гестозе

и анемии возрастает тоническая реакция сегментов вены на сахарозу (т.е. повышается активность Na^+ - Ca^{2+} -обменного механизма), а тоническая реакция сегментов артерий и вены на гиперкалиевый раствор, наоборот, уменьшается (т.е. снижается эффективность электромеханического сопряжения). Малочисленность наблюдений не позволила нам оценить изменение α -адренореактивности миоцитов сосудов при акушерских осложнениях. Однако сообщение [7] о повышении при ожирении вазоконстрикторного эффекта катехоламинов (сегменты вены пуповины) и наши данные [11] о повышении при слабости родовой деятельности, позднем гестозе и анемии вазоконстрикторного эффекта гистамина (сегменты артерий и вены пуповины) позволяют утверждать, что при акушерских осложнениях хемореактивность миоцитов возрастает. Все это следует учитывать при изучении механизмов нарушения фетоплацентарного кровообращения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Молчанов С.В., Азия А.Л. // Тезисы конф. патофизиологов Урала. - Челябинск, 1991. - С. 11-12.
2. Молчанов С.В., Прохоров В.Н. // Проблемы ОПГ-гестоза: Тез. докл. - Чебоксары, 1996. - С. 216.
3. Молчанов С.В., Юшков Б.Г., Прохоров В.Н. // Вопр. экспер. физиологии: Сб. статей. - Екатеринбург: УрО РАН, 1997. - С. 256-261.
4. Молчанов С.В., Прохоров В.Н. // Тез. докл. XVII съезда физиол. России. - Ростов-на-Дону, 1998. - С. 141.
5. Прохоров В.Н., Молчанов С.В. // Перинатальная кардиология: Сб. трудов. - Екатеринбург, 1998. - С. 85-90.
6. Прохоров В.П., Молчанов С.В. // Тез. докл. XVII съезда физиол. России. - Ростов-на-Дону, 1998. - С. 143.
7. Прохоров В.Н. Патогенез нарушений кровоснабжения плода и пути их коррекции во время беременности и родов (на примере женщины с первичными формами ожирения). - Автореф. ... дис. докт. мед. наук. - М., 2000. - 40 с.
8. Циркин В.И., Дворянский С.А., Осокина А.А. и др. // Лекарственное обозрение (Киров). - 1996. - № 4. - С. 49-54.
9. Циркин В.И., Дворянский С.А. Сократительная деятельность матки (механизмы регуляции). - Киров, 1997. - 270 с.
10. Циркин В.И., Дворянский С.А., Джергения С.Л. и др. // Физиология человека. - 1997. - Т. 23, № 3. - С. 88-96.
11. Циркин В.И., Сазанова М.Л., Дворянский С.А., Хлыбова С.В. // Журнал акушерства и женских болезней. - 2002. - Т. LI, выпуск 4. - С. 55-60.
12. Dombrowski M., Swoyderico G, Greenwood F. et al. // J. Reprod. Med. - 1986. - Vol. 31, № 6. - P. 467-472.

CONTRACTILE ACTIVITY OF SMOOTH MUSCLES OF ARTERIES AND VEIN OF THE HUMAN UMBILICAL CORD AND ABILITY OF UMBILICAL BLOOD SERUM TO RAISE ITS α -ADRENOREACTIVITY

Tsirkin V.I., Sazanova M. L., Sizova E.N., Hlybova S. V., Dvorjansky S.A.

Segments of arteries (n=172) and vein (n=80) of the umbilical cords newborn (n=68) have no spontaneous activity and have low basal tonus. It does not discharge by acetylcholine (10^{-6} g/ml) and umbilical blood serum (1:100), but is reduced in calcium free solution and enhances (especially, at segments of arteries) in hyposodium or hyperpotassium (60 mm KCl) environment or at action of adrenaline and noradrenaline (10^{-7} and 10^{-6} g/ml). Serum (1:100) strengthens vasoconstriction effect of catecholamines (10^{-6} g/ml), that speaks about presence in serum endogenic sensibilizator of α -adrenoceptors (ESAAR) and about participation of catecholamines in regulation of fetoplacental blood circulations.