

## ФИЗИОЛОГИЯ, БИОФИЗИКА, БИОХИМИЯ

УДК 612.118

*А. В. Крысова, А. Д. Ноздрачёв, А. А. Куншин, В. И. Циркин*

### ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРОВ АЛЬФА- И БЕТА-АДРЕНорецепторов НА СПОСОБНОСТЬ АДРЕНАЛИНА ИЗМЕНЯТЬ ОСМОТИЧЕСКУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ НЕБЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

#### Введение

Известно, что эритроциты содержат большое количество различных адренорецепторов (АР), в том числе  $\alpha_1$ -АР,  $\alpha_2$ -АР,  $\beta_1$ -АР,  $\beta_2$ -АР и  $\beta_3$ -АР [1]. Так, согласно данным радиолигандных исследований, в одном эритроците человека содержится до 90–300  $\beta$ -АР [2], а в одном эритроците крыс — до 286  $\beta$ -АР [3]. Адренореактивность эритроцитов, т.е. характер их ответа на воздействие адренергических средств, в том числе неселективных и селективных агонистов, соответствующих АР, может меняться в зависимости от соотношения различных типов адренорецепторов [4]. Считается, что адренореактивность эритроцитов отражает адренореактивность внутренних органов [5–8]. По этой причине информация о ней может быть полезной, в том числе при профессиональном отборе лиц экстремальных профессий [7]; при оценке тяжести бронхиальной астмы [9] и гестоза [5, 10], а также для прогноза течения родов [5, 8].

Известны разные способы оценки адренореактивности эритроцитов. Чаще используются способы, основанные на изучении влияния различных адренергических средств на осмотическую резистентность эритроцитов (ОРЭ) [7, 9, 11]. Однако до настоящего времени отсутствует общепризнанная методика оценки ОРЭ, в том числе в отношении степени гипотоничности среды и вида адренергических средств. Так, ряд авторов [7, 8] определяли адренореактивность эритроцитов, помещенных на 30 мин при комнатной температуре в 0,45%-ный раствор NaCl, по изменению их ОР под влиянием высоких концентраций пропранолола ( $7,5 \cdot 10^{-3}$  г/мл). При этом они оценивали число гемолизированных эритроцитов фотоэлектрокалориметрическим способом по Л. И. Идельсону

---

*Крысова Анна Владимировна* — аспирант, Вятский государственный гуманитарный университет; e-mail: tsirkin@list.ru

*Ноздрачёв Александр Данилович* — д-р биол. наук, академик РАН; профессор Санкт-Петербургского государственного университета; e-mail: and@infran.ru

*Куншин Алексей Александрович* — канд. биол. наук, доцент, Вятский социально-экономический институт; внештат. науч. сотр., Вятский государственный гуманитарный университет; e-mail: valeology@vshu.kirov.ru

*Циркин Виктор Иванович* — д-р мед. наук, профессор, Казанский государственный медицинский университет; профессор, Вятский государственный гуманитарный университет; e-mail: tsirkin@list.ru

© А. В. Крысова, А. Д. Ноздрачёв, А. А. Куншин, В. И. Циркин, 2013

(1974) [12], т. е. по изменению оптической плотности надосадочной жидкости. А. П. Бабин и соавторы [11], используя метод Л. И. Идельсона, оценивали адренореактивность эритроцитов, помещаемых в 0,40%-ный раствор NaCl на 30 мин при 37°C, по изменению числа гемолизованных эритроцитов под влиянием адренергических средств (адреналина, пропранолола, ницерголина и адреналина совместно с указанными блокаторами). Реже для оценки адренореактивности эритроцитов применяются способы адренозависимой СОЭ [5] и адренозависимой агрегации эритроцитов, индуцированной алциановым голубым [10], позволяющие оценивать изменения указанных показателей под влиянием адренергических средств. Однако отсутствие однозначных данных о физиологической роли адренорецепторов в реализации осмотического гемолиза, оседания и агрегации эритроцитов и четкой зависимости эффекта адреналина от его концентрации в среде — все это привело к тому, что указанные выше способы не стали общепризнанными методами. Поэтому в настоящее время сохраняется потребность в разработке новых методов, адекватно отражающих адренореактивность эритроцитов.

В связи с этим нами был разработан метод оценки ОРЭ [13], основанный на подсчете числа негемолизованных эритроцитов (ЧНЭ), оставшихся после их 30-, 45-, 60-, 90- и 120-секундной экспозиции в дистиллированной воде (ДВ), содержащей 2,5 мМ CaCl<sub>2</sub>. Мы считали возможным на базе этого метода создать способ оценки адренореактивности, основанный на регистрации изменений ОРЭ под влиянием адренергических средств (адреналина и адреналина совместно с адреноблокаторами). Предварительные исследования показали [14], что адреналин способен изменять ОРЭ: либо повышать ее, либо снижать, а направленность и выраженность этих изменений зависит от концентрации адреналина, времени экспозиции эритроцитов, т. е. от исследуемой фракции эритроцитов, а также (у небеременных женщин) от фазы менструального цикла, т. е. от уровня половых гормонов. Мы предположили, что все эти особенности реакции эритроцитов на адреналин могут быть связаны с тем, что каждая фракция эритроцитов характеризуется определенным набором  $\alpha$ -АР и  $\beta$ -АР, который (как и эффективность активации соответствующих АР) может изменяться под влиянием половых гормонов.

С учетом потребности создания объективного метода оценки адренореактивности эритроцитов в данной работе была поставлена цель изучить роль  $\alpha$ -АР,  $\beta_1$ -АР и  $\beta_2$ -АР в изменении осмотической резистентности эритроцитов небеременных женщин, происходящем под влиянием адреналина. Для этого в четырех сериях опытов было изучено влияние неселективного блокатора  $\beta$ -АР пропранолола, или обзидана ( $10^{-8}$  и  $10^{-5}$  г/мл), селективного блокатора  $\beta_1$ -АР атенолола ( $10^{-8}$  г/мл), неселективного блокатора  $\alpha$ -АР ницерголина ( $10^{-8}$  и  $10^{-6}$  г/мл) и смеси ницерголина и атенолола (оба в концентрации  $10^{-6}$  г/мл) на способность адреналина ( $10^{-10}$ – $10^{-6}$  г/мл) изменять осмотическую резистентность пяти фракций эритроцитов небеременных женщин (Ф30, Ф45, Ф60, Ф90 и Ф120), т. е. эритроцитов, экспонируемых соответственно в течение 30, 45, 60, 90 и 120 с в ДВ, содержащей 2,5 мМ CaCl<sub>2</sub>.

### Материалы и методы исследования

В серии 1 оценивали влияние адреноблокаторов — обзидана ( $10^{-8}$  и  $10^{-5}$  г/мл), ницерголина ( $10^{-8}$  и  $10^{-6}$  г/мл), атенолола ( $10^{-8}$  г/мл) и смеси ницерголина и атенолола (оба в концентрации  $10^{-6}$  г/мл) на ОР пяти фракций (Ф30, Ф45, Ф60, Ф90 и Ф120) эритроцитов небеременных женщин ( $n = 40$ ; без учета фазы цикла).

Для оценки роли  $\alpha$ -АР,  $\beta_1$ -АР и  $\beta_2$ -АР в изменении ОР различных фракций эритроцитов под влиянием высоких концентраций адреналина были проведены серии 2 и 3. В серии 2 оценивали влияние высоких концентраций адrenoблокаторов — обзидана ( $10^{-5}$  г/мл), ницерголина ( $10^{-6}$  г/мл), а также смеси ницерголина ( $10^{-6}$  г/мл) и атенолола ( $10^{-6}$  г/мл) — на способность адреналина ( $10^{-6}$  г/мл) изменять осмотическую резистентность пяти фракций (Ф30, Ф45, Ф60, Ф90 и Ф120) эритроцитов небеременных женщин ( $n = 38$ ; без учета фазы цикла). В серии 3 оценивали влияние низких концентраций адrenoблокаторов ( $10^{-8}$  г/мл) — обзидана, ницерголина и атенолола — на способность адреналина ( $10^{-6}$  г/мл) изменять ОР двух фракций эритроцитов (Ф30 и Ф60) небеременных женщин ( $n = 17$ ; без учета фазы цикла).

Для изучения роли  $\alpha$ -АР,  $\beta_1$ -АР и  $\beta_2$ -АР в изменении ОРЭ под влиянием адреналина, используемого в широком диапазоне концентраций, и влияния на адренореактивность эритроцитов половых гормонов была проведена серия 4. В ней оценивали влияние смеси двух адrenoблокаторов — ницерголина и атенолола (оба в концентрации  $10^{-6}$  г/мл) на способность адреналина в концентрациях  $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$  и  $10^{-6}$  г/мл изменять ОРЭ фракции Ф45. Опыты проведены с эритроцитами небеременных женщин, 11 из которых находились в фолликулярной фазе цикла, т. е. на 3–12-й день от первого дня менструации, а 10 женщин — в лютеиновой фазе, т. е. на 16–24-й день цикла. Всего исследовано 116 небеременных женщин в возрасте 18–25 лет с их личного согласия.

Исследование ОР эритроцитов капиллярной крови проводили по методике В. И. Циркина и соавторов [13]. Забор крови в объеме 0,02 мл проводили с помощью микропипетки гемометра Сали. Этот объем вносили в пробирку с 0,2 мл 0,9%-ного раствора NaCl, содержащего гепарин (1 МЕ/мл) и CaCl<sub>2</sub> (2,5 мМ), и этой смесью кровь разводили в 10 раз. Затем 0,02 мл этого разведения добавляли в пробирку, содержащую 0,4 мл 3%-ного раствора NaCl, т. е. кровь разводили в конечном итоге в 200 раз. Это позволяло оценить исходное число негемолизированных эритроцитов (ЧНЭ) в 1 л крови, т. е. абсолютный контроль (АК). Все дальнейшие действия зависели от серии опытов.

В серии 1 готовили 10 пробирок, 5 из которых предназначались для определения ЧНЭ после 30-, 45-, 60-, 90- и 120-секундной экспозиции эритроцитов в ДВ, содержащей 2,5 мМ CaCl<sub>2</sub>, т. е. для определения соответствующего экспозиционного контроля (ЭК<sub>30</sub>—ЭК<sub>120</sub>). Для этого в каждую пробирку вносили по 0,2 мл ДВ с 2,5 мМ CaCl<sub>2</sub>, затем добавляли по 0,02 мл 10-кратно разведенной капиллярной крови, после чего точно через 30, 45, 60, 90 и 120 с (соответственно в 1, 2, 3, 4 и 5-ю пробирки) с целью остановки гемолиза эритроцитов вносили по 0,2 мл 6%-ного раствора NaCl. Это приводило к конечному разведению крови в 200 раз и позволяло оценить ЭК<sub>30</sub>—ЭК<sub>120</sub>, которое выражали в абсолютных и относительных (в % к АК) значениях. Остальные пять пробирок (с 6-й по 10-ю) служили для оценки влияния адrenoблокатора или смеси адrenoблокаторов в соответствующей концентрации на ОР эритроцитов при их 30-, 45-, 60-, 90- и 120-секундной экспозиции в ДВ. Для этого в каждую пробирку вносили по 0,2 мл ДВ, содержащей, помимо 2,5 мМ CaCl<sub>2</sub>, адrenoблокатор или смесь адrenoблокаторов в одной из концентраций. Затем (как и в первые пять пробирок) вносили по 0,02 мл 10-кратно разведенной капиллярной крови, а через 30, 45, 60, 90 и 120 с (соответственно в 6, 7, 8, 9 и 10-ю пробирки) вносили по 0,2 мл 6%-ного раствора NaCl и оценивали значения  $O_{\text{блок}}$ , т. е. ЧНЭ, оставшихся после 30-, 45-, 60-, 90- и 120-секундной экспозиции в ДВ с адrenoблокатором. Это число ( $O_{\text{блок}}$ ) выражали в абсолютных и относительных (в % к АК и в % к соответствующему ЭК<sub>i</sub>) значениях. В тех случаях,

в которых исследовалось не пять, а две фракции эритроцитов (Ф30 и Ф60), число пробирок соответственно было уменьшено.

В серии 2 при исследовании влияния обзидана готовили 15 пробирок. Первые пять служили для определения ЧНЭ после их 30-, 45-, 60-, 90- и 120-секундной экспозиции в ДВ, содержащей 2,5 мМ  $\text{CaCl}_2$ , т. е. для определения соответствующего экспозиционного контроля (ЭК<sub>30</sub>—ЭК<sub>120</sub>). Следующие пять пробирок (с 6-й по 10-ю) предназначались для оценки влияния адреналина ( $10^{-6}$  г/мл) на ОР эритроцитов при их 30-, 45-, 60-, 90- и 120-секундной экспозиции в ДВ, т. е. для определения  $O_{\text{адр}}$ , а остальные пять пробирок — для оценки влияния адреналина совместно с обзиданом, т. е. для определения  $O_{\text{адр+в-во}}$ . Аналогично использовали наборы из 15 пробирок при исследовании влияния ницерголина и ницерголина совместно с атенололом на способность адреналина изменять ОРЭ. При этом принцип заполнения пробирок был таким же, как в серии 1 и в опытах с обзиданом.

В серии 3 при оценке влияния обзидана использовали 6 пробирок, в том числе 1-ю и 2-ю для определения ЭК<sub>30</sub> и ЭК<sub>60</sub>, 3-ю и 4-ю — для определения влияния адреналина ( $10^{-6}$  г/мл) на ОРЭ фракции Ф30 и Ф60, т. е.  $O_{\text{адр}}$ , а 5-ю и 6-ю — для определения влияния адреналина в смеси с обзиданом, т. е.  $O_{\text{адр+в-во}}$ . Аналогично использовали наборы из 6 пробирок при исследовании влияния ницерголина и атенолола.

В серии 4 при оценке влияния смеси ницерголина и атенолола на способность адреналина в широком диапазоне концентраций ( $10^{-10}$ – $10^{-6}$  г/мл) изменять ОРЭ фракции Ф45 небеременных женщин, находящихся в фолликулярной фазе цикла, использовали 11 пробирок. Из них 1-я служила для определения экспозиционного контроля (ЭК<sub>45</sub>), т. е. ЧНЭ при 45-секундной экспозиции в ДВ, а следующие пять (со 2-й по 6-ю) служили для определения влияния адреналина в соответствующей концентрации (с  $10^{-10}$  по  $10^{-6}$  г/мл) на ОРЭ, т. е. для определения  $O_{\text{адр}}$  для каждой из указанных концентраций адреналина. Остальные пять пробирок (с 7-й по 11-ю) служили для определения влияния адреналина в соответствующей концентрации в смеси с ницерголином и атенололом, т. е. на фоне блокады  $\alpha$ -АР и  $\beta_1$ -АР. Аналогично использовали 11 пробирок при исследовании эритроцитов небеременных женщин, находящихся в лютеиновой фазе цикла.

Во всех сериях подсчет эритроцитов проводили микроскопическим методом, используя микроскоп типа Биолам ЛОМО (ИМ13) и счетную камеру Алферова—Бюргера с сеткой Горяева.

Результаты исследования подвергнуты статистической обработке [15]. В тексте и в таблицах они представлены в виде  $M \pm m$ , а различия оценивали непараметрическим методом Манна—Уитни, считая их достоверными при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования

Результаты каждой серии представлены в соответствующих таблицах 1–4. Как видно из таблиц, уровень эритроцитов в крови небеременных женщин, т. е. абсолютный контроль (АК), варьировал от 3,83 до 4,59 ( $\times 10^{12}$ ). При 30-секундной экспозиции в воде ЧНЭ снижалось до 84,6–66,8% от исходного уровня, т. е. от АК, при 45-, 60-, 90 и 120-секундной экспозиции — соответственно до 70,3–56,3, 53,9–37,9, 30,1–13,9 и 13,6–1,4%. Эти данные подтверждают целесообразность выделения отдельных фракций эритроцитов (Ф30, Ф45, Ф60, Ф90 и Ф120) по их осмотической устойчивости.

Таблица 1. Число ( $M \pm m$ ) негемолизированных эритроцитов капиллярной крови небеременных женщин до (абсолютный контроль, АК) и после их 30–120-секундной экспозиции в дистиллированной воде (ДВ) с 2,5 мМ  $\text{CaCl}_2$  (экспозиционный контроль, ЭК) или в ДВ совместно с 2,5 мМ  $\text{CaCl}_2$  и блокаторами адrenoрецепторов (опыт,  $O_{\text{блок}}$ )

Длительность экспозиции, с	Число эритроцитов					
	АК	ЭК		$O_{\text{блок}}$		
	в 1 л ( $\times 10^{12}$ )	ДВ+2,5 мМ $\text{CaCl}_2$		ДВ+2,5 мМ $\text{CaCl}_2$ + блокатор		
		в 1 л ( $\times 10^{12}$ )	в % к АК	в 1 л ( $\times 10^{12}$ )	в % к АК	в % к ЭК <sub>i</sub>
<i>Ницерголин, <math>10^{-6}</math> г/мл, n = 12</i>						
30	3,99 ± 0,16	3,37 ± 0,14*	84,6 ± 2,9*	3,60 ± 0,17*	90,5 ± 3,0*	108,1 ± 3,9
45	3,99 ± 0,16	2,74 ± 0,10*	69,5 ± 3,5*	2,81 ± 0,14*	70,9 ± 3,4*	103,7 ± 5,9
60	3,99 ± 0,16	2,15 ± 0,12*	53,9 ± 2,1*	2,34 ± 0,10*	58,8 ± 3,9*	107,3 ± 6,8
90	3,99 ± 0,16	1,22 ± 0,14*	30,1 ± 2,6*	1,29 ± 0,21*	31,7 ± 4,6*	95,8 ± 14,5
120	3,99 ± 0,16	0,55 ± 0,07*	13,6 ± 1,6*	0,95 ± 0,36*	23,4 ± 8,1*	92,5 ± 16,8
<i>Ницерголин, <math>10^{-8}</math> г/мл, n = 8</i>						
30	4,59 ± 0,21	3,23 ± 0,20*	70,5 ± 3,7*	2,77 ± 0,31*	60,2 ± 6,1*	87,6 ± 10,5
60	4,34 ± 0,32	1,98 ± 0,16*	49,7 ± 6,1*	2,32 ± 0,31*	60,7 ± 10,4*	115,6 ± 12,2
<i>Ницерголин, <math>10^{-6}</math> г/мл + атенолол, <math>10^{-6}</math> г/мл, n = 10</i>						
30	4,01 ± 0,20	2,64 ± 0,13*	66,8 ± 4,2*	2,54 ± 0,22*	64,0 ± 5,1*	99,4 ± 7,4
45	4,01 ± 0,20	2,19 ± 0,14*	56,3 ± 4,6*	2,16 ± 0,17*	54,8 ± 4,6*	97,2 ± 3,3
60	4,01 ± 0,20	1,73 ± 0,10*	43,4 ± 2,9*	1,90 ± 0,17*	47,6 ± 3,9*	107,9 ± 6,3
90	4,01 ± 0,20	0,94 ± 0,12*	23,8 ± 3,2*	0,94 ± 0,22*	23,5 ± 4,9*	105,2 ± 16,9
120	4,01 ± 0,20	0,48 ± 0,10*	12,1 ± 2,1*	0,59 ± 0,12*	14,2 ± 2,5*	119,2 ± 14,2
<i>Атенолол, <math>10^{-8}</math> г/мл, n = 8</i>						
30	4,59 ± 0,21	3,23 ± 0,20*	70,5 ± 3,7*	2,97 ± 0,42*	64,0 ± 7,9*	93,9 ± 14,2
60	4,34 ± 0,32	1,98 ± 0,16*	49,7 ± 6,1*	2,53 ± 0,47*	56,7 ± 10,6*	127,2 ± 22,4
<i>Обзидан, <math>10^{-5}</math> г/мл, n = 10</i>						
30	4,12 ± 0,26	3,03 ± 0,14*	74,8 ± 4,0*	2,90 ± 0,11*	72,4 ± 4,3*	100,7 ± 2,8
45	4,12 ± 0,26	2,57 ± 0,18*	63,6 ± 4,7*	2,52 ± 0,16*	62,6 ± 4,7*	94,7 ± 3,2
60	4,12 ± 0,26	1,88 ± 0,22*	46,2 ± 5,1*	2,01 ± 0,19*	47,7 ± 4,3*	111,8 ± 9,9
90	4,12 ± 0,26	0,89 ± 0,23*	21,1 ± 5,0*	1,01 ± 0,24*	24,7 ± 6,1*	120,2 ± 24,5
120	4,12 ± 0,26	0,51 ± 0,18*	11,8 ± 4,0*	0,55 ± 0,19*	13,4 ± 4,4*	83,0 ± 15,9
<i>Обзидан, <math>10^{-8}</math> г/мл, n = 8</i>						
30	4,59 ± 0,21	3,23 ± 0,20*	70,5 ± 3,7*	2,79 ± 0,33*	60,0 ± 5,5*	89,0 ± 11,4
60	4,34 ± 0,32	1,98 ± 0,16*	49,7 ± 6,1*	2,66 ± 0,39*	60,4 ± 8,9*	137,7 ± 20,2

\* Различие с АК достоверно ( $p < 0,05$ ) по критерию Манна—Уитни. Все различия  $O_{\text{блок}}$  с ЭК носят недостоверный характер ( $p > 0,05$ ) по критерию Манна—Уитни.

Таблица 2. Число ( $M \pm m$ ) негемолизированных эритроцитов капиллярной крови небеременных женщин до (абсолютный контроль, АК) и после их 30–120-секундной экспозиции (фракции Ф30, Ф45, Ф60, Ф90 и Ф120) в дистиллированной воде (ДВ) с 2,5 мМ CaCl<sub>2</sub> (экспозиционный контроль, ЭК) или в ДВ совместно с адренергическими веществами (O<sub>адр.+в.во</sub>), включая адреналин (10<sup>-6</sup> г/мл, Адр), ницеголин (10<sup>-6</sup> г/мл, Ниц), атенолол (10<sup>-6</sup> г/мл, Ат) и обзидан (10<sup>-5</sup> г/мл, Обз)

Адренергическое вещество	Число эритроцитов					
	АК	ЭК		O <sub>адр.+в.во</sub>		
	в 1 л ( $\times 10^{12}$ )	ДВ + 2,5 мМ CaCl <sub>2</sub>		ДВ + 2,5 мМ CaCl <sub>2</sub> + адренергическое вещество		
		в 1 л ( $\times 10^{12}$ )	в % к АК	в 1 л ( $\times 10^{12}$ )	в % к АК	в % к ЭК <sub>i</sub>
<i>30-секундная экспозиция (Ф30), n = 10<sup>▲</sup></i>						
Адр	3,84 ± 0,12	2,96 ± 0,23*	77,8 ± 7,0*	2,91 ± 0,26*	78,2 ± 7,5*	99,4 ± 6,5
Адр + Ниц	4,28 ± 0,10	3,44 ± 0,13*	80,2 ± 3,0*	3,19 ± 0,16*	74,6 ± 3,9*	92,7 ± 2,3
Адр + Ниц + Ат	3,83 ± 0,14	2,69 ± 0,9*	70,9 ± 3,4*	2,30 ± 0,17*	59,4 ± 4,0*#	86,3 ± 5,8#
Адр + Обз	4,05 ± 0,25	2,97 ± 0,16*	76,0 ± 6,0*	3,35 ± 0,22*	84,7 ± 6,6*#	113,2 ± 6,5#
<i>45-секундная экспозиция (Ф45), n = 10<sup>▲</sup></i>						
Адр	3,84 ± 0,12	2,12 ± 0,18*	56,1 ± 5,8*	2,32 ± 0,32*	62,7 ± 10,1*	111,8 ± 15,8
Адр + Ниц	4,28 ± 0,10	2,55 ± 0,18*	60,0 ± 4,9*	2,38 ± 0,17*	56,0 ± 4,4*	94,9 ± 2,6
Адр + Ниц + Ат	3,83 ± 0,14	2,12 ± 0,16*	56,3 ± 5,1*	1,65 ± 0,15*	43,4 ± 3,7*	77,8 ± 6,2#
Адр + Обз	4,05 ± 0,25	2,36 ± 0,20*	58,7 ± 4,9*	2,76 ± 0,24*	69,9 ± 8,1*#	121,4 ± 10,5#
<i>60-секундная экспозиция (Ф60), n = 10<sup>▲</sup></i>						
Адр	3,84 ± 0,12	1,60 ± 0,23*	41,9 ± 6,4*	1,94 ± 0,31*	53,1 ± 9,6*	119,0 ± 11,4
Адр + Ниц	4,28 ± 0,10	2,03 ± 0,13*	47,8 ± 3,9*	1,81 ± 0,15*	42,4 ± 3,9*	89,1 ± 4,1#
Адр + Ниц + Ат	3,83 ± 0,14	1,45 ± 0,15*	37,9 ± 3,9*	1,42 ± 0,17*	36,9 ± 3,7*	92,0 ± 5,5
Адр + Обз	4,05 ± 0,25	1,94 ± 0,18*	48,4 ± 4,4*	2,37 ± 0,23*	59,6 ± 5,8*#	122,0 ± 7,1#
<i>90-секундная экспозиция (Ф90), n = 10<sup>▲</sup></i>						
Адр	3,84 ± 0,12	0,53 ± 0,12*	13,9 ± 3,4*	1,19 ± 0,30*	32,2 ± 8,9*	125,2 ± 8,5#
Адр + Ниц	4,28 ± 0,10	8,9 ± 0,20*	21,1 ± 4,8*	0,79 ± 0,15*	18,8 ± 3,8*	95,7 ± 4,4
Адр + Ниц + Ат	3,83 ± 0,14	0,74 ± 0,16*	18,6 ± 3,9*	0,46 ± 0,09*	18,4 ± 6,7*	69,2 ± 6,5* <sup>▲</sup>
Адр + Обз	4,05 ± 0,25	0,88 ± 0,16*	22,1 ± 4,5*	1,08 ± 0,23*	26,8 ± 6,3*	126,6 ± 13,8
<i>120-секундная экспозиция (Ф120), n = 10<sup>▲</sup></i>						
Адр	3,84 ± 0,12	0,05 ± 0,02*	1,4 ± 0,4*	0,13 ± 0,07*	3,6 ± 2,4*	223,0 ± 128,7
Адр + Ниц	4,28 ± 0,10	5,2 ± 0,16*	12,1 ± 3,7*	0,49 ± 0,18*	11,7 ± 4,3*	101,2 ± 9,3
Адр + Ниц + Ат	3,83 ± 0,14	0,31 ± 0,11*	7,9 ± 2,9*	0,16 ± 0,06*	4,3 ± 1,5*#	44,4 ± 7,0#
Адр + Обз	4,05 ± 0,25	0,48 ± 0,12*	12,0 ± 3,4*	0,57 ± 0,18*	14,0 ± 4,9*	113,3 ± 13,3

Примечание. <sup>▲</sup> — в опытах с обзиданом n=9; символы \*, # и <sup>▲</sup> означают, что различие с АК (\*), ЭК (#) или адреналином (<sup>▲</sup>) достоверно ( $p < 0,05$ ) по критерию Манна—Уитни.

Таблица 3. Число ( $M \pm m$ ) негемолизированных эритроцитов капиллярной крови небеременных женщин до (абсолютный контроль, АК) и после их 30- и 60-секундной экспозиции (фракции Ф30 и Ф60) в дистиллированной воде (ДВ) с 2,5 мМ CaCl<sub>2</sub> (экспозиционный контроль, ЭК) или в ДВ совместно с адренергическими веществами ( $O_{\text{адр+в-во}}$ ), включая адреналин ( $10^{-6}$  г/мл, Адр), ницерголин ( $10^{-8}$  г/мл, Ниц), атенолол ( $10^{-8}$  г/мл, Ат) и обзидан ( $10^{-8}$  г/мл, Обз)

Адренергическое вещество	Число опытов, n	Число эритроцитов					
		АК	ЭК		$O_{\text{адр в-во}}$		
		в 1 л ( $\times 10^{12}$ )	ДВ + 2,5 мМ CaCl <sub>2</sub>		ДВ + 2,5 мМ CaCl <sub>2</sub> + адренергическое вещество		
			в 1 л ( $\times 10^{12}$ )	в % к АК	в 1 л ( $\times 10^{12}$ )	в % к АК	в % к ЭК <sub>i</sub>
<i>30-секундная экспозиция (Ф30)</i>							
Адр	8	4,59 ± 0,21	3,23 ± 0,20*	70,5 ± 3,7*	3,56 ± 0,22*	78,8 ± 6,1*	112,6 ± 8,8
Адр + Ниц	8	4,59 ± 0,21	3,23 ± 0,20*	70,5 ± 3,7*	2,83 ± 0,23*	63,6 ± 3,9*	85,3 ± 6,2# <sup>A</sup>
Адр + Ат	8	4,59 ± 0,21	3,23 ± 0,20*	70,5 ± 3,7*	3,11 ± 0,31*	67,8 ± 5,9*	99,2 ± 11,7
Адр + Обз	8	4,59 ± 0,21	3,23 ± 0,20*	70,5 ± 3,7*	3,42 ± 0,36	74,7 ± 7,0*	107,3 ± 10,7
<i>60-секундная экспозиция (Ф60)</i>							
Адр	8	4,34 ± 0,32	1,98 ± 0,16*	49,7 ± 6,1*	3,18 ± 0,32*	74,8 ± 8,6*#	149,7 ± 13,5#
Адр + Ниц	7	4,34 ± 0,32	1,98 ± 0,16*	49,7 ± 6,1*	2,27 ± 0,42*	53,7 ± 12,1*	111,6 ± 12,3
Адр + Ат	9	4,34 ± 0,32	1,98 ± 0,16*	49,7 ± 6,1*	2,26 ± 0,30*	53,0 ± 8,6*	115,9 ± 13,5
Адр + Обз	7	4,34 ± 0,32	1,98 ± 0,16*	49,7 ± 6,1*	2,49 ± 0,47*	46,4 ± 4,6*	133,1 ± 28,8

Примечание. \*, # и <sup>A</sup> означают, что различие с АК (\*), ЭК (#) или адреналином (<sup>A</sup>) достоверно ( $p < 0,05$ ) по критерию Манна—Уитни.

Адреналин, как показано в серии 2 (см. табл. 2), в концентрации  $10^{-6}$  г/мл не влиял на ОРЭ фракций Ф30, Ф45, Ф60 и Ф120 небеременных женщин (ЧНЭ в присутствии адреналина, т. е. показатель  $O_{\text{адр}}$  для этих фракций составил соответственно 99,4, 111,8, 119,0 и 223,0% от ЭК<sub>i</sub>). Однако адреналин достоверно ( $p < 0,05$ ) повышал ОРЭ фракции Ф90 (показатель  $O_{\text{адр}}$  составил 125,2% от ЭК<sub>90</sub>). В серии 3 (см табл. 3) адреналин в концентрации  $10^{-6}$  г/мл не влиял на ОРЭ фракции Ф30 (показатель  $O_{\text{адр}} = 112,6\%$  от ЭК<sub>30</sub>), но повышал ОРЭ фракции Ф60 (показатель  $O_{\text{адр}} = 149,7\%$  от ЭК<sub>60</sub>). В серии 4 (см. табл. 4), в которой исследовали влияние пяти концентраций адреналина ( $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$  и  $10^{-6}$  г/мл) на ОРЭ фракции Ф45, показано, что адреналин не оказывал достоверного влияния на ОРЭ женщин в лютеиновой фазе цикла (показатель  $O_{\text{адр}}$  составил соответственно 94,3, 91,9, 90,5, 90,4 и 96,7% от ЭК<sub>45</sub>). А в концентрациях  $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$  и  $10^{-8}$  г/мл достоверно снижал ОРЭ женщин в фолликулярной фазе цикла (показатель  $O_{\text{адр}}$  составил соответственно 84,4, 87,2, 87,9, 91,5 и 98,9% от ЭК<sub>45</sub>).

Таким образом, влияние адреналина на ОРЭ зависит от концентрации адреналина, фракции эритроцитов и уровня половых гормонов. Нам удалось обнаружить способность адреналина повышать ОРЭ в концентрации  $10^{-6}$  г/мл у фракций Ф60 и Ф90 (без учета фазы цикла) или, наоборот, снижать ее, что отмечено для концентраций  $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$  и  $10^{-8}$  г/мл в отношении эритроцитов фракции Ф45 женщин в фолликулярной фазе цикла.

Таблица 4. Число ( $M \pm m$ ) негемолизированных эритроцитов капиллярной крови небеременных женщин, находящихся в фолликулярной или лютеиновой фазе цикла, до (абсолютный контроль, АК) и после их 45-секундной экспозиции (фракция Ф45) в дистиллированной воде (ДВ) с 2,5 мМ  $\text{CaCl}_2$  (экспозиционный контроль, ЭК) или в ДВ совместно с адренергическими веществами ( $\text{O}_{\text{адр+в-во}}$ ), включая адреналин ( $10^{-10}$ – $10^{-6}$  г/мл, Адр), ницерголин ( $10^{-6}$  г/мл, Ниц) и атенолол ( $10^{-6}$  г/мл, Ат)

Концентрация адреналина, г/мл	Адренергическое вещество	Число опытов, n	Число эритроцитов				
			ЭК		$\text{O}_{\text{адр+в-во}}$		
			ДВ + 2,5 мМ $\text{CaCl}_2$		ДВ + 2,5 мМ $\text{CaCl}_2$ + адренергическое вещество		
			в 1 л ( $\times 10^{12}$ )	в % к АК	в 1 л ( $\times 10^{12}$ )	в % к АК	в % к ЭК <sub>i</sub>
<i>Фолликулярная фаза, АК = <math>4,04 \pm 0,19 \times 10^{12}</math></i>							
$10^{-10}$	Адр	11	2,66 ± 0,11*	67,1 ± 3,4*	2,27 ± 0,18*	56,7 ± 4,5*	84,4 ± 4,8#
	Адр+ Ниц+Ат		2,66 ± 0,11*	67,1 ± 3,4*	2,28 ± 0,15*	57,9 ± 4,5*#	85,9 ± 5,1#
$10^{-9}$	Адр	11	2,66 ± 0,11*	67,1 ± 3,4*	2,33 ± 0,16*	58,9 ± 4,8*	87,2 ± 4,9#
	Адр+ Ниц+Ат		2,66 ± 0,11*	67,1 ± 3,4*	2,15 ± 0,21*	55,3 ± 6,3*	82,4 ± 9,3
$10^{-8}$	Адр	11	2,66 ± 0,11*	67,1 ± 3,4*	2,32 ± 0,11*	58,4 ± 3,2*	87,9 ± 4,0#
	Адр+ Ниц+Ат		2,66 ± 0,11*	67,1 ± 3,4*	2,13 ± 0,12*	53,4 ± 3,4*#	80,9 ± 4,9#
$10^{-7}$	Адр	11	2,66 ± 0,11*	67,1 ± 3,4*	2,41 ± 0,10*	60,6 ± 3,4*	91,5 ± 4,5
	Адр+ Ниц+Ат		2,66 ± 0,11*	67,1 ± 3,4*	2,29 ± 0,13*	57,8 ± 4,2*	87,8 ± 6,5
$10^{-6}$	Адр	11	2,66 ± 0,11*	67,1 ± 3,4*	2,60 ± 0,24*	64,9 ± 5,4*	98,9 ± 9,5
	Адр+ Ниц+Ат		2,66 ± 0,11*	67,1 ± 3,4*	2,16 ± 0,17*	55,2 ± 5,7*#	81,8 ± 6,5#
<i>Лютеиновая фаза, АК = <math>4,12 \pm 0,18 \times 10^{12}</math></i>							
$10^{-10}$	Адр	10	2,85 ± 0,15*	70,3 ± 3,9*	2,65 ± 0,21*	64,5 ± 4,4*	94,3 ± 7,8
	Адр+ Ниц+Ат		2,85 ± 0,15*	70,3 ± 3,9*	2,48 ± 0,19*	61,7 ± 5,3*#	87,6 ± 4,6#
$10^{-9}$	Адр	10	2,85 ± 0,15*	70,3 ± 3,9*	2,59 ± 0,19*	64,3 ± 5,5*	91,9 ± 5,9
	Адр+ Ниц+Ат		2,85 ± 0,15*	70,3 ± 3,9*	2,43 ± 0,22*	60,6 ± 6,05*	85,2 ± 5,3#
$10^{-8}$	Адр	10	2,85 ± 0,15*	70,3 ± 3,9*	2,57 ± 0,23*	63,9 ± 6,2*	90,5 ± 5,6
	Адр+ Ниц+Ат		2,85 ± 0,15*	70,3 ± 3,9*	2,78 ± 0,25*	68,6 ± 6,4*	97,9 ± 6,8
$10^{-7}$	Адр	10	2,85 ± 0,15*	70,3 ± 3,9*	2,57 ± 0,26*	63,4 ± 6,8*	90,4 ± 7,7
	Адр+ Ниц+Ат		2,85 ± 0,15*	70,3 ± 3,9*	2,48 ± 0,21*	61,4 ± 5,3*	86,7 ± 4,5#
$10^{-6}$	Адр	10	2,85 ± 0,15*	70,3 ± 3,9*	2,70 ± 0,22*	64,6 ± 6,2*	96,7 ± 8,7
	Адр+ Ниц+Ат		2,85 ± 0,15*	70,3 ± 3,9*	2,32 ± 0,21*	56,7 ± 4,7*#	82,1 ± 7,2#

Примечание. Символы \*, # и <sup>^</sup> означают что различие с АК (\*), ЭК (#) и адреналином (<sup>^</sup>) достоверно ( $p < 0,05$ ) по критерию Манна—Уитни. Различия между фазами цикла носят недостоверный характер ( $p > 0,05$ ) по критерию Манна—Уитни.

**Исследование влияния адреноблокаторов на ОРЭ.** Как показано в серии 1 (см. табл. 1), неселективный блокатор  $\beta$ -АР пропранолол, или обзидан ( $10^{-8}$  и  $10^{-5}$  г/мл), селективный блокатор  $\beta_1$ -АР атенолол ( $10^{-8}$  г/мл), неселективный блокатор  $\alpha$ -АР ницерголин ( $10^{-8}$  и  $10^{-6}$  г/мл), а также смесь ницерголина и атенолола (оба в концентрации  $10^{-6}$  г/мл) не оказывают достоверного влияния на ОР различных фракций эритроцитов небеременных женщин. Так, при действии обзидана в концентрации  $10^{-5}$  г/мл на эритроциты пяти фракций (Ф30, Ф45, Ф60, Ф90 и Ф120) число негемолизированных эритроцитов, т.е. показатель  $O_{\text{блок}}$  составил соответственно 100,7, 94,7, 111,8, 120,2 и 83,0% от  $ЭК_3$ , а при действии смеси ницерголина и атенолола (оба в концентрации  $10^{-6}$  г/мл), показатель  $O_{\text{блок}}$  составил соответственно 99,4, 97,2, 107,9, 105,2 и 119,2% от  $ЭК_i$  (все указанные различия носят недостоверный характер по критерию Манна—Уитни,  $p > 0,05$ ).

Таким образом, наши данные не подтвердили представление многих авторов о способности обзидана повышать ОРЭ [7] и одновременно показали, что и другие адреноблокаторы, т.е. ницерголин и атенолол, по отдельности и в смеси не влияют на ОРЭ всех фракций. Это позволило изучить способность адреналина влиять на ОРЭ на фоне блокады адренорецепторов.

**Влияние пропранолола (обзидана) на способность адреналина изменять ОРЭ.** Оно было исследовано в серии 2 (фракции Ф30—Ф120) и в серии 3 (фракции Ф30 и Ф60). В серии 2 показано, что адреналин ( $10^{-6}$  г/мл) при совместном действии с обзиданом ( $10^{-5}$  г/мл) достоверно ( $p < 0,05$ ) повышает ОРЭ фракций Ф30, Ф45 и Ф60. Так, в опытах с эритроцитами фракции Ф30 при воздействии адреналина ( $10^{-6}$  г/мл) показатель  $O_{\text{адр}}$  составил 99,4% от  $ЭК_{30}$ , а при воздействии адреналина совместно с обзиданом  $O_{\text{адр}}$  составил 113,2% от  $ЭК_{30}$ ; аналогично, для фракции Ф45 эти значения составили соответственно 111,8 и 121,4% от  $ЭК_{45}$ , а для фракции Ф60 — 119,0 и 122,0% от  $ЭК_{45}$ . Таким образом, одновременная блокада  $\beta_1$ -АР и  $\beta_2$ -АР увеличивает способность адреналина повышать ОРЭ.

В серии 3 в опытах с эритроцитами (фракции Ф30 и Ф60) показано, что обзидан при его использовании в более низкой концентрации ( $10^{-8}$  г/мл) не изменяет способности адреналина повышать ОРЭ. Так, в опытах с эритроцитами фракции Ф30 при воздействии адреналина ( $10^{-6}$  г/мл) показатель  $O_{\text{адр}}$  составил 112,6% от  $ЭК_{30}$ , а при его воздействии совместно с обзиданом ( $10^{-8}$  г/мл) — 107,3% от  $ЭК_{30}$ . Для фракции Ф60 эти значения составили соответственно 149,7 и 133,1% от  $ЭК_{60}$ .

**Влияние ницерголина на способность адреналина изменять ОРЭ.** Его оценивали в серии 2 (фракции Ф30—Ф120) и в серии 3 (фракции Ф30 и Ф60). В серии 2 в опытах с эритроцитами фракции Ф30 показано, что адреналин не влияет на их ОР при изолированном воздействии (показатель  $O_{\text{адр}} = 99,4\%$  от  $ЭК_{30}$ ) и при совместном с ницерголином воздействии ( $O_{\text{адр+ниц}} = 92,7\%$ ). Аналогичные данные получены в отношении эритроцитов фракции Ф45 и фракции Ф120. Для фракции Ф45 значения показателей  $O_{\text{адр}}$  и  $O_{\text{адр+ниц}}$  составили соответственно 111,8 и 94,9%, а для фракции Ф120 — 223,0 и 101,2%. В опытах с эритроцитами фракции Ф60 сам по себе адреналин не изменял ОРЭ ( $O_{\text{адр}} = 119,0\%$  от  $ЭК_{60}$ ), а при совместном воздействии с ницерголином достоверно снижал ее ( $O_{\text{адр+ниц}} = 89,1\%$ ). В опытах с эритроцитами фракции Ф90 сам по себе адреналин достоверно повышал ОРЭ ( $O_{\text{адр}} = 125,2\%$  от  $ЭК_{90}$ ), а при совместном воздействии с ницерголином он не влиял на ОРЭ ( $O_{\text{адр+ниц}} = 95,7\%$ ). Таким образом, результаты серии 2, полученные при исследовании ОРЭ фракций Ф60 и Ф90, указывают на то, что

блокада  $\alpha$ -АР эритроцитов ницерголином в концентрации  $10^{-6}$  г/мл на фоне интактных  $\beta_1$ -АР и  $\beta_2$ -АР уменьшает способность адреналина ( $10^{-6}$  г/мл) повышать ОРЭ. Косвенно это означает, что при активации  $\alpha$ -АР ОРЭ возрастает.

В серии 3 в опытах с эритроцитами фракций Ф30 и Ф60 ницерголин даже в более низкой концентрации ( $10^{-8}$  г/мл), чем в серии 2, усиливал способность адреналина снижать ОРЭ. Так, в опытах с эритроцитами фракции Ф30 адреналин ( $10^{-6}$  г/мл) не влиял на ОРЭ ( $O_{\text{адр}} = 112,6\%$  от ЭК<sub>30</sub>), а при совместном с ницерголином воздействии достоверно снижал ее ( $O_{\text{адр+ниц}} = 85,3\%$  от ЭК<sub>30</sub>). В опытах с эритроцитами фракции Ф60 адреналин достоверно повышал ОРЭ ( $O_{\text{адр}} = 149,7\%$  от ЭК<sub>60</sub>), а при совместном с ницерголином воздействии не влиял на нее ( $O_{\text{адр+ниц}} = 111,6\%$  от ЭК<sub>60</sub>). Все это подтверждает наш вывод о том, что активация  $\alpha$ -АР повышает ОРЭ.

**Влияние атенолола на способность адреналина изменять ОРЭ.** Его оценивали в серии 3 в опытах с эритроцитами фракций Ф30 и Ф60, используя атенолол лишь в низкой концентрации ( $10^{-8}$  г/мл). В опытах с эритроцитами фракции Ф30 установлено, что адреналин не менял ОРЭ ( $O_{\text{адр}} = 112,6\%$ ) ни самостоятельно, ни при совместном воздействии с атенололом ( $O_{\text{адр+блок}} = 99,2\%$ ). В опытах с эритроцитами фракции Ф60 сам по себе адреналин достоверно повышал ОРЭ ( $O_{\text{адр}} = 149,7\%$ ), а при совместном с атенололом воздействии не менял ее ( $O_{\text{адр+блок}} = 115,9\%$ ). Результаты опытов с эритроцитами фракции Ф60 позволяют сделать заключение, что блокада  $\beta_1$ -АР при интактных  $\alpha$ -АР и  $\beta_2$ -АР усиливает способность адреналина снижать ОРЭ. Это означает, что активация  $\beta_1$ -АР так же, как и активация  $\alpha$ -АР, повышает ОРЭ. С учетом наших данных, что обзидан увеличивает способность адреналина повышать ОРЭ, можно утверждать, что активация адреналином  $\beta_2$ -АР в отличие от активации  $\beta_1$ -АР и  $\alpha$ -АР снижает ОРЭ. Это предположение подтвердили результаты опытов по исследованию эффекта адреналина при его совместном воздействии с ницерголином и атенололом.

**Влияние смеси ницерголина и атенолола на способность адреналина изменять ОРЭ.** Его оценивали в серии 2 (фракции Ф30—Ф120) и в серии 4 (фракция Ф45), используя оба блокатора в концентрации  $10^{-6}$  г/мл. В серии 2 в опытах с эритроцитами фракций Ф30, Ф45, Ф60, Ф90 и Ф120 адреналин ( $10^{-6}$  г/мл) сам по себе не изменял ОР эритроцитов, за исключением фракции Ф90, где он повышал ее (показатель  $O_{\text{адр}}$  составил соответственно 99,4, 111,8, 119,0, 125,2 и 223,0% от ЭК<sub>1</sub>). Однако на фоне смеси ницерголина и атенолола, т. е. при блокаде  $\alpha$ -АР и  $\beta_1$ -АР, адреналин достоверно снижал ОР у эритроцитов фракций Ф30, Ф45, Ф90 и Ф120, но не повышал ОР у эритроцитов фракции Ф60 (показатель  $O_{\text{адр+блок}}$  для эритроцитов фракций Ф30—Ф120 составил соответственно 86,3, 77,8, 92,0, 69,2<sup>А</sup> и 44,4%). При этом в отношении эритроцитов фракции Ф90 выявлено достоверное различие (<sup>А</sup>) с эффектом адреналина. Таким образом, результаты опытов с эритроцитами фракций Ф30, Ф45, Ф90 и Ф120 указывают на то, что блокада  $\alpha$ -АР и  $\beta_1$ -АР при интактных  $\beta_2$ -АР способствует снижению ОРЭ под влиянием адреналина. Это подтверждает наш вывод о том, что при активации адреналином  $\alpha$ -АР и  $\beta_1$ -АР происходит рост ОРЭ, а при активации  $\beta_2$ -АР — ее снижение.

В серии 4 в опытах с эритроцитами фракции Ф45 было исследовано влияние пяти концентраций адреналина ( $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$  и  $10^{-6}$  г/мл), в том числе на фоне блокады  $\alpha$ -АР и  $\beta_1$ -АР ницерголином и атенололом на их ОР. Часть женщин находилась в фолликулярной фазе цикла, а часть — в лютеиновой.

В опытах с эритроцитами женщин в фолликулярной фазе адреналин достоверно снижал ОРЭ в концентрациях  $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$  и  $10^{-8}$  г/мл и не влиял на ОРЭ в концентрациях

$10^{-7}$  и  $10^{-6}$  г/мл (показатель  $O_{\text{адр}}$  составил соответственно 84,4, 87,2, 87,9, 91,5 и 98,9% от  $ЭК_{45}$ ). На фоне смеси ницерголина и атенолола адреналин также достоверно снижал ОРЭ в концентрациях  $10^{-10}$  г/мл ( $O_{\text{адр+блок}} = 85,9\%$ ) и в  $10^{-8}$  г/мл ( $O_{\text{адр+блок}} = 80,9\%$ ), не влияя на ОРЭ в концентрациях  $10^{-9}$  г/мл ( $O_{\text{адр+блок}} = 82,4\%$ ) и  $10^{-7}$  г/мл ( $O_{\text{адр+блок}} = 87,8\%$ ), но достоверно снижал ОРЭ в концентрации  $10^{-6}$  г/мл ( $O_{\text{адр+блок}} = 81,8\%$ ). Таким образом, данные, полученные в опытах с эритроцитами фракций Ф45 при использовании адреналина в концентрации  $10^{-6}$  г/мл также говорят о том, что блокада  $\alpha$ -АР и  $\beta_1$ -АР на фоне интактных  $\beta_2$ -АР усиливает способность адреналина снижать ОРЭ.

В опытах с эритроцитами женщин, находящихся в лютеиновой фазе цикла, сам по себе адреналин во всех исследованных концентрациях ( $10^{-10}$ – $10^{-6}$  г/мл) не влиял достоверно на ОРЭ (показатель  $O_{\text{адр}}$  составил соответственно 94,3, 91,9, 90,5, 90,4 и 96,7% от  $ЭК_{45}$ ). В тоже время на фоне смеси ницерголина и атенолола адреналин достоверно снижал ОРЭ во всех концентрациях, кроме концентрации, равной  $10^{-8}$  г/мл (показатель  $O_{\text{адр+блок}}$  для адреналина в концентрациях  $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$  и  $10^{-6}$  г/мл составил соответственно 87,6, 85,2, 97,9, 86,7 и 82,1%). Таким образом, опыты с эритроцитами фракции Ф45 при использовании адреналина в концентрациях  $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-7}$  и  $10^{-6}$  г/мл также указывают на то, что блокада  $\alpha$ -АР и  $\beta_1$ -АР на фоне интактных  $\beta_2$ -АР повышает способность адреналина снижать ОРЭ. Кроме того, результаты исследований позволяют предположить, что различия между женщинами, находящимися в разных фазах цикла, в отношении изменения ОРЭ под влиянием адреналина, скорее всего, связаны с тем, что половые гормоны меняют эффективность активации  $\alpha$ -АР и  $\beta$ -АР.

### Обсуждение результатов исследования

Нами установлено, что исходно число эритроцитов у женщин варьировало от 3,83 до  $4,59 \times 10^{12}$  в 1 л крови. Это соответствует данным литературы [16] и косвенно указывает на то, что в работе были использованы эритроциты здоровых женщин.

Нами установлено, что эритроциты, помещенные в ДВ, проявляют разную осмотическую резистентность, т.е. различаются между собой по способности мембраны выдерживать внутриклеточное давление, создаваемое входящей в клетку водой. На этом основании предлагаем условно говорить, как минимум, о пяти фракциях эритроцитов (Ф30, Ф45, Ф60, Ф90 и Ф120). С учетом данных литературы о том, что ОРЭ уменьшается по мере их старения [17, 18], полагаем, что фракция Ф120, обладающая максимальной ОР — это самые «молодые» эритроциты, т.е. только что покинувшие костный мозг, а фракция Ф30, обладающая самой низкой ОР, — это самые «старые» эритроциты. Можно думать, что предложенный нами метод оценки ОРЭ, позволяющий количественно характеризовать основные фракции эритроцитов, одновременно является простым и надежным способом характеристики длительности циркуляции эритроцитов у конкретного исследуемого. Наша гипотеза о наличии различных фракций эритроцитов базируется на представлении о том, что мембрана эритроцитов содержит аквапорины типа АQP0, АQP1 и АQP3, обеспечивающие транспорт воды из среды в эритроцит и обратно [19]. Это означает, что число аквапоринов, содержащихся в поверхностной мембране эритроцита, должно определять скорость гемолиза эритроцитов в гипотонической среде. С этих позиций мы предполагаем, что по мере старения эритроцита в нем возрастает число аквапоринов, что ускоряет транспорт воды в эритроцит, т.е. снижает ОРЭ. В то же время не исключаем, что в процессе

«старения» эритроцитов помимо роста числа аквапоринов одновременно снижается и прочность поверхностной мембраны, т. е. способность выдерживать натяжение под влиянием входящей в эритроцит воды, что также проявляется в снижении ОРЭ.

Нами подтверждены данные литературы о способности адреналина изменять ОРЭ небеременных женщин — либо повышать ОРЭ [6, 11], либо снижать [4, 9, 11]. Очевидно, что эта способность связана с тем, что под влиянием адреналина или меняется число аквапоринов на мембране эритроцитов (за счет их транслокации из цитозоля в мембрану, или из мембраны в цитозоль), или меняется прочность поверхностной мембраны эритроцитов, т. е. ее устойчивость к растяжению. Каков конкретный механизм этого влияния — пока неясно. Но в любом случае можно утверждать, что способность адреналина изменять ОРЭ зависит от его взаимодействия с адренорецепторами эритроцитарной мембраны. Прежде всего, об этом говорят впервые установленные нами данные о том, что характер влияния адреналина на ОРЭ зависит от его концентрации в среде, фракции эритроцитов и уровня в крови половых гормонов. В частности, о значении концентрации адреналина данные авторов настоящей статьи говорят о том, что в опытах с эритроцитами фракции Ф45 небеременных женщин (фолликулярная фаза цикла) адреналин в концентрациях  $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$  и  $10^{-8}$  г/мл снижает ОРЭ, а в концентрациях  $10^{-7}$  и  $10^{-6}$  г/мл — не влияет на нее. О значении фракций свидетельствует тот факт, что адреналин в одной и той же концентрации ( $10^{-6}$  г/мл) повышает ОРЭ фракций Ф60 и Ф90, снижает ОРЭ фракции Ф45 и не влияет на ОРЭ фракции Ф120. О влиянии половых гормонов на эффект адреналина свидетельствуют полученные данные о том, что адреналин в концентрациях  $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$  г/мл и  $10^{-8}$  г/мл не влияет на ОР фракции Ф45 женщин в лютеиновой фазе цикла, но снижает ОР этой же фракции, полученной от женщин в фолликулярной фазе. Наличие зависимости эффекта адреналина от его концентрации, фракции эритроцитов и уровня половых гормонов мы объясняем тем, что конечный эффект адреналина зависит от имеющихся на мембране эритроцитов адренорецепторов. Очевидно, что именно эффективность активации этих рецепторов и/или их число зависит от фракции эритроцитов и уровня половых гормонов. Доказательством участия АР в эффекте адреналина являются наши данные о влиянии адreno-блокаторов на эффект адреналина.

Как известно, эритроциты содержат  $\alpha_1$ -АР,  $\alpha_2$ -АР,  $\beta_1$ -АР,  $\beta_2$ -АР и  $\beta_3$ -АР [1]. Наиболее вероятно, что при активации одних из них ОРЭ возрастает, а при активации других — снижается. Результаты экспериментов с адreno-блокаторами подтверждают это представление и позволяют его уточнить. В частности, мы полагаем, что при активации  $\alpha$ -АР и  $\beta_1$ -АР ОРЭ возрастает, а при активации  $\beta_2$ -АР она снижается. Этот вывод вытекает из результатов исследования влияния адreno-блокаторов на эффект адреналина. Прежде всего, установлено, что сами по себе адreno-блокаторы, в том числе обзидан ( $10^{-8}$  и  $10^{-5}$  г/мл), ницерголин ( $10^{-8}$  и  $10^{-6}$  г/мл), атенолол ( $10^{-8}$  г/мл), а также смесь ницерголина и атенолола (оба в концентрации  $10^{-6}$  г/мл) не влияют на ОРЭ всех исследованных нами фракций эритроцитов (Ф30—Ф120) небеременных женщин. Это позволяет использовать их при исследовании вопроса о роли  $\alpha$ -АР,  $\beta_1$ -АР и  $\beta_2$ -АР в эффектах адреналина.

Здесь необходимо отметить, что в литературе давно уже обсуждается вопрос о способности пропранолола (обзидана) повышать ОРЭ [4, 7, 20]. Этот эффект пропранолола объясняется авторами его способностью оказывать мембраностабилизирующее действие. В частности, считается [20], что она обусловлена тем, что пропрано-

лол (в отличие от адреналина) уменьшает жидкость мембраны эритроцита и по этой причине уменьшает проницаемость воды, тем самым повышает ОРЭ. Почему же в наших исследованиях пропранолол не проявлял мембраностабилизирующую активность, т. е. не повышал ОРЭ? Не исключаем, что это связано с тем, что в наших исследованиях ОРЭ оценивалась по количеству эритроцитов, оставшихся негемолизированными после их экспозиции в ДВ, в то время как цитируемые выше авторы определяли ОРЭ по уровню гемоглобина, выходящего из эритроцитов при их экспозиции в гипотонической среде. Но как показали наши предварительные данные, процесс гемолиза эритроцитов и выход из них гемоглобина в гипотонической среде — это разные по скорости процессы. В целом, считаем, что наш вывод о том, что обзидан, как и другие адrenoблокаторы, не влияет на ОРЭ, вполне обоснован в связи с тем эти адренергические средства были использованы при исследовании роли АР в эффектах адреналина.

Показано, что блокада  $\beta_1$ -АР и  $\beta_2$ -АР обзиданом ( $10^{-5}$  г/мл) при интактных  $\alpha$ -АР увеличивает способность адреналина ( $10^{-6}$  г/мл) повышать ОРЭ (установлено в опытах с эритроцитами фракций Ф30, Ф45 и Ф60). В то же время блокада  $\beta_1$ -АР атенололом ( $10^{-8}$  г/мл) при интактных  $\beta_2$ -АР и  $\alpha$ -АР усиливает способность адреналина ( $10^{-6}$  г/мл) снижать ОРЭ. Это установлено в опытах с эритроцитами фракции Ф60. В целом эти данные позволяют утверждать, что адреналин, активируя  $\beta_1$ -АР, повышает ОРЭ, а, активируя  $\beta_2$ -АР, наоборот, снижает ее. Блокада  $\alpha$ -АР ницерголином в концентрациях  $10^{-8}$  г/мл (опыты с эритроцитами фракций Ф30 и Ф60) и  $10^{-6}$  г/мл (опыты с эритроцитами фракций Ф60 и Ф90) на фоне интактных  $\beta_1$ -АР и  $\beta_2$ -АР уменьшает способность адреналина ( $10^{-6}$  г/мл) повышать ОРЭ. Это означает, что адреналин, активируя  $\alpha$ -АР, повышает ОРЭ. Одновременная блокада  $\alpha$ -АР (ницерголином) и  $\beta_1$ -АР (атенололом) на фоне интактных  $\beta_2$ -АР также уменьшает способность адреналина повышать ОРЭ. Это установлено в опытах с эритроцитами фракций Ф30, Ф45, Ф90 и Ф120 (при воздействии адреналина в концентрации  $10^{-6}$  г/мл), в опытах с эритроцитами фракции Ф45, полученных от женщин в фолликулярной фазе цикла (при воздействии адреналина в концентрации  $10^{-6}$  г/мл) или от женщин в лютеиновой фазе (при воздействии адреналина в концентрациях  $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  г/мл). Эти данные позволяют утверждать, что при активации  $\beta_2$ -АР ОРЭ снижается, в то время как при активации  $\beta_1$ -АР и, особенно, при активации  $\alpha$ -АР ОРЭ возрастает. Как известно, популяция  $\alpha$ -АР неоднородна — она представлена  $\alpha_1$ -АР и  $\alpha_2$ -АР. Однозначность результатов исследования, полученных нами в опытах с ницерголином, позволяет предположить, что повышение ОРЭ происходит при активации и  $\alpha_1$ -АР, и  $\alpha_2$ -АР. Однако для доказательства этого предположения, конечно, необходимы дополнительные исследования с использованием селективных блокаторов  $\alpha_1$ -АР и  $\alpha_2$ -АР.

Что происходит при активации  $\alpha$ -АР и  $\beta_1$ -АР, в результате которой возрастает ОРЭ? Полагаем, что при этом снижается число аквапоринов в мембране (за счет их перехода в цитозоль) и, возможно, повышается жидкость мембраны, т. е. ее способность выдерживать напряжение, создаваемое входящей в эритроцит водой. Очевидно, что при активации  $\beta_2$ -АР, в результате которой ОРЭ снижается, происходят противоположные процессы.

Отметим, что попытка исследовать роль  $\alpha$ -АР и  $\beta$ -АР в изменении ОР эритроцитов, помещенных в гипотонический (0,40%) раствор NaCl, под влиянием адреналина была предпринята ранее А. П. Бабиным и соавторами [11]. Авторы оценивали ОР эритроцитов беременных женщин методом Л. И. Идельсона, т. е. по интенсивности выхода

гемоглобина в раствор. Они нашли, что адреналин в концентрации  $10^{-10}$  г/мл повышает ОРЭ и этот эффект блокируется обзиданом (но не атенололом или ницерголином), а в концентрации  $10^{-8}$ – $10^{-5}$  г/мл адреналин дозозависимо снижает ОРЭ и этот эффект блокируется ницерголином. Эти данные позволили авторам сделать заключение, что активация  $\alpha$ -АР снижает ОРЭ, а активация  $\beta_2$ -АР повышает ОРЭ. Таким образом, наши данные о роли  $\alpha$ -АР,  $\beta_1$ -АР и  $\beta_2$ -АР коренным образом отличаются от данных из работы [11]. Наиболее вероятно, что эти противоречия обусловлены использованием разных методов оценки ОРЭ.

### Заключение

Необходимо отметить, что результаты наших исследований позволили предложить новый способ оценки адренореактивности разных фракций эритроцитов (Ф30—Ф120), основанный на оценке характера изменения осмотической резистентности экспонируемых в ДВ эритроцитов под влиянием адреналина ( $10^{-10}$ – $10^{-6}$  г/мл) на фоне интактных АР и в условиях одновременной блокады  $\alpha$ -АР ницерголином и  $\beta_1$ -АР атенололом, т. е. на фоне интактных  $\beta_2$ -АР [21]. С помощью этого метода удалось показать, что адренореактивность эритроцитов у женщин зависит от этапа репродуктивного процесса [14].

На основании проведенных исследований были сделаны следующие выводы.

1. Авторами предложен метод оценки осмотической резистентности эритроцитов (ОРЭ) небеременных женщин, основанный на определении числа негемолизированных эритроцитов после их экспозиции в дистиллированной воде (ДВ). Этим методом установлено, что при 30-, 45-, 60-, 90- и 120-секундной экспозиции эритроцитов, их число снижается соответственно до 84,6–66,8%, 70,3–56,3%, 53,9–37,9%, 30,1–13,9% и 13,6–1,4% от исходного уровня. Это позволяет говорить о фракциях эритроцитов (Ф30, Ф45—Ф120), отличающихся между собой по осмотической резистентности.
2. Добавление адреналина в экспозиционную среду в одних случаях повышает ОРЭ, а в других — снижает или не изменяет ее. Характер влияния адреналина на ОРЭ зависит от фракции эритроцитов, его концентрации и уровня половых гормонов. Например, для фракции Ф45 установлено, что способность адреналина снижать ОРЭ уменьшается с ростом концентрации адреналина и ростом содержания в крови прогестерона.
3. Обзидан усиливает способность адреналина повышать ОР эритроцитов, а атенолол, ницерголин или их смесь — снижают эту способность. Это означает, что рост ОРЭ под влиянием адреналина обусловлен активацией  $\alpha$ -АР и, в меньшей степени,  $\beta_1$ -АР, а снижение ОРЭ связано с активацией  $\beta_2$ -АР.

### Литература

1. Age related alterations of adrenoceptor activity in erythrocyte membrane / Lomsadze G., Khetsuriani R., Arabuli M., Intskirveli N., Sanikidze T. // Georgian Med. News. 2011. N 195. P.58–61.
2. Уровень специфического связывания  $\beta$ -адренергических лигандов и некоторые морфофункциональные свойства эритроцитов при бронхиальной астме / Жихарев С. С., Перцева М. Н., Кузнецова Л. А., Минеев В. Н., Яблонская В. Н., Богданова Ю. М. // Терапевтический архив. 1988. Т. 60, № 3. С. 89–93.
3. Манухин Б. Н., Нестерова Л. А., Смурова Е. А. Характеристика кинетики взаимодействия  $\beta$ -адренорецепторов эритроцитов крыс со специфическим блокатором пропранололом // Биологические мембраны. 1994. Т. 11, № 5. С. 489–495.
4. Соминский В. Н., Окунь К. В. Повышение осмотической резистентности эритроцитов крови под влиянием пропранолола // Лабораторное дело. 1981, № 9. С. 525–527.

5. Гусева Е. В., Дворянский С. А., Циркин В. И.  $\beta$ -адренореактивность эритроцитов женщин при нормальных и осложненных родах // Акушерство и гинекология. 1998. № 4. С. 17–22.
6. Бацев Н. М. Состояние эритроцитарной системы у детей, больных бронхиальной астмой, при горно-климатическом лечении: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ростов-на-Дону, 2002.
7. Стрюк Р. И., Длусская И. Г. Адренореактивность и сердечно-сосудистая система. М.: Медицина, 2003. 160 с.
8. Метод оценки адренореактивности организма ( $\beta$ -АРМ) у беременных для прогнозирования течения родов / Адамян Л. В., Смольникова Т. Ю., Длусская И. Г., Стрюк Р. И., Ляшко Е. С., Бейлин А. Л., Мисхин С. В., Герасимов А. Н., Брагинская С. Г. // Проблемы репродукции. 2006. № 1. С. 91–97.
9. Минеев В. Н., Шпетная Е. А., Шадрина Е. Б. Мембранно-рецепторные нарушения при бронхиальной астме // Терапевтический архив. 1999. Т. 71, № 3. С. 9–13.
10. Трошкина Н. А., Циркин В. И., Дворянский С. А., Ивашкина Е. П. Оценка адренореактивности эритроцитов небеременных и беременных женщин с физиологически протекающей и осложненной гестозом беременностью // Пермский медицинский журнал. 2007. Т. 24, № 1–2. С. 140–145.
11. Изменение осмотической резистентности и адренореактивности эритроцитов у женщин при беременности / Бабин А. П., Дворянский С. А., Циркин В. И., Трошкина Н. А., Гусева Е. В., Круть И. Ю., Костяев А. А. // Гемореология в микро- и макроциркуляции: матер. V Междунар. конф. Ярославль: ЯГПУ им. К. Д. Ушинского, 2005. С. 196.
12. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / под ред. В. В. Меньшикова. М.: Медицина, 1987. 364 с.
13. Циркин В. И., Крысова А. В., Куншин А. А. Способ оценки осмотической резистентности эритроцитов // Патент на изобретение Ru № 2419792 С1 от 07.12.2009. Описание изобретения к патенту Российской Федерации. Бюллетень № 5, 2011.
14. Кинетика гемолиза эритроцитов человека в дистиллированной воде и влияние на нее адренергических средств / Крысова А. В., Куншин А. А., Циркин В. И., Тройлова М. Е., Джалилова В. Д., Иванова Е. П., Сысуева Е. А., Торопова А. Л., Сайтова О. В. // Гемореология и микроциркуляция (от функциональных механизмов в клинику): матер. VII Междунар. науч. конф. Ярославль: ЯГПУ им. К. Д. Ушинского, 2009. С. 218.
15. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
16. Кишкун А. А. Руководство по лабораторным методам диагностики. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 800 с.
17. Marks P., Johnson A. Relationship between the age of human erythrocytes and their osmotic resistance: a basis for separating young and old erythrocytes // J. Clin Invest. 1958. Vol. 37, N 1. P. 1542–1548.
18. Кленов Р. О. Действие адреналина, цАМФ и АТФ на образование пептидов возрастными фракциями эритроцитов человека: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2010. 24 с.
19. Automated cell-based assay for screening of aquaporin inhibitors / Mola M., Nicchia G., Svelto M., Spray D., Frigeri A. // Anal Chem. 2009. Vol. 81, N 9. P. 8219–8229.
20. Геворкян Н. А. Состояние мембранно-рецепторного комплекса эритроцитов у больных различными клинико-патогенетическими формами первичного хронического бронхита: автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 1995. 19 с.
21. Крысова А. В., Циркин В. И. Способ оценки  $\alpha$ - и  $\beta_2$ -адренореактивности эритроцитов человека по изменению их осмотической резистентности под влиянием адреналина и адреноблокаторов: приоритетная справка № 2011134138/17(050548) от 17.08.2011.

Статья поступила в редакцию 13 сентября 2012 г.