

УДК 616.839.1-003.96-092.4

НЕЙРОГУМОРАЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ В ТКАНЯХ БРОНХОВ ПРИ СИМПАТИЧЕСКОЙ СТРЕСС-ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ

А.С. Медведев, С.Б. Кондрашова

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск

Реализация адаптационно-трофической функции симпатической системы базируется на последовательном синергизме возбуждения альфа- и бета-адренергических клеточных рецепторов. Адаптационная часть функции осуществляется через активацию альфа-адренорецепторов норадреналином терминалей симпатического нерва. Трофическая часть может реализовываться через активацию клеточных бета-адренорецепторов адреналином, который имеет более высокое сродство к бета-адренорецепторам, чем норадреналин. Одним из источников адреналина ткани может быть норадреналин симпатических окончаний, преобразованный в адреналин, локализованным в тканях ферментом фенилэтаноламин-N-метилтрансферазой (ФНМТ). Функциональная недостаточность тканевого фермента может обусловить количественное несоответствие уровней норадреналина и адреналина в ткани, что приведет к рассогласованию сопряжения адаптационного и трофического процесса. Последнее обстоятельство может быть причиной и пусковым механизмом развития процесса тканевой дезадаптации.

Ключевые слова: адаптация, симпатическая система, адреналин, норадреналин, дезадаптация.

The adaptotrophic function of the sympathetic system is realized based on activation of two types of cellular reception (alpha- and beta-adrenoreception), of consecutive synergism. The adaptive function of the sympathetic system is realized via activation of alpha-adrenoreceptors of a cell by the humoral transmitter noradrenaline released from sympathetic nerve terminals, while the trophic function via beta-adrenoreceptors. The humoral transmitter of the process may be adrenaline which has a higher affinity for beta-adrenoreceptors than noradrenaline. One putative source of tissue adrenaline may be noradrenaline of sympathetic terminals, transformed to adrenaline by the enzyme phenylethanolamine N-methyltransferase. Deadaptation of the tissue functional system may be triggered by discordance of tissue levels of noradrenaline and adrenaline, which accounts for the relative prevalence of alpha-adrenostimulation over beta-adrenostimulation.

Key words: adaptation, sympathetic system, stress, adrenaline, noradrenaline, deadaptation.

Введение

Известно, что физиологическая адаптация опосредуется симпатическим отделом вегетативной нервной системы (ВНС). Нарушение симпатической адаптивной регуляции является одним из ведущих механизмов развития не только системных, но и локальных патологических процессов, развивающихся, например, в тканях внутренних органов. Нарушение симпатической адаптивной иннервации локально взятую ткань может найти свое отражение в изменении нейрогуморальной ситуации в ней. Априори можно также предположить, что снижение адаптивных возможностей ткани может быть и само, в какой-то мере, обусловлено транзиторными нейрогуморальными нарушениями в ней. Одним из показателей нейрогуморального состояния ткани может служить концентрация катехоламинов, в частности, норадреналина симпатических терминалей, как основного нейротрансмиттера симпатического влияния на иннервируемую ткань.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на половозрелых взрослых крысах-самцах (45 крыс) массой 220-250 г, которые содержались в стандартных условиях вивария. Животных предварительно наркотизировали раствором тиопентала-натрия в дозе 70 мг/кг, который вводили внутрибрюшинно. Хирургическим путем, по общепринятой методике, препарировали шейный отдел симпатического ствола, с выделением ветви нерва, идущей к бронхам. После чего проводилась электростимуляция нервного волокна в течение 2 мин с интервалом в 15, 30 и 45 мин, однократной электростимуляцией в течение 2 мин и 2 час, трехкратной с двумя перерывами по 15 мин каждый (параметры электростимуляции –

напряжение 5В, частота 5 Гц, частота импульса 2 мсек). Контрольной группой служили интактные животные. После того или иного режима сеанса электростимуляции животных декапитировали, выделяли ткань бронхов. После промывки в растворе Хэнкса ткань просушивали, взвешивали, размельчали и гомогенизировали в 5% растворе трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Гомогенат обрабатывался по методу Осинской (1960) с использованием в качестве адсорбента алюмо-калиевых квасцов и подвергался флуоресцентному анализу (метод Лаверти-Гэйлора, 1975) для определения содержания в нем адреналина (А) и норадреналина (НА). В качестве контроля использовалась 5% трихлоруксусная кислота. Флуоресценция измерялась на флуориметре при длине волны 310 нм. Концентрация А и НА рассчитывалась по калибровочной кривой и выражалась в мкг/г ткани.

Результаты исследований

В результатах исследований, прежде всего, обращал на себя внимание факт появления в ткани после электростимуляции адреналина. Поэтому в дальнейшем исследовались не только концентрация норадреналина (НА), но и адреналина (А), а также соотношение их концентраций в тканях бронхов при различных режимах симпатической электростимуляции, по сравнению с их уровнем у интактных животных.

В экспериментах было выявлено, что при дискретной многократной симпатической электростимуляции отмечается увеличение общего количества КА в иннервируемой ткани. Причем, на каждый последующий сеанс реактивное увеличение их количества было меньше предыдущего. Значения индекса соотношения НА/А были следующими – 1,197; 1,851; 2,979; 3,547. При этом количество

Таблица 1 – Уровень катехоламинов в тканях бронхов крыс при различных режимах электростимуляции

Режим стимуляции	Уровень норадреналина	Уровень адреналина	Индекс соотношения НА/А	Индекс соотношения НАn+1/НАn	Индекс соотношения An+1/An
1-кратная	> 6,31	>5,27	1,197		
2-кратная	> 4,72	>2,55	1,851	0,748	0,484
3-кратная	> 4,35	>1,46	2,979	0,922	0,572
4-кратная	> 4,15	>1,17	3,547	0,954	0,801

Примечания: 1. Знак «>» - превышение уровня исследуемого вещества к уровню его у интактного животного в количестве раз. 2. Индекс соотношения НА/А – отношение концентрации норадреналина к концентрации адреналина. 3. Индекс соотношения НА(n+1)/НАn – отношение концентрации норадреналина при последующем по кратности режиме электростимуляции к предыдущему (2-кратная / 1-кратная и т.д.). 4. Индекс соотношения А(n+1)/Аn – отношение концентрации адреналина при последующем по кратности режиме электростимуляции к предыдущему (2-кратная / 1-кратная и т.д.). 5. «n» – номер кратной стимуляции.

норадреналина на раздражение от сеанса стимуляции к последующему быстро стабилизировалось (0,748; 0,922; 0,954), а при анализе динамики постстимуляционного увеличения количества адреналина отмечалось последовательное снижение его концентрации от стимуляции к стимуляции (0,484; 0,572; 0,801).

В следующей серии экспериментов с тем же режимом дискретной многократной симпатической стимуляцией мы предварительно вводили в ткань бронхов в качестве адаптационного стабилизатора кортикостерон (4мкг/кг). Были получены следующие результаты табл. 2.

Таблица 2 – Уровень катехоламинов в тканях бронхов крыс при различных режимах электростимуляции с предварительной премедикацией кортикостероном

Режим стимуляции	Уровень норадреналина	Уровень адреналина	Индекс соотношения НА/А	Индекс соотношения НАn+1/НАn	Индекс соотношения An+1/An
1-кратная	> 10,8	> 7,29	1,482		
2-кратная	> 5,86	> 4,14	1,415	0,543	0,568
3-кратная	> 4,46	> 3,11	1,434	0,761	0,751
4-кратная	> 3,41	>2,39	1,427	0,765	0,768

При анализе динамики соотношения НА/А в этой серии отмечалась стабильность этого показателя (1,482; 1,415; 1,434; 1,427). По сравнению с первой серией опытов (без предварительного введения кортикостерона), в этой серии отмечалась стабилизация прироста концентрации именно адреналина (0,568; 0,751; 0,768).

Обсуждение результатов

Полученные результаты свидетельствуют, что функциональное напряжение и нарушение симпатической иннервации может вызывать определенные изменения в соотношении уровней катехоламинов в ткани. Однако возникает вопрос: откуда в исследуемой ткани на фоне электростимуляции появляется адреналин? Известно, что норадреналин выделяется из симпатических окончаний в качестве нейромедиатора (5). В везикулах аксональных терминалей имеется предшественник катехоламинов – дофамин, но адреналина нет. Основным местом его продуцирования, как известно, являются хромаффинные клетки мозгового вещества надпочечников (3). В ткани бронхов хромаффинных клеток, которые могли бы образовывать адреналин, да еще в таком количестве, нет. Имеются немногочисленные указания, что какое-то количество хромаффинных клеток может быть в интрамуральных микроангилах бронхов (1). Но узлы имеют капсу-

лу, и каким образом появляется такое количество адреналина и почти одновременно с норадреналином, не совсем ясно. Можно предположить, что адреналин высвобождается из надпочечников, и это ответная реакция на травму и электростимуляцию. У 7 экспериментальных животных после проведения электростимуляции одновременно с определением катехоламинов в тканях бронхов определяли их уровень в печени и мышцах бедра. Установлено, что в печени и мышцах бедра содержание А и НА, увеличивалось незначительно, соответственно в 1,08 и 1,09 раз, по сравнению с их концентрацией у интактных животных. Это незначительное увеличение было расценено как общая стрессовая (надпочечниковая) реакция на инструментальное вмешательство. Подобное незначительное повышение уровня КА в бронхиальной ткани наблюдалось и у крыс, которым проводили вскрытие грудной клетки и выделение симпатического ствола без последующей стимуляции нервного волокна, иннервирующего бронхи. Для подтверждения универсальности этого локального физиологического эффекта была проведена серия экспериментов (4 крысы) с симпатической стимуляцией мышц бедра (электростимуляции симпатической ветви тазового нерва). Показано увеличение КА (НА и А) в тех же пропорциях, что и в предыдущих сериях на тканях бронхов. Таким образом, следует признать, что появление в ткани адреналина при ее симпатической стимуляции есть локальная физиологическая реакция на симпатическую электростимуляцию ткани.

Можно предположить, что одним из возможных путей появления адреналина в ткани может быть его образование из норадреналина, выделяемого при стимуляции из симпатических окончаний. Как известно, этот процесс опосредуется ферментом фенилэтанолламин-N-метилтрансферазой (ФНМТ), который катализирует N-метилование норадреналина с образованием адреналина (2, 11). Этот фермент довольно широко представлен в различных тканях, так как хорошо растворим в воде, и поэтому легко диффундирует по межклеточному пространству (4).

Была проведена серия экспериментов с блокадой резерпином выделения из аксональных терминалей норадреналина (как источника для внутритканевого образования адреналина). При этом отмечалось отсутствие изменения его концентрации при электростимуляции на всех ее режимах, но при этом не регистрировался подъем уровня и адреналина. Этот возможный путь появления адреналина в ткани косвенно подтверждают результаты наших экспериментов с премедикацией стимулируемой ткани бронхов кортикостероном (табл. 2). Известно, что синтез и активность ФНМТ стимулируют глюкокортикоиды, который, в свою очередь, увеличивает интенсивность образования адреналина (6).

Но в чем физиологическая целесообразность появления в иннервируемой ткани адреналина? Механизм взаимодействия катехоламинов с клеткой издавна привлекает внимание исследователей, но до сих пор нет целостного, логично стройного

представления по этому вопросу. Хорошо известна теория Орбели об адапционно-трофической роли симпатической системы в обеспечении жизнедеятельности ткани и реализации специфических функций внутренних органов. Влияние симпатической системы на иннервируемую клетку организовано путем взаимодействия нейромедиатора с двумя классами мембранных клеточных рецепторов: альфа-адренергические и бета-адренергические (10). При рассмотрении механизмов реализации симпатических влияний неизбежно встает вопрос о сопряженности клеточной альфа- и бета-адренорецепции в общей структуре симпатической регуляции. В большинстве руководств по физиологии приводится мнение об относительной антагонистичности альфа- и бета-адренорецепции. Это утверждение иллюстрируется разной направленностью физиологических реакций при симпатической стимуляции, наблюдаемых в разных органах и тканях и объясняется преимущественным преобладанием одного из типов клеточных адренорецепторов в тех или иных тканях (10). Но, исходя из основных положений теории об адапционно-трофической роли симпатической системы, по нашему мнению, следует говорить об определенном последовательном синергизме альфа- и бета-адренорецепции. Следует напомнить внутриклеточные эффекты стимуляции альфа-адренорецепторов, то можно условно выделить 2 относительно самостоятельных пути: а) активация структурной перестройки клеточных анаболических ферментативных систем (эффекты реализуются через «альфа1-адренорецепцию»); б) угнетение катаболических ферментов: аденилатциклазы и гуанилатциклазы (эффекты реализуются через альфа2-адренорецепцию). Процессы, инициированные альфа-адреностимуляцией, идут с поглощением энергии (12). Энергия АТФ на первом этапе функциональной перестройки нужна, в первую очередь, для обеспечения мобилизации такого важного вторичного посредника, как ионы Са, а также для обеспечения конформационной перестройки множества ферментативных систем клетки, синтеза ионных насосов и каналов клеточной мембраны. Синтез вторичных посредников инозитол-3-фосфат (ИФ3) и диацилглицерол (ДАГ) требует затраты 2 молекул АТФ; запуск анаэробного гликолиза (на первом этапе) также проходит с использованием 2 молекул АТФ, как и активация синтеза НАД, НАДФ и АТФ в митохондриях (активация фосфорилирования). Исходя из этого, можно предположить, что блокирование ферментов аденилатциклазы и гуанилатциклазы посредством активации альфа2-адренорецепторов направлено на первоочередное энергетическое обеспечение конформационной перестройки ферментативных систем клетки. Блокада распада АТФ до цАМФ, а ГТФ до цГМФ позволяет сохранить имеющихся в клетке молекулы АТФ и ГТФ для вышеуказанной цели.

Исходя из всего вышесказанного, можно сделать вывод, что адаптационная роль симпатической системы состоит в запуске и подготовке (перестройке) всех клеточных эффекторных структур для работы на новом уровне функциональной активнос-

ти (покой – работа). Реализуется эта задача посредством активации клеточных альфа-адренорецепторов симпатическим нейромедиатором – норадреналином, который, как известно, имеет повышенное сродство к именно этому классу клеточных адренорецепторов.

Если рассмотреть эффекты стимуляции бета-адренорецепторов, то можно опять выделить 2 относительно самостоятельных вида реакций: а) активация катаболической ферментативной системы аденилатциклазы с образованием вторичного посредника цАМФ, с последующей активацией цАМФ-зависимой протеинкиназы А (ПК-А), которая активирует гликогенолиз, липолиз, аэробный гликолиз, открытие резервных К-каналов, Са-канал L-типа; б) активация гуанилатциклазы с образованием вторичного посредника цГМФ, с последующей активацией протеинкиназы G (ПК-G). Хотя протеинкиназы А и G регулируют фосфорилирование ОН-групп серина и треонина, однако взаимодействуют они с разными клеточными белками, индуцируя тем самым разные физиологические эффекты.

ПК-G активизирует гликогенолиз (гликоген-6-фосфат), липолиз триглицеридов в жировой ткани, ионные насосы и медленные каналы в клетках печени, гладкомышечных клетках сосудов, бронхов, органов желудочно-кишечного тракта, в кардиомиоцитах. Протеинкиназа G активирует Са-АТФазы, функционирующей при низких концентрациях иона, которые увеличивают активный транспорт ионов Са из цитоплазмы клетки наружу или в саркоплазматический ретикулум (САПР). Снижение концентрации ионов Са в цитоплазме приводит к расслаблению (ГМК и КМЦ), но увеличению частоты и силы сокращения сердца. Еще один важный, но малоизвестный эффект на этом пути: цГМФ блокирует цАМФ-диэстеразу (блокада расщепления цАМФ до АМФ), чем повышает содержание цАМФ и продлевает ее эффекты. Таким образом, трофическая составляющая в деятельности симпатической системы состоит в обеспечении повышенного и длительного уровня функционирования клетки, а также организации ее материального обеспечения (кислород, питательные вещества). Реализуется эта задача посредством активации клеточных бета-адренорецепторов.

Если суммировать все вышесказанное, то общую схему реализации адапционно-трофического влияния на клетку симпатической системы можно представить следующим образом: первично через стимуляцию альфа-адренорецепторов запускается процесс перестройки клетки на новый уровень функционирования (переход от покоя к деятельности), а через последующую стимуляцию бета-адренорецепторов обеспечивается повышенный уровень функциональной активности клетки. Последовательный синергизм альфа- и бета-адренорецепторов обеспечивает реализацию адапционно-трофического влияния на клетку симпатической системы.

Если с реализацией альфа-адренорецепторных влияний симпатической системы посредством нейротрансмиттера симпатической терминали – норад-

ренина, все достаточно ясно, то с реализацией симпатических влияний через рецепторную бета-адренергическую часть возникает вопрос. Как этот последовательный синергизм обеспечивается и запускается одним нейромедиатором – норадреналином?

На сегодняшний день в научной литературе принято следующее объяснение. Считается, что симпатический медиатор норадреналин (НА) взаимодействует и с альфа- и бета-адренорецепторами (РЦ), но скорость образования лиганд-рецепторного комплекса норадреналина на альфа-РЦ больше, чем на бета-РЦ, так как НА имеет большее сродство к альфа-РЦ, чем к бета-РЦ (7). Поэтому сначала проявляются альфа-адреноэффекты и лишь потом бета-адреноэффекты. Последовательность возбуждения рецепторов может возникать также вследствие опережающего связывания G-белков от альфа₂-адреноРЦ с аденилатциклазой (АЦ) в результате чего происходит ее первичная блокада. После распада комплекса Gi-белок-АЦ и высвобождения рецептора АЦ, она прореагирует с G-белками от бета-адренорецепторов, в результате чего и реализуется эффект бета-адренорецепторов. Приведенный выше механизм позволяет объяснить: каким образом могут инициироваться последовательные альфа- и бета-адреноэффекты одним симпатическим нейромедиатором – норадреналином. Но возникает ряд вопросов: почему один и тот же лиганд инициирует последовательно качественно разные внутриклеточные процессы? Результаты наших исследований позволяют дать ответ на этот вопрос. Механизм реализации симпатических адаптационно-трофических эффектов в ткани может быть следующим. Выделяющийся при возбуждении из симпатических окончаний норадреналин взаимодействует с клеточными альфа-адреноРЦ. Не прореагировавшая его часть под действием локализованного в тканях фермента фенилэтаноламин-N-метилтрансферазой (ФНМТ), может быть трансформирована в адреналин. Адреналин, имеющий большее сродство к бета-адреноРЦ, образует лиганд-рецепторный комплекс с бета-РЦ. Таким образом можно представить механизм реализации последовательного синергизма и преемственности альфа- и бета-адренорецепции. Отсюда можно предположить, что норадреналин обеспечивает адаптацию клетки к новому режиму функционирования, адреналин – трофическое обеспечение повышенной функциональной активности. А реакция той или иной ткани может зависеть не только от суммарного количества альфа- или бета-РЦ и уровня их активации, но также от активности тканевого фермента, переводящего норадреналин в адреналин. Исходя из всего вышесказанного, можно сделать следующие выводы.

Выводы

1. Адаптационная функция симпатической системы, заключающаяся в подготовке всех клеточных эффекторных структур к активному функционированию, реализуется через клеточную альфа-адренорецепцию. Гуморальным медиатором этого процесса является норадреналин, имеющий большее сродство к альфа-адренорецепторам, который

выделяется симпатическими нервными окончаниями.

2. Трофическая функция симпатической системы заключается в организации энергетического обеспечения повышенной функциональной активности клетки, которая реализуется через бета-адренорецепцию. Гуморальным медиатором этого процесса может быть адреналин, имеющий большее сродство к бета-адренорецепторам.

3. Организация взаимодействия в процессе реализации адаптационно-трофической функции симпатической системы двух видов рецепции (альфа- и бета-) по принципу последовательного синергизма.

4. Одним из возможных источников адреналина в ткани может быть выделенный симпатическим нервом во время реализации нервного стимула, но оставшийся вне рецепторного взаимодействия норадреналин, преобразованный под действием фермента тканевого ФНМТ в адреналин.

5. Пусковым моментом тканевой дезадаптации тканевой функциональной системы может стать рассогласование уровней содержания в ткани норадреналина и адреналина (НА>А), что обуславливает относительное превалирование альфа-адреностимуляции над бета-адреностимуляцией.

6. Ситуация перманентного запуска клеточных систем функциональной реализации без соответствующего трофического подкрепления может приводить к клеточному адаптивному напряжению, истощению и в последующем к срыву клеточной адаптации.

Литература

1. Baker D.G., Mc Donald D.M. Distribution of catecholamine-containing nerves on blood vessels of the rat trachea // *J. Comp. Neurol.* – 1992. – Vol. – 325, № 1. – P. 38-46.
2. Bao X., Lu C.M., Liu F., Gu Y., Dalton N.D., Zhu B.Q., Foster E., Chen J., Karliner J.S., Ross J. Jr., Simpson P.C., Ziegler M.G. Epinephrine is required for normal cardiovascular responses to stress in the phenylethanolamine N-methyltransferase knockout mouse // *Circulation.* – 2007. – Vol. 16, № 9. – P. 1024-1031.
3. Capaldo A., Gay F., Laforgia V., De Falco M., Varano L. The adrenal gland of *Triturus carnifex* after glucagon administration // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* – 2006. – Vol. 145, № 2. – P. 188-194.
4. Davidoff M.S., Ungefroren H., Middendorff R., Koeva Y., Bakalska M., Atanassova N., Holstein A.F., Jezek D., Pusch W., Müller D. Catecholamine-synthesizing enzymes in the adult and prenatal human testis // *Histochem. Cell Biol.* – 2005. – Vol. 124, № 3. – P. 313-323.
5. Herlein J.A., Morgan D.A., Phillips B.G., Haynes W.G., Sivitz W.I. Antecedent hypoglycemia, catecholamine depletion, and subsequent sympathetic neural responses // *Endocrinology.* – 2006. – Vol. 147, № 6. – P. 2781-2788.
6. Krizanova O., Myslivecek J., Tillinger A., Jurkovicova D., Kubovcakova L. Adrenergic and calcium modulation of the heart in stress: from molecular biology to function // *Stress.* – 2007. – Vol. 10, № 2. – P. 173-184.
7. Kuroko Y., Yamazaki T., Tokunaga N., Akiyama T., Kitagawa H., Ishino K., Sano S., Mori H. Cardiac epinephrine synthesis and ischemia-induced myocardial epinephrine release // *Cardiovasc. Res.* – 2007. – Vol. 74, № 3. – P. 438-444.
8. Laverty R., Taylor K. The fluorometric assay of catecholamines and related compounds // *Anal. Biochem.* – 1968. – P. 269-289.
9. Osinsky O.V. Investigation metabolism of adrenaline and noradrenaline in tissues animal organism // *Biochemistry.* – 1957. – Vol. 22, № 3. – P. 537-543.
10. Takahashi E., Nagasu T. Enhanced expression of Ca²⁺ channel alpha1A and beta4 subunits and phosphorylated tyrosine hydroxylase in the adrenal gland of N-type Ca²⁺ channel alpha1B subunit-deficient mice with a CBA/JN genetic background // *Comp Med.* – 2006. – Vol. 56, № 3. – P. 168-175.
11. Wong D.L. Epinephrine biosynthesis: hormonal and neural control during stress // *Cell. Mol. Neurobiol.* – 2006. – Vol. 26, № 4. – P. 891-900.
12. Wong D.L., Tank A.W. Stress-induced catecholaminergic function: transcriptional and post-transcriptional control // *Stress.* – 2007. – Vol. 10, № 2. – P. 121-130.

Поступила 08.04.09