

УДК 616-001.36-02:615.212.7]-07
Коллектив авторов

ВЛИЯНИЕ НИФЕДИПИНА И ВЕРАПАМИЛА НА СВОЙСТВА ЦИТОЗОЛЬНЫХ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОМ ШОКЕ

П.П. Голиков¹, Л.М. Кожневникова², Н.Ю. Николаева¹, Ю.В. Архипенко²

¹НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского,
129010 Москва, Б.Сухаревская пл., 3, тел.: 928-3415, 929-1224.

²НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН.

В работе исследована функция цитозольных глюкокортикоидных рецепторов при геморрагическом шоке и его лечении верапамилом и нифедипином. Функцию глюкокортикоидных рецепторов изучали в цитозоле печени крыс с помощью радиолигандных методов, используя меченые стероидные лиганды с высокой удельной активностью. При применении нифедипина у животных восстанавливается нарушенная при шоке функция глюкокортикоидных рецепторов, в то время как при введении верапамила отмечено еще более выраженное угнетение функции этих рецепторов по сравнению с геморрагическим шоком без лечения. Исследуемые препараты одинаково снижают повышенный при шоке уровень кортикостерона в крови до показателей интактных животных. Отличия фармакологического эффекта заключались и во влиянии препаратов на показатели артериального давления. При введении верапамила усиливается гипотония, утяжеляющая течение постгеморрагического периода. Одной из причин выраженного снижения АД, по-видимому, является выявленная способность верапамила угнетать функцию глюкокортикоидных рецепторов II типа. Нифедипин поддерживает АД на субнормальном уровне и уменьшает количество животных с декомпенсированным течением шока, что, вероятно, связано с его положительным влиянием на свойства глюкокортикоидных рецепторов и позволяет рекомендовать данный препарат для включения в схемы комплексной терапии шока.

Ключевые слова: геморрагический шок, цитозольные глюкокортикоидные рецепторы, кортикостерон, верапамил, нифедипин.

ВВЕДЕНИЕ. Блокаторы кальциевых каналов получили широкое распространение в клинической практике в качестве антиангинальных и антигипертензивных средств. Однако с учетом новых достижений в области молекулярной биологии в последние годы показания к применению блокаторов кальциевых каналов значительно расширились. Общеизвестным является положение о кальциевом механизме гибели клеток в условиях ишемии [1, 2]. Избыточное накопление ионов Ca^{2+} является универсальным патогенетическим процессом, который развивается при воздействии на организм многих экстремальных факторов внешней среды. Увеличение концентрации свободного кальция в цитозоле клетки выше физиологической нормы покоя (до 0,1 М) связано с подавлением клеточной функции. В условиях острой гипоксии и в постгипоксическом периоде происходит увеличение уровня не только

СВОЙСТВА ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ШОКЕ

цитоплазматического, но и внутримитохондриального Ca^{2+} , регулирующего активность ряда ферментов митохондриального окислительного метаболизма. Прямым следствием "Ca парадокса" является угнетение дыхания, снижение образования АТФ и отношения АТФ/АДФ, увеличение NADH/NAD и т.д. [3, 4]. Исходя из этого, блокаторы кальциевых каналов, предупреждая повышение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} , обладают универсальным защитным эффектом, направленным, в первую очередь, на обеспечение энергетического гомеостаза в целом. Не случайно антагонисты кальция были отнесены в группу антигипоксантов неспецифического действия [5].

При изучении антагонистов кальция в качестве антигипоксантов было установлено их мембранопротекторное действие, связанное с предотвращением патологического усиления процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) [6]. Ранее были получены данные о важной роли кальция в создании условий для инициации ПОЛ [7, 8]. Предварительное введение верапамила при длительном гиповолемическом шоке предупреждает увеличение активности ядерных Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависимых эндонуклеаз и защищает геномную ДНК от межнуклеосомного расщепления, что позволяет рассматривать верапамил как активный цитопротектор, защищающий геном клетки при длительных гиповолемических состояниях [9]. Оказывая мембранопротекторное действие, верапамил предупреждает агрегацию эритроцитов и их адгезию к сосудистой стенке, что приводит к улучшению микроциркуляции при реперфузии органа [6]. Положительно влияют нифедипин и верапамил на печеночную микроциркуляцию при острой массивной кровопотере у крыс [10]. Под влиянием нифедипина у интактных крыс значительно увеличивается кровообращение в средней мозговой артерии и, в меньшей степени, в общей и внутренней сонных артериях [11]. Однако блокаторы кальциевых каналов вызывают расслабление мышечных клеток сосудов и периферическую вазодилатацию, ухудшают сократительную функцию сердца. Поэтому одним из противопоказаний к применению блокаторов кальциевых каналов является выраженная гиповолемия. В ранее проведенных исследованиях на моделях травматического и геморрагического шока нами изучена противошоковая активность соединений из группы дигидропиридинов (ИОС-124) и замещенных пирролов (А-1), которые по механизму действия относятся к блокаторам медленных кальциевых каналов. Применение этих соединений в сочетании с инфузионной терапией приводило к восстановлению показателей системной гемодинамики до субнормального уровня и увеличению продолжительности жизни животных [12, 13].

Следует отметить, что кальциевый обмен в клетке находится под гормональным контролем и в условиях стресса (в том числе при шоке) ряд гормонов может вызвать резкое высвобождение кальция из внутриклеточных пулов и его накопление в цитозоле [14, 15]. Поэтому изучение роли гормонального контроля в регуляции гипоксического состояния приобретает особое значение. Центральное место в стресс-реакции отводится глюкокортикоидным гормонам, в реализации эффекта которых главную роль играют цитозольные глюкокортикоидные рецепторы [16, 17, 18].

Имеется немало работ, свидетельствующих о влиянии кальциевого обмена на механизмы гормональной регуляции в норме и патологии. Так, нифедипин оказывает стероидсберегающее действие, уменьшает выделение АКТГ и кортизола на прямой гипофизарный кортикотропный стимулятор аргинин-вазопрессин, который вызывает выделение АКТГ посредством системы вторичного мессенжера, включающего токи ионов кальция через плазматическую мембрану и эндоплазматический ретикулум [19, 20]. С учетом вышеизложенного представляется важным изучение влияния антагонистов кальция на механизмы гормональной регуляции опосредованно через цитозольные глюкокортикоидные рецепторы при геморрагическом шоке. Ранее было показано, что при травматическом и геморрагическом шоке функция цитозольных

глюкокортикоидных рецепторов угнетена [12, 21]. Одной из возможных причин нарушения функции этих рецепторов при шоке может быть увеличение содержания свободного кальция в цитозоле клетки, поскольку применение блокатора кальциевых каналов А-1 восстанавливало нарушенную функцию глюкокортикоидных рецепторов [12]. Соединение А-1 по своей структуре принципиально отличается от известных в настоящее время блокаторов кальциевых каналов, проходит лабораторные испытания и в клинике пока не применяется [22]. Предстояло выяснить является ли установленный протекторный эффект на функцию глюкокортикоидных рецепторов особенностью действия данного препарата или он присущ многим известным и широко используемым в клинике антагонистам кальция.

Целью настоящего экспериментального исследования было изучение противошоковой эффективности блокаторов кальциевых каналов нифедипина и верапамила и их модулирующего влияния на функцию цитозольных глюкокортикоидных рецепторов.

МЕТОДИКА. Исследования проведены на 120 крысах-самцах линии Вистар массой 250-300 г. В качестве наркотического средства применяли этаминал натрия в дозе 60 мг на кг массы тела внутривенно. Геморрагический шок воспроизводили путем дробного кровопускания из бедренной артерии, снижая АД до 40-45 мм рт.ст. и поддерживали его на этом уровне в течение 1 часа. Объем кровопотери составлял 30-34 мл на кг массы тела. Верапамил (0,25 мг/кг) и нифедипин (0,03 мг/кг) вводили внутривенно в объеме 0,3 мл на 100 г массы тела через 1 час от момента начала кровопускания. В одних сериях опытов препараты применяли без восполнения дефицита объема циркулирующей крови, в других - с использованием кровезамещающего раствора. В качестве кровезаменителя применяли изотонический раствор хлорида натрия в объеме, равном двойному объему кровопотери. Инфузионную терапию начинали после часового периода гипотензии и продолжали в течение 30 минут. Препараты вводили в бедренную вену. При исследовании влияния антагонистов кальция верапамила и нифедипина на функцию глюкокортикоидных рецепторов цитозоля печени крыс использованы общепринятые радиорецепторные методы с применением радиоактивных лигандов с высокой удельной активностью [23]. Для определения функции рецепторов II типа в качестве лиганда использовали [³H]-ацетонид триамцинолона (22 Ки/ммоль), а для рецепторов III типа - [³H]-кортикостерон (80 Ки/ммоль) фирмы "Amersham" (Англия). О влиянии препаратов на функцию глюкокортикоидных рецепторов судили по изменению числа мест связывания глюкокортикоидных рецепторов II и III типов цитозоля печени крыс, определяемого путем анализа Скэтчарда [24]. В сыворотке крови с помощью радиоиммунных кит-наборов определяли концентрацию кортикостерона. Ткань печени и кровь брали через 3 часа от момента начала кровопускания (спустя 2 часа после введения антагонистов кальция).

Для оценки модулирующего действия верапамила или нифедипина на функцию глюкокортикоидных рецепторов использованы 4 группы животных: 1) интактные; 2) наркоз; 3) наркоз + геморрагический шок; 4) наркоз + геморрагический шок + антагонист кальция. Для выявления противошоковой активности препаратов проведены следующие серии опытов: 1) геморрагический шок; 2) геморрагический шок + изотонический раствор хлорида натрия; 3) геморрагический шок + верапамил + изотонический раствор хлорида натрия; 4) геморрагический шок + нифедипин + изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, изучено влияние нифедипина и верапамила на взаимодействие глюкокортикоидных рецепторов с природными ([³H]-кортикостерон) и синтетическими ([³H]-ацетонид триамцинолона) глюкокортикоидами в условиях *in vitro*. Антагонисты кальция использовали в конечных концентрациях 10^{-7} - 10^{-5} М.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Геморрагический шок сопровождается значительным угнетением функции цитозольных глюкокортикоидных рецепторов

СВОЙСТВА ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ШОКЕ

II типа (табл.1). Плотность этих рецепторов в цитозоле печени крыс снижалась в 2 раза по сравнению с интактными животными. Абсолютное число мест связывания глюкокортикоидных рецепторов II типа в контроле составляло 1794 ± 183 фмоль/г ткани, при шоке оно снижалось до 909 ± 141 фмоль/г ткани. Уменьшались показатели относительной плотности этих рецепторов (см. табл.1). В то же время, уровень глюкокортикоидных рецепторов III типа при шоке не изменялся (интактные: $33,3 \pm 7,7$ фмоль/мг белка; геморрагический шок: $39,8 \pm 7,2$ фмоль/мг белка). В постгеморрагическом периоде отмечалось увеличение концентрации кортикостерона в крови. Полученные данные согласуются с современными представлениями о патогенетической роли глюкокортикоидов при

Таблица 1. Влияние нифедипина (0,03 мг/кг) и верапамила (0,25 мг/кг) на плотность глюкокортикоидных рецепторов II типа цитозоля печени крыс и уровень кортикостерона сыворотки крови при геморрагическом шоке.

Условия эксперимента	Нифедипин		Верапамил	
	Глюкокортикоидные рецепторы II типа, фмоль/мг белка	Кортикостерон, нмоль/л	Глюкокортикоидные рецепторы II типа, фмоль/мг белка	Кортикостерон, нмоль/л
Интактные	$34,05 \pm 2,28$	$262 \pm 11,0$	$25,29 \pm 3,24$	$262 \pm 11,0$
Наркоз	$32,58 \pm 3,30^{**}$	$259 \pm 16,0^{**}$	$18,78 \pm 1,40$	$248 \pm 5,0^{**}$
Наркоз+шок	$17,79 \pm 2,19^*$	$400 \pm 24,0^*$	$16,32 \pm 1,96^*$	$420 \pm 28,0^*$
Наркоз+шок+препарат	$27,33 \pm 1,05^{**}$	$298 \pm 22,0^{**}$	$10,64 \pm 1,62^{***}$	$287 \pm 10,0^{**}$

Примечание: * - достоверность различий при сравнении с интактной группой животных, $p < 0,05$
 ** - достоверность различий при сравнении с группой животных с геморрагическим шоком без лечения, $p < 0,05$.

многих патологических состояниях, сопровождающихся выраженной стресс-реакцией [25].

Введение нифедипина приводило к восстановлению нарушенной при шоке функции цитозольных глюкокортикоидных рецепторов, о чем свидетельствовал высокий уровень связывания [3H]-ацетонида триамцинолона рецепторами II типа (см. табл.1). Возрастало не только указанное относительное, но и абсолютное число мест связывания (интактные: 1794 ± 183 фмоль/г ткани; шок: 909 ± 141 фмоль/г ткани; шок + нифедипин: 1446 ± 126 фмоль/г ткани). При введении верапамила уровень активности глюкокортикоидных рецепторов II типа цитозоля печени крыс снижался еще в большей степени, чем при геморрагическом шоке без лечения. Если при шоке число мест связывания цитозольных глюкокортикоидных рецепторов II типа уменьшалось до 65% от уровня интактных животных, то при попытке его лечения верапамилем угнетение функции истинных глюкокортикоидных рецепторов в цитозоле печени крыс было еще более выраженным (их плотность составляла всего 42%). При этом верапамил не изменял кортикостеронсвязывающую способность рецепторов III типа (геморрагический шок: $39,8 \pm 7,2$ фмоль/мг белка; геморрагический шок, леченный верапамилем: $32,4 \pm 6,7$ фмоль/мг белка). Следует заметить, что исследуемые препараты, несмотря на выявленные различия, одинаково снижали повышенный при шоке уровень кортикостерона в крови до показателей интактных животных (см. табл.1), что подтверждает данные других авторов о стероидсберегающем действии блокаторов Ca^{2+} -каналов [19, 20].

Обнаруженная специфика фармакологического эффекта антагонистов кальция не ограничивалась только их действием на функцию глюкокортикоидных рецепторов. Отличия фармакологического эффекта заключались и в их влиянии на показатели АД при шоке. Оба препарата вводили внутривенно через 1 час после начала кровопотери на фоне низкого АД (40-45 мм рт.ст.) в объеме 0,3 мл на 100 г массы тела. В период моделирования геморрагического шока низкие значения АД

СВОЙСТВА ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ШОКЕ

Поскольку верапамил снижал сосудистый тонус при шоке, то перед его применением АД восстанавливали до $116 \pm 15,8$ мм рт.ст. инфузией солевого раствора. Однако в момент введения верапамила, как и в предыдущих опытах, наблюдалось резкое падение АД до $51,1 \pm 20,4$ мм рт.ст. В результате последующей инфузионной терапии происходило медленное восстановление показателей АД. При анализе результатов исследований, представленных в табл. 2, прослеживаются ранее выявленные различия в действии изучаемых антагонистов кальция на показатели АД у животных при шоке. Хотя различия недостоверны, однако общая тенденция сохраняется. Следует отметить, что при применении верапамила выживаемость животных снижалась до 70%.

Интересные данные получены при исследовании влияния антагонистов кальция на уровень глюкокортикоидных цитоплазматических рецепторов II и III типов в условиях *in vitro*. Верапамил и нифедипин использовали в концентрациях 10^{-7} - 10^{-5} М (табл. 3). Под влиянием препаратов независимо от используемых концентраций специфическое связывание [3 H]-ацетонида триамцинолона глюкокортикоидными рецепторами II типа цитозоля печени существенно не менялось. Так, в контроле плотность глюкокортикоидных рецепторов II типа составляла $27,74 \pm 2,35$ фмоль/мг белка, при использовании верапамила (10^{-5} М) - $28,74 \pm 1,80$ фмоль/мг белка, нифедипина (10^{-5} М) - $31,89 \pm 2,28$ фмоль/мг белка. В то же время в условиях *in vitro* препараты проявляли противоположный эффект на взаимодействие природного глюкокортикоида [3 H]-кортикостерона с глюкокортикоидными рецепторами III типа. Под влиянием верапамила происходило концентрационно-независимое уменьшение специфического связывания [3 H]-кортикостерона с рецепторами III типа. При концентрации верапамила 10^{-5} М плотность глюкокортикоидных рецепторов III типа уменьшалась на 50 % (в контроле она была равна $27,41 \pm 2,48$ фмоль/мг белка). Нифедипин, наоборот, концентрационно-зависимо повышал специфическое связывание [3 H]-кортикостерона с рецепторами III типа (см. табл. 3). Препарат в концентрации 10^{-6} М увеличивал плотность глюкокортикоидных рецепторов III типа в 2 раза по сравнению с контролем. Повышение более чем в 5 раз кортикостеронсвязывающей способности глюкокортикоидных рецепторов III типа цитозоля печени было отмечено при использовании нифедипина в концентрации 10^{-5} М. Таким образом, в условиях модельных опытов обнаружено разнонаправленное действие антагонистов кальция (верапамил, нифедипин) на уровень глюкокортикоидных рецепторов III типа.

Таблица 3. Влияние нифедипина и верапамила на плотность глюкокортикоидных рецепторов II и III типов цитозоля печени крыс *in vitro*.

Характер воздействия	Глюкокортикоидные рецепторы II типа фмоль/мг белка	Глюкокортикоидные рецепторы III типа фмоль/мг белка
Контроль	$27,74 \pm 2,35$	$27,41 \pm 2,48$
Нифедипин		
10^{-7} М	$23,69 \pm 2,15$	$32,41 \pm 2,41$
10^{-6} М	$23,29 \pm 2,55$	$59,52 \pm 2,55^*$
10^{-5} М	$31,89 \pm 2,28$	$141,33 \pm 2,79^*$
Верапамил		
10^{-7} М	$26,80 \pm 2,02$	$19,89 \pm 2,50$
10^{-6} М	$28,88 \pm 1,48$	$16,04 \pm 1,95^*$
10^{-5} М	$28,74 \pm 1,80$	$13,76 \pm 1,89^*$

Примечание: * - достоверность различий по сравнению с контролем, $p < 0,05$.

При различных стрессовых воздействиях происходит повышение уровня глюкокортикоидов, обеспечивающих устойчивость организма к неблагоприятным воздействиям [26]. Рецепторный механизм реализации эффекта глюкокортикоидов включает взаимодействие глюкокортикоидов с гетероолигомером глюкокортикоидного рецептора, диссоциацию из стероидрецепторного комплекса белков

теплового шока, активацию и димеризацию, транслокацию лиганд-активированного гомодимера глюкокортикоидного рецептора в ядро клетки и индукцию экспрессии генов [27]. При этом уровень глюкокортикоидных рецепторов II типа в цитозоле клетки снижается адекватно повышению концентрации глюкокортикоидов [28].

Согласно полученным в исследованиях данным, геморрагический шок вызывает достоверное повышение содержания кортикостерона в крови и снижение плотности глюкокортикоидных рецепторов II типа в цитозоле печени крыс (см. табл. 1). Нифедипин восстанавливает плотность глюкокортикоидных рецепторов II типа в цитозоле печени и снижает содержание кортикостерона в крови крыс при геморрагическом шоке до уровня интактных животных. Очевидно, что снижение уровня кортикостерона у этих животных обусловлено антистрессорным эффектом нифедипина. В исследованиях на добровольцах установлено, что введение нифедипина вызывает ингибирование секреции АКТГ и кортизола [19]. Известно, что в результате уменьшения повышенной концентрации кортикостерона в крови предотвращается процесс истощения глюкокортикоидных рецепторов II типа. Восполнение этих рецепторов происходит быстро и, более того, без участия процессов биосинтеза белка [28]. В этой связи становится понятной причина повышения плотности глюкокортикоидных рецепторов II типа у животных с геморрагическим шоком под влиянием нифедипина.

В модельных опытах нифедипин только в максимальной концентрации (10^{-5} М) обнаруживал тенденцию к повышению функции глюкокортикоидных рецепторов II типа цитозоля печени. Исключительно выраженное дозозависимое влияние нифедипин оказывал на плотность глюкокортикоидных рецепторов III типа *in vitro*. Максимальная концентрация нифедипина (10^{-5} М) повышала число связывающих мест для кортикостерона на глюкокортикоидном рецепторе III типа более чем в 5 раз (см. табл. 3). Физиологическая роль глюкокортикоидных рецепторов III типа изучена недостаточно. По данным Ху [29], глюкокортикоидные рецепторы III типа, несмотря на низкую аффинность, индуцируют активность тирозинамино-трансферазы при высоких концентрациях природных глюкокортикоидов. Эта индукция активности тирозинаминотрансферазы полностью ингибируется антиглюкокортикоидом RU 486. Таким образом, биологическая роль глюкокортикоидных рецепторов III типа при воздействии высоких концентраций глюкокортикоидов сходна с глюкокортикоидными рецепторами II типа.

Верапамил, так же как и нифедипин, угнетает гипоталамо-гипофизарно-кортико-адреналовую систему, о чем свидетельствует снижение содержания кортикостерона в крови при его применении (см. табл. 2). В то же время влияние верапамила на уровень глюкокортикоидных рецепторов II типа при геморрагическом шоке принципиально отличается от действия нифедипина. При применении верапамила значительно уменьшается специфическое связывание [3 H]-ацетонида триамцинолона рецепторами II типа. Для выяснения причины такого выраженного снижения связывающей способности этих рецепторов под влиянием верапамила при шоке требуется проведение специальных исследований. На способность нестероидных препаратов ингибировать функцию глюкокортикоидных рецепторов II типа указывают ряд авторов. Так, при воздействии терапевтическими и фармакологическими концентрациями (0,1 - 100 нг/мл) напроксена или индометацина на синовиальные фибробласты человека эти препараты даже в терапевтических концентрациях значительно снижали плотность глюкокортикоидных рецепторов II типа в синовиальных клетках [30]. Нестероидные противовоспалительные препараты (салицилат натрия) и препараты пиразолонового ряда (анальгин) снижают измеряемую константу взаимодействия и плотность глюкокортикоидных рецепторов II типа цитозоля печени [31]. При изучении влияния налоксона на объем кровопотери, необходимой для снижения артериального давления до 80, 60 и 40 мм рт.ст., установлено, что введение налоксона (10 мкг) приводило к значительному увеличению объема

СВОЙСТВА ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ШОКЕ

кровопотери, необходимого для снижения артериального давления от 60 до 40 мм рт.ст. у крыс с ложной операцией, в то время как у адреналэктомированных животных эффект налоксона отсутствовал. Заместительная терапия кортикостероном приводила к положительному эффекту налоксона на объем кровопотери у адреналэктомированных крыс. Влияние заместительной терапии кортикостероном у адреналэктомированных животных утрачивалось в результате предварительного введения синтетического антагониста глюкокортикоидных рецепторов RU 486 (100 мкг). Следовательно, для проявления налоксоном гемодинамического действия при геморрагической гипотензии у крыс необходимо его взаимодействие с глюкокортикоидными рецепторами II типа [32]. Молекулярный механизм регуляции плотности глюкокортикоидных рецепторов нестероидными препаратами исследован в работе Vallette et al. [33]. Так, нестероидные препараты ингибируют специфическую функцию глюкокортикоидных рецепторов путем взаимодействия с локусами, расположенными вне специфических мест связывания гормона в молекуле глюкокортикоидного рецептора, что вызывает изменения конформации рецептора.

Причины снижения связывающей способности рецепторов III типа цитозоля печени интактных крыс под влиянием верапамила в условиях *in vitro* также нуждаются в специальном исследовании. Однако известно, что глюкокортикоидные рецепторы III типа обладают более высокой скоростью ассоциации, чем глюкокортикоидные рецепторы II типа, и это препятствует связыванию гормона глюкокортикоидными рецепторами II типа до тех пор, пока не заканчивается насыщение кортикостероном глюкокортикоидных рецепторов III типа [26]. Таким образом, уровень глюкокортикоидных рецепторов III типа является физиологическим регулятором аккумуляции кортикостерона в клетке, выраженности насыщения кортикостероном глюкокортикоидных рецепторов II типа и биологической активности гормона. Снижение функции глюкокортикоидных рецепторов III типа под влиянием верапамила, по-видимому, имеет физиологические последствия. Так, в отличие от нифедипина, даже медленное введение верапамила животным при геморрагическом шоке вызывало усиление гипотонии. Учитывая то, что глюкокортикоидные рецепторы III типа выполняют буферную роль в стабилизации внутриклеточного уровня кортикостерона [34], а последний играет важную роль в регуляции артериального давления [32], не исключено, что снижение плотности глюкокортикоидных рецепторов III типа под влиянием верапамила играет существенную роль в усилении гипотонии.

Снижение плотности глюкокортикоидных рецепторов II типа и уровня кортикостерона у животных при геморрагическом шоке под влиянием верапамила реализуется, возможно, с участием глюкокортикоидрецепторного механизма регуляции ренин-ангиотензиновой системы. Центральное место в этой системе принадлежит ангиотензинпревращающему ферменту (АПФ), который переводит ангиотензин I в ангиотензин II (мощный вазоконстриктор [35]). Клетки сосудистого эндотелия содержат специфические глюкокортикоидные рецепторы II типа, которые взаимодействуют с глюкокортикоидами, образуют стероид-рецепторные комплексы, а последние транслоцируются в ядро клетки, усиливая биосинтез АПФ *de novo* [36]. Следовательно, ингибирование функции глюкокортикоидных рецепторов II типа в клетках сосудистого эндотелия и угнетение секреции кортикостерона под влиянием верапамила, по-видимому, является важнейшим звеном снижения активности АПФ, определяющего гипотензивный эффект при геморрагическом шоке.

Резюмируя представленные материалы, можно заключить, что нифедипин восстанавливает нарушенную при шоке функцию истинных глюкокортикоидных рецепторов, что, возможно, связано с нормализацией биоэнергетики клетки за счет уменьшения концентрации внутриклеточного Ca^{2+} . Препарат поддерживает АД на субнормальном уровне, уменьшает количество животных с декомпенсированным

течением шока, что позволяет рекомендовать его для включения в схемы противошоковой терапии. Верапамил угнетает функцию глюкокортикоидных рецепторов II типа при шоке, что, вероятно, является одной из причин выраженного снижения АД при его применении. В связи с этим, использование верапамила при шоке может иметь отрицательные последствия. Несомненно, вышеизложенные материалы открывают перспективу дальнейшего углубленного исследования механизмов, связывающих рецепторопосредованную гормональную регуляцию с внутриклеточным метаболизмом Ca^{2+} .

ЛИТЕРАТУРА

1. Siesjö B.K. (1981) *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **1**, 155-188.
2. Биленко М.В. (1989) Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). М.
3. Charest R., Blackmore P. F., Exton J. H. (1985) *J. Biol. Chem.*, **260**, 15789-15794.
4. Hansford R. G., Castro F. (1985) *Biochem. J.*, **227**, 129-136.
5. Лукьянова Л. Д. (1989) В сб.: Фармакологическая коррекция гипоксических состояний., 11-44.
6. Багиров А. М. (1998) Бюл. exper. биол. и мед., **125**, 465-468.
7. White B. C., Winegar C. D. Wilson R.F. et al. (1983) *Critical Care Med.*, **11** (3), 202-207.
8. Казан В.Е., Савов В.М., Диденко В.В. и др. (1983) Бюл. exper. биол. и мед., № 4, 46-48.
9. Кожура В. Л., Носова Н. В., Новодержкина И. С. (1998) Бюл. exper. биол. и мед. № 9, 13-15.
10. Коваленко Н. Я., Мацневский Д.Д. (1993) Бюл. exper. биол. и мед., **116**, 469-472.
11. Сёмкина Г. А., Мацневский Д.Д., Мирзоян Р. С. (1994) **57** (6), 24-26.
12. Голиков П. П., Кожевникова Л. М., Николаева Н. Ю. и др. (1997) *Вопр. мед. химии*, **43**, 139-147.
13. Удовиченко В.И., Кожевникова Л.М. (1993) В кн.: Актуальные проблемы патофизиологии экстремальных состояний., С-Пб., с.124-125.
14. Gadliardi A., Collins D. C., Kornel L., et al. (1994) IX Intern. Congr. Horm. Ster., Dallas, 151.
15. Тенпермен Дж., Тенпермен Х. (1989) Физиология обмена веществ и эндокринной системы. М.
16. Сергеев П. В., Шимановский Н. Л. (1987) Рецепторы, М., Медицина.
17. Beato M., Feigelson P. (1972) *J. Biol. Chem.*, **247**, 7890-7896.
18. Gustafsson J., Carlstedt-Duke J., Okret S., et al. (1984) *J. Steroid Biochem.*, **20**, 1-4.
19. Jackson R.V., Jackson A.J., Grice J.E., Vella R.D. (1989) *J.Clin. Exper. Pharmacol. Physiol.*, **16**, 257-261.
20. Al-Waili N.S. (1989) *J.Clin. Exper.Pharmacol. Physiol.*, **16**, 715-718.
21. Голиков П.П., Удовиченко В.И., Калинин В.Н. и др. (1996) *Патол. физиол.*, **1**, 9-13.
22. Гваладзе М.Д. (1990) Мат. XIX Респ.научн. конф. молодых медиков Грузии, Тбилиси, 191.
23. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. (1994) *Вопр. мед. химии*, № 2, 9-12.
24. Scatchard G. (1949) *Ann.N.Y. Acad. Sci.*, **51**, 660-672.
25. Голиков П.П. (1998) *Клин. мед.*, **5**, 8-14.
26. Голиков П.П. (1988) Рецепторные механизмы глюкокортикоидного эффекта. М.
27. Bamberger Ch.M., Schulte H.M., Chrousos G.P. (1996) *Endocrine Reviews*, **17**, 245-261.
28. Ishii S. (1981) *Endocr. Jap.*, **28**, 293-304.
29. Xu R.B., Le Y.Y., Gong Q.Z. (1994) IX Intern. Congr. Horm. Ster., Dallas, 122.
30. Pelleiter J., Ranger P. (1994) *J. Rheumatol.*, **21**, 1748-1752.

СВОЙСТВА ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ШОКЕ

31. Голиков П.П. (1994) Биохимия, **59**, № 5, 703-711.
32. Eijgelshoven M.H.J., De Kloet E.R., Van den Berg D.T. (1991) Europ. J. Pharmacol., **205**, 183-189.
33. Vallette G., Vanet A., Nunez E. (1991) Endocrinology, **129**, 1363-1369.
34. Beato V., Feigelson P. (1972) J. Biol. Chem., **247**, 7890-7896.
35. Голиков П.П. (1997) Пробл. эндокринолог., **4**, 51-54.
36. Kifor I., Dzau V.J. (1989) Circulat.Res., **60**, 422-428.

Поступила 05.11.01.

INFLUENCE OF NIFEDIPINE AND VERAPAMIL ON CYTOSOLIC GLUCOCORTICOID RECEPTOR PROPERTIES IN THE HAEMORRHAGIC SHOCK.

P.P.Golikov¹, L.M.Kozhevnikova², N.Yu.Nickolayeva¹, Yu.V.Arkhipenko²

¹Sklifosovsky Institute for Emergency Medicine,
Russia Moscow, B. Sukharevskaya pl.,3, 129010 Phone: (7.095) 928-3415; (7.095) 929-1224.

²Research Institute of General Pathology and Pathophysiology.

Function of rat liver cytosolic glucocorticoid receptors in the haemorrhagic shock and the effects of verapamil and nifedipine were investigated. Nifedipine administration normalised hepatic receptor functioning affected by the shock. Verapamil administration to animals subjected to shock treatment caused further suppression of the receptor functioning. Both drugs reduced blood corticosterone level in hemorrhagic animals up to control level. Verapamil potentiated hypotension and this deteriorated the course of posthaemorrhagic period. This effect may be at least partially attributed to verapamil-induced inhibition of glucocorticoid receptor type II. Nifedipine maintained BP in the subnormal level and reduced the number of animals with the decompensated shock course, which is probably associated with its positive influence on glucocorticoid receptor properties and permits to recommend an introduction of this drug into the complex therapy of the shock.

Key words: haemorrhagic shock, cytosolic glucocorticoid receptors, corticosterone, verapamil, nifedipine.