

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ
УДК 616-001.36-615.212.7]-07

ФУНКЦИЯ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОМ ШОКЕ И ЕГО ЛЕЧЕНИИ АНТАГОНИСТОМ КАЛЬЦИЯ

П.П.ГОЛИКОВ¹, Л.М.КОЖЕВНИКОВА, Н.Ю.НИКОЛАЕВА¹, Ю.В.АРХИПЕНКО,
В.П.ПЕРЕСАДА²

НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, ¹НИИ скорой помощи им.Н.В.Склифосовского,
²НИИ фармакологии РАМН, Москва

Изучена функция глюкокортикоидных рецепторов II и III типов цитозоля печени крыс при геморрагическом шоке и его лечении антагонистом кальция А-1 с помощью радиорецепторных методов с использованием меченых стероидных лигандов. Путем анализа Скэтчарда определяли плотность глюкокортикоидных рецепторов, константы ассоциации и диссоциации лиганд-рецепторных комплексов. С помощью радиоиммунных кит-наборов определяли концентрацию кортикостерона в сыворотке крови. В опытах на кошках оценивали показатели системной гемодинамики и метаболизма. Показано, что наряду с выраженными расстройствами кровообращения и метаболизма при геморрагическом шоке значительно снижена функция глюкокортикоидных рецепторов II типа. Под влиянием антагониста кальция А-1 происходит увеличение плотности глюкокортикоидных рецепторов II типа и уменьшение плотности рецепторов III типа. Препарат повышает содержание белка в цитозоле печени. Нормализация показателей гемодинамики и увеличение продолжительности жизни животных свидетельствуют о выраженной противошоковой активности антагониста кальция А-1, которая, по-видимому, связана с его модулирующим влиянием на функцию глюкокортикоидных рецепторов.

Ключевые слова: геморрагический шок, гемодинамика, метаболизм, глюкокортикоидные рецепторы, антагонист кальция

Введение. До настоящего времени весьма актуальны исследования по разработке новых патогенетических подходов к защите жизненно важных органов при геморрагическом шоке. Гипоксия, развивающаяся в результате нарушения перфузии тканей при шоке, является основным сигналом для перестройки различных метаболических процессов и, прежде всего, в системе энергогенеза [1]. Согласно литературным данным, при тяжелом течении шока отмечается низкая активность ферментов гликогенолиза, гликолиза и окислительного фосфорилирования, что свидетельствует об энзиматическом истощении шоковой клетки [2]. Энергодефицит является предвестником мембранных повреждений, ведущих к нарушению работы АТФ-зависимых ионных насосов, дефосфорилированию структурных белков и ослаблению пластических процессов [3]. Гипоксическое повреждение клетки при шоке в значительной степени связано с ее перегрузкой ионами кальция. Главным образом это обусловлено нарушением структурной целостности липидного слоя мембран, приводящим к потере их барьерной функции по отношению к кальцию. Увеличение пула цитоплазматического кальция в основном связано с его выходом из внутриклеточных мест депонирования [4,5]. Являясь универсальным вторичным мессенджером, обеспечивающим внутриклеточную сигнализацию, кальций уча-

ствуется в регуляции практически всех важнейших внутриклеточных процессов (6). Однако чрезмерное увеличение его концентрации приводит к дезинтеграции этих процессов и в конечном итоге может стать причиной гибели клетки. Вполне очевидно, что проблема фармакотерапии шока, направленная на нормализацию обмена веществ и защиту клетки, чрезвычайно сложна.

Известно, что глюкокортикоиды вызывают ферментативную перестройку, обеспечивающую длительную мобилизацию энергетических ресурсов путем переключения различных видов обмена на катаболизм [7]. Глюкокортикоиды широко используются при шоке различной этиологии, но при этом не являются решающей частью его комплексной терапии и профилактики в связи с рядом побочных эффектов и осложнений гормонотерапии [8,1]. Более того, важно не только количество глюкокортикоидов, но и гармоничное функционирование всех звеньев сложного механизма трансформации гормонального сигнала в биохимический ответ клетки, выражающийся в изменении функционирования ядерного аппарата. Основная роль в опосредовании биологической активности гормонов принадлежит цитозольным глюкокортикоидным рецепторам, которые и определяют синтез целого ряда ключевых ферментов, участвующих в регуляции многих метаболических процессов. Отсюда можно предположить, что роль цитозольных глюкокортикоидных рецепторов в формировании и развитии шока велика.

Имеется немало работ, указывающих на важную роль ионизированного кальция в реализации механизмов пермиссивного действия глюкокортикоидов, а также свидетельствующих о способности стероидов ингибировать индуцированный подъем внутриклеточного кальция [9,10,11,12]. Однако пока не установлена прямая связь между механизмами гормональной регуляции посредством цитозольных рецепторов и обменом кальция [6]. Решение этого вопроса приобретает особую актуальность, поскольку для целого ряда патологических состояний, в том числе шока, характерно нарушение кальциевого гомеостаза и угнетение различных рецепторных систем [3,13,14].

Целью настоящего исследования было изучение роли цитозольных глюкокортикоидных рецепторов в механизмах формирования и развития геморрагического шока и модулирующего влияния антагониста кальция А-1 на функцию этих рецепторов. Изучаемый препарат по своей структуре принципиально отличается от известных в настоящее время блокаторов кальциевых каналов [15].

Методика. Исследования проведены на 52 крысах-самцах линии Вистар массой 250-300 г и 25 кошках массой 3,0-4,0 кг. Моделирование геморрагического шока проводили на наркотизированных животных. В качестве наркотического средства применяли этаминал натрия в дозе 40 мг на кг массы тела. Кровоопускание проводили из бедренной артерии. Геморрагический шок воспроизводили путем дробного кровоопускания, снижая АД до 40-45 мм рт.ст., и поддерживали его на этом уровне в течение 1,5 часов в опытах на кошках и 1 часа в опытах на крысах. Объем кровопотери у кошек составлял $37,0 \pm 4,3$ мл, у крыс - $30,3 \pm 1,2$ мл на кг массы тела.

Для оценки тяжести течения шока и противошоковой эффективности антагониста кальция А-1 в опытах на кошках определяли параметры системной гемодинамики и биохимические показатели крови. На мониторе МХ-01 регистрировали артериальное давление (АД), частоту сердечных сокращений (ЧСС), центральное венозное давление (ЦВД). Минутный объем кровообращения (МОК) определяли методом термодилюции [16]. Рассчитывали ударный объем сердца (УО) и общее периферическое сопротивление сосудов кровотоку (ОПС). Общее содержание бел-

ка (ОБ), глюкозы, триглицеридов, креатинина, мочевины, холестерина, неорганического фосфора, кальция, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), креатинкиназы (КК) и щелочной фосфатазы (ЩФ) в плазме крови кошек определяли спектрофотометрическими методами на центрифужном биохимическом анализаторе "Центрификем-600" (Англия).

Функция глюкокортикоидных рецепторов II и III типов цитозоля печени крыс в норме, при шоке и его лечения антагонистом кальция А-1 изучалась с помощью радиорецепторных методов с использованием меченых стероидных лигандов по ранее описанной методике [17]. В качестве лиганда глюкокортикоидных рецепторов II типа использовали ^3H -ацетонид триамцинолона ($22 \text{ К}_\text{и}/\text{ммоль}$), рецепторов III типа - ^3H -кортикостерон ($80 \text{ К}_\text{и}/\text{ммоль}$) фирмы "Амершам" (Англия). Функцию глюкокортикоидных рецепторов II и III типов оценивали по изменению числа мест связывания (n), констант ассоциации ($\text{K}_\text{а}$) и диссоциации ($\text{K}_\text{д}$), определяемых с помощью анализа Скэтчарда [18]. Для определения концентрации кортикостерона в сыворотке крыс использовали радиоиммунные кит-наборы. Забор ткани печени и крови производили через 3 часа с момента начала кровопотери.

В опытах на крысах исследования проведены на четырех группах животных. В первую вошли интактные животные, во вторую - животные, которым был введен этаминал натрия, в третью - животные с геморрагическим шоком, в четвертую - так же с геморрагическим шоком, но леченным антагонистом кальция А-1. В опытах на крысах препарат применяли в дозе 3 мг на кг внутривенно через 1 час после начала кровопускания.

В опытах на кошках препарат А-1 вводили внутривенно в той же дозе после полуторачасового периода гипотензии с последующим подключением инфузионной терапии. В качестве кровезаменителя использовали изотонический раствор хлорида натрия в двойном объеме от кровопотери. Необходимость проведения инфузионной терапии сразу после введения препарата была продиктована тяжестью течения геморрагического шока у кошек. Без лечения большинство животных погибало в ближайшие два часа с момента начала кровопускания. Для оценки противошоковой активности антагониста кальция А-1 в опытах на кошках поставлено три серии опытов: I серия - геморрагический шок без лечения, II серия - геморрагический шок + инфузия изотонического раствора хлорида натрия в течение 1 часа, III - геморрагический шок + препарат А-1 + инфузия кровезаменителя.

Для выявления характера влияния антагониста кальция А-1 на функцию цитозольных глюкокортикоидных рецепторов была поставлена серия модельных опытов *in vitro*. С этой целью препарат А-1 использовали в концентрациях 10^{-6} М и 10^{-5} М .

Экспериментальный материал обрабатывали с помощью непараметрических методов математической статистики.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований, представленные в табл.1, свидетельствуют о том, что после полуторачасового периода гипотензии (АД 40-45 мм рт.ст.) у кошек значительно снижался УО и МОК, их величины составляли около 20% от исходного уровня. Массивная кровопотеря приводила к выраженному снижению объема эффективно циркулирующей крови, уменьшению венозного возврата к сердцу и снижению центрального венозного давления. При этом общее периферическое сопротивление сосудов кровотоку было достаточно высоким и составляло $132 \pm 2,3\%$ от исходного уровня.

Быстро развивающаяся гиповолемия явилась ведущим фактором в развитии тканевой гипоксии и нарушении метаболизма при геморрагическом шоке. Так, в плазме крови животных уменьшалось содержание общего белка, отмечалась гипергликемия и триглицеридемия, увеличивалось содержание мочевины и неорганического фосфора, свидетельствуя об активации катаболических процессов. Кроме того, при геморрагическом шоке у кошек после полуторачасового периода гипотензии содержание белка в цитозоле печени составляло $8,1 \pm 2,2$ г/л, в то время как в печени интактных животных его величина была равна $12,4 \pm 2,2$ г/л.

Таблица 1

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОДИНАМИКИ И МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОМ ШОКЕ У КОШЕК

Показатели	Исходные	Время от начала кровопотери (в часах)	
		1,5	2,5
п	9	9	1
АД, мм рт. ст.	151 ± 4	$43 \pm 1,6 *$	42
ЦВД, мм рт. ст.	$4,4 \pm 0,2$	$2,6 \pm 0,5 *$	0,9
ЧСС, в мин.	180 ± 5	$216 \pm 5,9 *$	230
УО, % к исх.	$1,26 \pm 0,5$ мл/кг	$19 \pm 0,9 *$	10
МОК, % к исх.	230 ± 13 мл/кг	$22 \pm 1,0 *$	14
ОПС, % к исх.	$(5,3 \pm 0,2) \cdot 10^4$ дин $^{\circ}$ сек $^{\circ}$ см $^{-5}$	$132 \pm 2,3 *$	194
ОБ, г/л	$63,4 \pm 1,6$	$51,3 \pm 3,3 *$	-
ЛДГ, ед/л	609 ± 122	639 ± 247	-
Глюкоза, мг %	178 ± 55	$293 \pm 53 *$	-
КК, ед/л	104 ± 8	109 ± 25	-
Креатинин, мг %	$1,43 \pm 0,2$	$1,87 \pm 0,1 *$	-
Ф $_{II}$, мг %	$14,5 \pm 2,4$	$36,0 \pm 4,1 *$	-
Са $^{+2}$ мМ	$2,44 \pm 0,1$	$2,35 \pm 0,1$	-
Триглицериды, мг %	$78,6 \pm 22$	$108,5 \pm 14 *$	-
ЩФ, ед/л	56 ± 14	92 ± 22	-
Мочевина, мг %	$28,1 \pm 3,3$	$33,8 \pm 4,3 *$	-

Интересные данные об изменении функции цитозольных глюкокортикоидных рецепторов получены при геморрагическом шоке у крыс. Установлено (табл.2), что шок сопровождается значительным угнетением функции глюкокортикоидных рецепторов II типа абсолютное и относительное число мест связывания снижалось более чем на 50% от уровня интактных животных. В то же время абсолютная и относительная плотность глюкокортикоидных рецепторов III типа в цитозоле печени крыс при шоке не уменьшалась, а напротив, отмечалась тенденция к увеличению этого показателя как по сравнению с интактными животными, так и при применении этиминала натрия. При шоке, а также при введении этиминала натрия увеличивалась концентрация кортикостерона в сыворотке крови крыс.

В экспериментах на кошках (табл.3,4) получены данные о выраженном гемодинамическом действии антагониста кальция А-1. Так, при введении препарата в сочетании с изотоническим раствором хлорида натрия у животных более высокими были показатели УО и МОК, по сравнению с результатами, полученными при инфузии одного кровезаменителя. Рост УО и МОК при урежении частоты сердечных сокращений свидетельствовал о благоприятном действии препарата на сер-

Таблица 2

**ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТА КАЛЬЦИЯ А-1 (3 мг/кг) НА ФУНКЦИЮ
ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ЦИТОЗОЛЯ ПЕЧЕНИ КРЫС И
КОНЦЕНТРАЦИЮ КОРТИКОСТЕРОНА СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ
ГЕМОРРАГИЧЕСКОМ ШОКЕ У КРЫС**

Условия эксперимента	Глюкокортикоидные рецепторы II типа		Глюкокортикоидные рецепторы III типа		Кортикостерон сыворотки крови	Белок цитозоля
	фмоль/мг белка	фмоль/г ткани	фмоль/мг белка	фмоль/г ткани	нмоль/л	г/л
Интактные животные	$23,32 \pm 0,97$ (13)	1384 ± 68 (13)	$12,79 \pm 1,06$ (12)	732 ± 88 (12)	684 ± 38 (15)	$15,29 \pm 0,55$ (13)
Наркоз	$23,26 \pm 1,20$ (14)	1536 ± 108 (14)	$13,54 \pm 1,48$ (12)	764 ± 92 (12)	$836 \pm 29^*$ (12)	$15,38 \pm 0,27$ (13)
Геморрагический шок	$11,08 \pm 0,62^*$ (13)	$640 \pm 40^*$ (13)	$15,50 \pm 2,04$ (12)	936 ± 124 (12)	$948 \pm 55^*$ (13)	$14,00 \pm 0,45$ (14)
Геморрагический шок + (А - 1)	$18,81 \pm 0,89^{***}$ (12)	$1232 \pm 104^{**}$ (12)	$8,11 \pm 1,07^{***}$ (12)	$536 \pm 32^{***}$ (12)	$883 \pm 30^*$ (14)	$16,35 \pm 0,70^{**}$ (13)

Примечание:

* - достоверность различий при сравнении с интактной группой животных, $P < 0,05$

** - достоверность различий при сравнении группы животных с геморрагическим шоком, леченных препаратом А - 1, с группой животных с геморрагическим шоком без лечения, $P < 0,05$.

Таблица 3

**ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОДИНАМИКИ И МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ЛЕЧЕНИИ
ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ШОКА У КОШЕК ИЗОТОНИЧЕСКИМ РАСТВОРОМ ХЛОРИДА
НАТРИЯ**

Показатели	Исходные данные	Время от начала кровопотери (в часах)		
		1,5	2,5	4,5
n	8	8	8	8
АД, мм рт. ст.	154 ± 9	$39 \pm 0,4$	$138 \pm 8,4^*$	$104 \pm 5,2^*$
ЦВД, мм рт. ст.	$2,3 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,5$	$1,8 \pm 0,5$	$1,5 \pm 0,4$
ЧСС, в мин.	191 ± 14	200 ± 13	200 ± 10	224 ± 13
УО, % к исх.	$1,23 \pm 0,09$ мл/кг	$25 \pm 2,9$	$101 \pm 8,1^*$	$50 \pm 6,8^*$
МОК, % к исх.	234 ± 21 мл/кг	$27 \pm 2,9$	$106 \pm 7,9^*$	$58 \pm 3,5^*$
ОПС, % к исх.	$(5,4 \pm 0,4) \cdot 10^4$ дин \cdot сек \cdot см $^{-5}$	123 ± 11	$86 \pm 6,1$	133 ± 16
ОБ, г/л	$67,1 \pm 2,9$	$47,6 \pm 1,6$	$33,6 \pm 4,8^*$	$45,5 \pm 2,7$
ЛДГ, ед/л	478 ± 72	587 ± 123	806 ± 246	1342 ± 360
Глюкоза мг%	119 ± 15	283 ± 26	$163 \pm 26^*$	129 ± 17
КК, ед/л	104 ± 18	109 ± 25	149 ± 22	$566 \pm 141^*$
Креатинин, мг%	$1,33 \pm 0,1$	$1,94 \pm 0,2$	$1,72 \pm 0,1$	$1,48 \pm 0,1^*$
Фн., мг%	$6,6 \pm 0,6$	$7,7 \pm 1,3$	$9,5 \pm 1,2$	$8,4 \pm 1,5$
Ca $^{2+}$, мМ	$2,39 \pm 0,05$	$2,25 \pm 0,02$	$1,78 \pm 0,04^*$	$2,01 \pm 0,1^*$
Триглицериды, мг%	$75,1 \pm 7$	100 ± 8	82 ± 8	90 ± 8
ЩФ, ед/л	$45 \pm 4,9$	142 ± 17	$113 \pm 11,2$	$78 \pm 8,5^*$
Мочевина, мг%	$19,2 \pm 2,3$	$24,0 \pm 1,4$	$20,3 \pm 1,6^*$	$20,5 \pm 1,4^*$

Примечание: *- достоверные различия с показателями через 1,5 часа от начала кровопотери (перед лечением), $P < 0,05$

Таблица 4

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОДИНАМИКИ И МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ШОКА У КОШЕК ИЗОТОНИЧЕСКИМ РАСТВОРОМ ХЛОРИДА НАТРИЯ В СОЧЕТАНИИ С АНТАГОНИСТОМ КАЛЬЦИЯ А-1

Показатели	Исходные данные	Время от начала кровопотери (в часах)		
		1,5	2,5	4,5
п	8	8	8	8
АД, мм рт. ст.	141 ± 7	42 ± 3	143 ± 9*	115 ± 9,0*
ЦВД, мм рт. ст.	2,6 ± 0,6	1,9 ± 0,3	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,3
ЧСС, в мин.	155 ± 11	180 ± 9,0	150 ± 6,2*	162 ± 16
УО, % к исх.	1,35 ± 0,06 мл/кг	18 ± 4	139 ± 7,1***	70 ± 6,3***
МОК, % к исх.	209 ± 17 мл/кг	25 ± 5	162 ± 8,7***	77 ± 7,9***
ОПС, % к исх.	(5,5 ± 0,5) · 10 ⁴ дин · сек · см ⁻⁵	132 ± 2,9	92 ± 6,7	132 ± 13
ОБ, г/л	65,01 ± 2,5	54,4 ± 1,5	35,3 ± 1,2*	48,8 ± 1,3
Ca ²⁺ , mM	2,4 ± 0,09	2,2 ± 0,07	1,71 ± 0,03*	1,77 ± 0,06
Триглицериды, мг %	85,6 ± 2,7	89,2 ± 3,4	70,1 ± 2,9	95,0 ± 6,0
Креатинин, мг %	1,11 ± 0,08	1,48 ± 0,08	1,18 ± 0,09	1,07 ± 0,05
Холестерин, мг %	1,63 ± 2,4	14,3 ± 2,0	7,2 ± 0,9*	8,5 ± 1,4
Мочевина, мг %	22,4 ± 1,3	27,2 ± 1,2	20,7 ± 1,1*	21,0 ± 1,3

Примечание:

*- достоверные различия с показателями через 1,5 часа от начала кровопотери (перед лечением);

**-достоверные различия при сравнении с группой животных, леченных одним кровезаменителем, P < 0,05.

дечную деятельность. Увеличение сердечного выброса, высокие значения АД при сниженном ОПС являются подтверждением улучшения периферического кровообращения, фактора, необходимого для сохранения функциональной активности клетки.

При совместном применении препарата с кровезаменителем выживаемость животных увеличивалась до 90%, в то время как при введении одного кровезаменителя - до 50%.

Наибольший интерес, по нашему мнению, представляют экспериментальные данные о влиянии изучаемого соединения на функцию цитозольных глюкокортикоидных рецепторов. Через два часа после введения антагониста кальция А-1 функциональная активность рецепторов II типа восстанавливалась почти до уровня интактных животных. Это положение в равной степени относится к показателю плотности глюкокортикоидных рецепторов II типа, полученному при его пересчете как на 1 г ткани (абсолютная плотность), так и на 1 мг белка (относительная плотность) (табл.2). В связи с этим важно отметить, что препарат повышал содержание белка в цитозоле печени. Кроме того, усиливая функцию рецепторов II типа, антагонист кальция А-1 одновременно достоверно уменьшал плотность глюкокортикоидных рецепторов III типа . При применении препарата А-1 отмечалась незначительная тенденция к снижению кортикостерона в сыворотки крови.

Анализ полученных экспериментальных данных позволяет высказать предположение о существующей связи между функцией цитозольных глюкокортикоидных рецепторов и изменением гомеостаза кальция в клетках гепатоцитов при шоке.

Цитозольные рецепторы являются мобильными белковыми макромолекулами, которые чувствительны к различным факторам, в том числе к изменению концентрации K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} . Ведущая роль в процессах стабилизации и трансформации глюкокортикоид-рецепторного комплекса отводится эндогенному Ca^{2+} [19,20]. Необходимым условием взаимодействия стероидов с цитозольными рецепторами является процесс фосфорилирования последних. Фосфорилирование выполняет роль фактора, завершающего посттрансляционный переход белка в функционально активное состояние, либо определяет его компартментализацию в клетке. Этот процесс энергозависим и катализируется Ca^{2+} -кальмодулинзависимой фосфокиназой [19,21].

Известно, что при многих патологических процессах происходит изменение "узнавания" глюкокортикоидов клетками-мишенями на всех стадиях рецепторного механизма, включая мембранный этап, образование гормон-рецепторного комплекса и его связывание ядерными акцепторами [22, 23]. В условиях гипоксии содержание внутриклеточного кальция увеличивается, в результате чего угнетается энергетическая функция митохондрий, нарушается обмен белков, активируются протеолиз, перекисное окисление липидов, ингибируются ферментные системы, сопряженные с рецепторами [3,14]. Все вышеперечисленные изменения могут приводить к конформационным перестройкам рецепторных молекул и уменьшению сродства рецепторов к лиганду. При шоке имеет место как дефицит макроэргических соединений, так и нарушение кальциевого гомеостаза, что может обусловить ослабление или прекращение процессов реактивации глюкокортикоидных рецепторов II типа путем их фосфорилирования.

В условиях нормы глюкокортикоиды в печени, в отличие от других органов, вызывают не катаболический, а анаболический эффект. При шоке содержание кортикостерона в сыворотке крови возрастало в 1,5 раза по сравнению с интактными животными. Однако для индуцирования синтеза структурных и функциональных белков в гепатоцитах за счет биосинтеза м-РНК и р-РНК в их ядрах необходимо не только определенное количество гормона, но и работа всех звеньев сложного механизма опосредования их биологической активности. Об угнетении репаративных процессов при шоке свидетельствовало уменьшение концентрации суммарного белка в ткани печени крыс и кошек. Причем, чем тяжелее протекал шоковый процесс, тем более выраженным было падение уровня белка, что может неблагоприятно сказаться на структуре и функции гепатоцитов. Анализ представленных данных позволяет высказать предположение, что в основе уменьшения биосинтеза суммарного белка в печени лежит угнетение функции цитозольных глюкокортикоидных рецепторов II типа. Очевидно, что при назначении массивных доз глюкокортикоидов при шоке в расчете на улучшение сократительной деятельности сердца, периферического кровообращения, стабилизацию клеточных и лизосомальных мембран необходимо одновременно использовать средства, направленные на нормализацию функции цитозольных глюкокортикоидных рецепторов. В противном случае гормонотерапия может не достичь своей цели.

В ходе исследований была выявлена высокая противошоковая активность соединения А-1, обладающего выраженным модулирующим влиянием на функцию глюкокортикоидных рецепторов. Судя по результатам наших опытов *in vitro* антагонист кальция А-1 (10^{-6} М или 10^{-5} М) не оказывал прямого влияния на связывание меченого лиганда с соответствующими рецепторами. Показанное ранее антиглюкокортикоидное действие половых стероидов в печени крыс также не было связано с вытеснением глюкокортикоидов из мест их связывания с цитозольными

рецепторами и впервые высказано предположение, что молекулярную основу выявленной физиологической конкуренции следует искать на уровне ядерного акцептирования или в множественности форм рецептора [24].

Восстановление концентрации рецепторов в цитоплазме происходит не только путем усиления их связывающей способности за счет повышения сродства глюкокортикоидных рецепторов к гормонам, но и дополнительного синтеза рецепторов [21,25]. Увеличение содержания глюкокортикоидных рецепторов II типа под влиянием антагониста кальция А-1 при шоке, вероятнее всего, не связано с синтезом рецепторов *de novo*, так как слишком короток временной интервал действия препарата, а обусловлено, по-видимому, процессами реактивации рецептора путем его фосфорилирования. В литературе обсуждается вопрос о том, что рецепторы II и III типа являются конформационными "вариантами" одного рецептора и в определенных условиях один вид рецептора может приобретать свойства другого за счет изменения конформационной структуры [22]. Это представление не является общепризнанным, но в любом случае способность препарата повышать содержание глюкокортикоидных рецепторов II типа и снижать уровень рецепторов III типа с физиологической точки зрения имеет свои положительные моменты. Так, при более низком содержании глюкокортикоидных рецепторов III типа кортикостерон начинает быстрее связываться с рецепторами II типа, что обеспечивает выраженность транслокации гормона в ядро клетки и его биологической активности [26].

Основные факты, изложенные в статье, свидетельствуют об угнетении функции глюкокортикоидных рецепторов при шоке. Выраженная противошоковая активность антагониста кальция А-1, по-видимому, связана с его влиянием на функцию глюкокортикоидных рецепторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Травматическая болезнь//Под.ред.И.И.Дерябина, О.С.Насонкина. -М.,1987.
2. Шутеу Ю.,Бэндилэ Т.,Кафрице А. и др. Шок.-Бухарест.-1981.
3. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечение).- М., 1989.
4. Сороковой В.И.,Владимиров Ю.А.//Итоги науки и техники.Сер. Молекулярная патология мембранных структур.-М.,- 1975.-Т.5. - с.12-55.
5. Dhalla N.S.,Das P.K.,Sharma G.P.//J.Molek.Cell.Cardiol. - 1978.-Vol.10.-p.363-385.
6. Авдонин П.В.,Ткачук В.А. Рецепторы и внутриклеточный кальций. -М., 1994.
7. Теппермен Дж.,Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы.- М.,1989.
8. Виноградов В.М.Фармакология средств с преимущественным действием на обмен веществ и противомикробных препаратов.-Л.,1986.
9. Асташкин Е.И.,Ходорова А.Б.,Туманова О.А. и др. //Бюлл.экспер.биол.и мед.-1993.- 1993.-№10.- с.400-402.
10. Духанин А.С.,Булаева Н.Н.//Бюлл.экспер.биол.и мед.- 1992. -№9.- с.282-284.
11. Селезнев Ю.М.,Мартынов А.В.,Смирнов В.Н.//Докл.АМ СССР.-1991.-Т.259.-№2.-с.498-502.
12. Exton J.//Glucocorticoid hormone action.- Berlin.- 1979.-p.535-543.
13. Голиков П.П.,Удовиченко В.И.,Калинин В.Н. и др.//Пат.физиол. -1996.-№1.-с.9-13.
14. Неговский В.А.,Пылова С.И.//Вест.росс.акад.мед.наук.- 1992. -№7.-с.32-35.
15. Гваладзе М.Д. //Мат.ХІХ Респуб.науч.конф. молодых медиков Грузии.-Тбилиси.-1990.- с.191.

16. Гуревич М.И., Берштейн С.А., Голов Д.А., Повжитков М.М. // Физиол. журн. СССР. - 1967. - т. 53. - с. 50-54.
17. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. // Вопр. мед. химии. - 1994. - Вып. 2. - с. 9-12.
18. Scatchard G. // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 1949. - Vol. 51. - p. 660-672.
19. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л. Рецепторы. - М., 1987.
20. Kalimi M., Shen J., Hubbard J. // J. Steroid. Biochem. - 1983. - Vol. 19. - p. 1265-1272.
21. Ткачук В.А. Введение в молекулярную эндокринологию: Учеб. пособие. - М., 1983.
22. Сергеев П.В. Стероидные гормоны. - М., 1987.
23. Сергеев П.В., Духанин А.С., Огуцов С.И. и др. // Бюлл. exper. биол. и мед. - 1991. - № 1. - с. 44-46.
24. Agarwal M.K., Lazar G., Sekiya S. // Biochem. biophys. Res. Commun. - 1977. - Vol. 79. - P. 499-504.
25. Corcos L., Shaw P., Weiss M., Adesnik M., Drinkwater N. // J. Cell. Biochim. - 1992. - Suppl. 16. - p. 33.
26. Голиков П.П. Рецепторные механизмы глюкокортикоидного эффекта. - М., 1988.

GLUCOCORTICOID RECEPTOR FUNCTION IN THE HEMORRHAGIC SHOCK AND ITS TREATMENT BY A CALCIUM ANTAGONIST

P. P. Golikov, L. M. Kozhevnikova, N. Yu. Nikolayeva, Yu. V. Arkhipenko, V. P. Peresada

Research Institute of General Pathology and Pathological Physiology, Sklifosovsky Institute for Emergency Medicine, Institute of Pharmacology, Moscow

In the present study a function of glucocorticoid receptors II and III types of rat liver cytosol has been investigated in the hemorrhagic shock and its treatment by a calcium antagonist A-1 using radioreceptor methods using labelled steroid ligands. Glucocorticoid receptor density, association and dissociation constants of ligand-receptor complexes has been measured via Scatchard analysis of corticosteron concentration in blood serum has been determined using radioimmune kits. In experiments in cats system hemodynamics and metabolism characteristics have been evaluated. It was demonstrated that together with expressed blood circulation and metabolic disturbances in the hemorrhagic shock the glucocorticoid receptor function was considerably decreased. Under the influence of the calcium antagonist A-1 glucocorticoid receptors' type II density increased and type III receptor density decrease took place. The drug increased protein content in the liver cytosol. Hemodynamics indices normalization and increase of the animals' life length indicated an expressed antishock activity of the A-1 calcium antagonist, which apparently associated with its modulating influence on the glucocorticoid receptor function.

Key words: hemorrhagic shock, hemodynamics, metabolism, glucocorticoid receptors, calcium antagonist