

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛОКАЛЬНОЙ СОСУДИСТОЙ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ: ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ И ВОЗРАСТА

Н. Г. Соловьева, к.б.н.

Ионизирующие излучения, как естественный фактор среды, являются необходимым условием эволюции и существования живых организмов. Однако при техногенных авариях источники ионизирующих излучений становятся одним из основных факторов экологического загрязнения. По данным клинических и эпидемиологических исследований на территориях, загрязненных радионуклидами, отмечен не только рост числа сосудистых заболеваний, но и существенное их омоложение. Причины этого не всегда однозначны и требуют дополнительных научных исследований. Согласно классическим представлениям радиобиологии, радиочувствительность организма в значительной степени определяется периодом его развития в онтогенезе. В этой связи, исследования возрастных особенностей функции и регуляции сосудистой системы, ее пострadiационной модификации на разных этапах онтогенетического развития организма являются актуальными и важным условием для успешной разработки вопросов патогенеза и лечения сосудистых заболеваний, в том числе и лучевой этиологии.

Пострадиационная динамика функционального состояния сосудистой системы в значительной степени опосредуется изменениями механизмов ее нейрогуморальной регуляции. Немаловажная роль при этом принадлежит модификации местных регуляторных факторов, в частности, локальной ренин-ангиотензиновой системе (РАС), механизм действия которой в последнее время привлекает все большее внимание исследователей. Локальная сосудистая РАС регулируется независимо от циркулирующей РАС, принимает активное участие в механизмах сосудистого гомеостаза и генезиса ряда патологических состояний: атеросклероз, гипертензия, сердечная недостаточность, сосудистое ремодулирование и другие [1]. Функциональные эффекты локальной РАС во многом определяются действием октапептида ангиотензина II (Анг II). Вазоактивные эффекты последнего опосредуются стимуляцией специфических ангиотензиновых рецепторов, сопряженных с ГТФ-связывающими белками (G-белками) и вторичными мессенджерными системами, вызывающими мобилизацию внутриклеточного  $Ca^{2+}$  и сосудистое сокращение [2]. При этом вазоконстрикторные реакции инициируются не только циркулирующим Анг II, но и Анг II, образованным локально в сосудистой стенке. Существенная роль в реализации процессов метаболического синтеза ангиотензиновых пептидов принадлежит эндотелию. В частности, эндотелиальные клетки экспрессируют ангиотензин-превращающий фермент (АПФ), который трансформирует Анг I в Анг II [3]. Стимуляция расположенных на поверхности эндотелиоцитов ангиотензиновых рецепторов, запускает также процесс образования и высвобождения как эндотелиальных вазоконстрикторов, таких как, эндотелины [4], так и вазодилаторов, в частности, оксида азота (NO), оказывающего ингибирующее влияние на формирование вазоактивных эффектов Анг II [5]. Таким образом, локальная РАС представляет собой сложную цепочку взаимодействия ее составляющих, изменения и нарушения в функционировании которых могут приводить к дисфункциям в сосудистой системе и, как следствие, во всем организме.

Учитывая вышесказанное, целью настоящей работы явилось изучение влияния ионизирующих излучений в дозе 1 Гр различной мощности на функциональную активность локальной РАС аорты на разных стадиях постнатального развития организма.

### Методы исследований

Исследования выполнены на 160 белых крысах-самках стадного разведения, выращенных в виварии ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси». Были сформированы три возрастные группы экспериментальных животных: молодые – 1-месячные, зрелые – 5-месячные и старые – 18-месячные. Животных подвергали воздействию ионизирующих излучений ( $^{137}Cs$ ) на установке ИГУР ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси» в дозе 1 Гр мощностью  $9 \cdot 10^{-4}$  Гр/с (острый режим) и  $2,3 \cdot 10^{-7}$  Гр/с (пролонгированный режим). Длительность облучения при остром режиме составляла 18 мин, при пролонгированном – 48 суток. Эксперименты проводили на 10-е, 30-е и 90-е сутки пострadiационного периода. В качестве контроля использовали одновозрастных, однополюх животных. Объектом исследования являлись изолированные кольцевые сегменты нисходящей части грудной аорты с интактным эндотелием и дезэндотелизованные. При приготвлении сосудистых препаратов использовали классический метод работы с изолированными сосудами (R.F. Furchgott, J.V. Zawadzki; 1980) в модификации. У наркотизированных крыс (тиопентал натрия, 40 мг/кг) вскрывали грудную клетку и выделяли сердце с нисходящей частью грудной аорты. Выделенную аорту помещали в охлажденный до  $5-7^{\circ}C$  физиологический раствор Кребса (ммоль/л: NaCl–118; KCl–4,8; NaHCO<sub>3</sub>–24; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>–1,2; MgSO<sub>4</sub>–1,2; CaCl<sub>2</sub>–2,5; D-глюкоза–11) и очищали от жировой и соединительной ткани. Вырезали кольцевые сегменты шириной 2,5–3 мм, у половины из них удаляли эндотелий. в просвет сегмента вводили стеклянный капилляр и осторожно прокатывали его в течение 30–40 секунд по смоченной физиологическим раствором фильтровальной бумаге. Приготовленные сосудистые препараты помещали в экспериментальную камеру с циркулирующим по замкнутому кругу физиологическим раствором (95%O<sub>2</sub>+5%CO<sub>2</sub>; t=37°C). Поддержание необходимого уровня pH=7,4 осуществлялось путем дозированного поступления углекислоты через автоматический блок, управляемый pH-иономером ЭВ-74 (Беларусь). Кольцевые сегменты аорты одевали на два L-образных стальных стержня, один из которых был жестко фиксирован на основании камеры, другой – прикреплен к штоку датчика силы – механоэлектрическому преобразователю 6МХ-2Б (Россия). Сосудистые препараты растягивали с нагрузкой в 2 г, что обеспечивало развитие максимального сократительного ответа, и оставляли в таком положении в течение 30–45 мин для полной адаптации к условиям *in vitro*. Регистрацию сократительных реакций сегментов аорты проводили на самописце НЗ030-4 (Россия) при скорости движения бумаги 0,2 мм/с.

В соответствии с поставленной целью, изучали функциональную активность локальной РАС посредством стимуляции специфических ангиотензиновых рецепторов аорты соответствующими агонистами в возрастающих концентрациях (Анг I и Анг II;  $1 \cdot 10^{-10}$ – $1 \cdot 10^{-6}$  моль/л; Sigma, USA). Вазоактивные агенты вводили непосредственно

в циркулирующий перфузионный раствор. Регистрировали и рассчитывали развиваемую силу изометрического сокращения при действии вазоконстрикторных агентов (мг); показатель ингибирующего влияния эндотелия на величину сократительных реакций как разницу силы сокращения дезэндотелизованных и интактных сосудистых сегментов, и выраженную в процентах от силы сокращения препаратов без эндотелия (%); максимальную сократительную реакцию на действие агонистов ( $R_{max}$ , мг) и концентрацию, вызывающую полумаксимальный эффект ( $EC_{50}$ , нмоль/л), используя программу ENZPACK. Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили с помощью программы Microsoft Excel, используя выводы основных положений теории вероятности, математической статистики, согласно общепринятым методам при обработке экспериментальных результатов биологических исследований.

## Результаты и их обсуждение

Ключевым звеном локальной РАС является Анг II, молекулярный и клеточный механизм действия которого на сосудистую систему до сих пор остается предметом многочисленных дискуссий. Свои вазоактивные эффекты Анг II опосредует через связывание со специфическими рецепторами, расположенными на плазматических мембранах клеток (AT<sub>1</sub>- и AT<sub>2</sub>-рецепторы), и последующим сложным комплексом внутриклеточной сигнальной передачи [2]. AT<sub>1</sub>-рецепторы доминируют на ГМК сосудов, в небольшом количестве представлены на эндотелии и определяют почти все известные на сегодняшний день физиологические действия Анг II. Второй тип ангиотензиновых рецепторов (AT<sub>2</sub>-рецепторы) присутствует в сердце и сосудах, преимущественно располагаясь в адвентиции и меди, экспрессируется на очень высоком уровне в фетальных тканях, а в зрелом организме их дополнительное увеличение отмечено при некоторых патологических состояниях. Окончательный механизм внутриклеточной передачи при активации AT<sub>2</sub>-рецепторов и их функции не определены, остается открытым и вопрос о роли AT<sub>2</sub>-рецепторов в везикулярно-сосудистых заболеваниях. Анализ имеющихся на сегодняшний день экспериментальных результатов свидетельствует о том, что AT<sub>2</sub>-рецепторы выступают в качестве антагонистов AT<sub>1</sub>-рецепторов, уравновешивая вазодилататорными и пролиферативными эффектами вазоконстрикторные и рост-стимулирующие действия последних. Таким образом, участие Анг II в регуляторных механизмах сосудистого гомеостаза сводится к балансу эффектов, опосредованных AT<sub>1</sub>- и AT<sub>2</sub>-рецепторами и характеризующихся физиологическим антагонизмом между собой на внутриклеточном и функциональном уровнях.

Первоочередной задачей данной работы явилось изучение возрастных аспектов функционирования локальной РАС с тем, чтобы более точно и адекватно в дальнейшем отразить картину пострадиационных изменений в организме, подвергнувшегося воздействию ионизирующих излучений в различные возрастные периоды. Стимуляция специфических ангиотензиновых рецепторов Анг II и его предшественником Анг I на изолированных сегментах аорты, как с интактным эндотелием, так и дезэндотелизованных вызывала доза-зависимые сократительные реакции во всех исследуемых возрастных группах. При этом удалении эндотелиального слоя способствовало усилению реактивности аорты. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей, свидетельствующими о том, что эндотелизация значительно усиливает вазоконстрикцию, индуцируемую Анг II [3]. Данный факт обусловлен тем, что удаление эндотелия снимает присущее ему ингибирующее влияние на сократительные реакции ГМК, главным образом, за счет высвобождения мощного вазодилататорного медиатора – NO. Таким образом, сосудистый эндотелий вызывает модифицирующее влияние на вазоконстрикторные эффекты ангиотензиновых пептидов, сходно, как и на действие других вазоактивных агентов: норадреналина, фенилэфрина, серотонина [6]. Величина показателя ингибирующего влияния эндотелия является косвенным критерием эндотелий-зависимой дилататорной компоненты сосудистых эффектов вазоконстрикторов. Сравнивая показатели ингибирующего влияния эндотелия на сократительные реакции аорты при действии Анг II, Анг I и норадреналина (НА), следует отметить: эндотелий оказывает более сильное ингибирующее влияние на действие НА – в среднем 50 % от силы сокращения дезэндотелизованных препаратов, тогда как при действии Анг II и Анг I – 30 %. Величина ингибирующего влияния эндотелия на вазоконстрикторные эффекты НА зависит от активации адренергических рецепторов: при низких концентрациях НА она наибольшая, а при увеличении содержания агониста – уменьшается. В силу чего, основная роль при действии низких концентраций НА принадлежит рецептор-опосредованному высвобождению NO, а при высоких – базальной секреции [6]. При действии же экзогенных Анг II и Анг I зависимость величины эффекта от концентраций агонистов во всех исследуемых возрастных группах практически отсутствовала и не претерпевала достоверно значимых изменений с возрастом. Заключение составила минимально эффективная концентрация Анг II у молодых особей. Последнее может быть связано с тем, что на ранних стадиях онтогенеза наряду с базальным высвобождением NO, возможно, имеет место некоторое рецептор-стимулируемое высвобождение через AT<sub>2</sub>-рецепторы. Согласно данным других исследователей, количество AT<sub>2</sub>-рецепторов, инициирующих вазодилатацию и другие антагонистические действия на сосудистые эффекты AT<sub>1</sub>-рецепторов, в молодом возрасте значительно выше, чем в зрелом и старом [2, 7]. Однако, в целом, доминирующим компонентом в реализации ингибирующего влияния эндотелия на вазоконстрикторные эффекты Анг II и Анг I выступает базальный синтез эндотелиальных факторов расслабления. Хотя имеются отдельные данные, говорящие о том, что стимуляция эндотелиоцитов аорты крыс Анг II приводит к повышению цГМФ, и эти эффекты ингибируются аналогами L-аргинина и кальмодулин-зависимыми антагонистами, свидетельствуя тем самым об активации эндотелиальной NO-синтазы непосредственно Анг II [5].

Метаболический синтез Анг II из его предшественника Анг I в значительной степени происходит в эндотелиоцитах с помощью АПФ, активность которого определяет скорость трансформации Анг I в Анг II. Следовательно, сосудистый эндотелий выполняет ведущую роль в локальном сосудистом образовании Анг II. Однако АПФ не является единственным ферментом, способствующим локальному синтезу Анг II: в сосудах крыс и сердечной ткани установлено наличие альтернативного АПФ-независимого синтеза, основная роль в котором отводится серинпротеазе [8]. Кроме того, в крупных сосудах, таких как аорта, отмечено образование Анг II и при отсутствии эндотелиального слоя, за счет перемещения экспрессии АПФ из эндотелиоцитов в ГМК – изменение эндотелиальной доминанты на эндотелиальную [9]. Данный факт, по-видимому, и объясняет то, что на дезэндотелизованных препаратах аорты молодых, зрелых и старых крыс при действии Анг I было также отмечено развитие сократительных реакций, которые при отсутствии вазодилататорного влияния эндотелия превышали таковые на интактных препаратах.

Относительно возрастных особенностей сократительных реакций аорты при действии ангиотензиновых пептидов установлено следующее. Увеличение возраста и особенно старение организма сопровождается снижением сократительных реакций аорты при действии Анг II и Анг I. Вместе с тем, несмотря на общую возрастную динамику в ответах сосудистых препаратов при стимуляции ангиотензиновых рецепторов, следует подчеркнуть некоторые различия в самих вазоконстрикторных эффектах Анг II и Анг I. Во-первых, сократительные реакции сегментов с эндотелием и без него у молодых, зрелых и старых крыс при действии Анг I были меньше, чем при непосредственной стимуляции ангиотензиновых рецепторов Анг II. Во-вторых, не было выявлено возрастных различий в чувствительности ангиотензиновых рецепторов к Анг I. Значения  $EC_{50}$  во всех возрастных группах при действии данного пептида не различались, тогда как при прямом действии экзогенного Анг II данный показатель у молодых, зрелых и старых крыс составил  $70,1 \pm 6,4$ ;  $57,1 \pm 8,5$  и  $47,1 \pm 12,3$  нмоль/л, соответственно. Полученные результаты свидетельствуют о более высоком сродстве ангиотензиновых рецепторов к Анг II с возрастом. Как известно, при снижении концентрации медиатора, а в старом организме существенно уменьшается содержание циркулирующего Анг II, на фоне уменьшения плотности клеточных рецепторов увеличивается число структур, обладающих высокой степенью сродства к данному пептиду, т.е. чувствительность эффекторного органа повышается. Таким образом, выявленное увеличение чувствительности аорты к Анг II на поздних стадиях онтогенеза может являться неким компенсаторным фактором, способствующим поддержанию функционального состояния локальной сосудистой РАС на должном эффективном уровне – проявление саморегуляции системы. В-третьих, выраженность возрастных ослаблений эффектов Анг I была значительно больше, чем эффектов Анг II:  $R_{max}$  на интактных и дезэндоотелизованных препаратах старых крыс при действии Анг I была снижена в среднем на 46 % и 48 % по сравнению с таковой у молодых, тогда как при стимуляции Анг II – на 30 % и 23 %, соответственно ( $p < 0,05$ ). Известно, что сократительный ответ сосудов на действие Анг I отражает активность АПФ. Следовательно, данные результаты указывают на более существенное угнетение с возрастом функциональной активности АПФ по сравнению с альтерацией ангиотензиновых рецепторов. При этом, по-видимому, функциональные возможности АПФ при старении организма ослабевают в равной степени, как в эндотелиоцитах, так и в ГМК аорты. Доказательством чего выступает практически сопоставимое снижение сократительных реакций при действии Анг I на интактных и дезэндоотелизованных препаратах у старых крыс по сравнению с таковыми у молодых и зрелых особей.

На основании полученных результатов, можно сделать вывод о том, что функциональная активность локальной РАС аорты в значительной степени определяется стадией онтогенеза: в молодом и зрелом возрасте она значительно выше. При старении организма существенно возрастает интенсивность свободно-радикальных процессов, и наиболее уязвимой мишенью их действия являются мембранные белки, что находит отражение в увеличении скорости их перекисного окисления и изменении функций. Проявлением последнего выступает повреждение специфических рецепторных структур, ослабление базальной активности АПФ и уровня локального Анг II, лабильности сосудистой РАС в целом. В итоге, ослабевают вазоконстрикторные эффекты Анг II и Анг I, что связано, прежде всего, с возрастной альтерацией специфических ангиотензиновых рецепторов и угнетением активности АПФ, а не с изменением влияния эндотелиальных релаксирующих факторов. Роль эндотелиального NO в снижении вазоконстрикторных эффектов ангиотензиновых пептидов в старом организме минимальна, так как показатель ингибирующего влияния эндотелия во всех возрастных группах не претерпевал достоверно значимых изменений. Хотя отдельные авторы указывают даже на усиление эндотелиальных влияний на вазоконстрикторные эффекты Анг II с возрастом [10].

Воздействие ионизирующих излучений вызывает сосудистые нарушения, которые могут быть результатом, как структурных повреждений, так и нарушений гуморальной регуляции сосудов, что приводит к гомеостатической неустойчивости системы и ослаблению приспособительных возможностей организма в целом. Немаловажное значение при этом приобретает Анг II, т.к. показана достоверная связь между активностью РАС и интенсивностью стрессорного воздействия [11].

Пострадиационная модификация функционального состояния локальной РАС аорты у молодых и старых крыс после воздействия ионизирующих излучений в дозе 1 Гр мощностью  $9 \cdot 10^{-4}$  Гр/с характеризуется значительной активацией, что проявлялось в развитии гиперконстрикции аорты при стимуляции ангиотензиновых рецепторов Анг II. Динамика данных изменений коррелировала с возрастом: у молодых животных максимальный пострадиационный ответ наблюдался в ранние сроки после облучения, а у старых, напротив, спустя месяц.

Так, на 10-е сутки после остро облучения функциональные ответы интактных и дезэндоотелизованных препаратов аорты молодых крыс на действие Анг II превышали таковые у необлученных особей (рис. 1). При этом отмечены существенные различия в усилении констрикторных реакций по мере увеличения содержания агониста в физиологическом растворе: величина прироста силы сокращения интактных и дезэндоотелизованных сегментов при действии Анг II в концентрации  $1 \cdot 10^{-8}$  моль/л составила 165 % и 132 %, соответственно ( $p < 0,05$ ), в то время как при максимальной концентрации агониста ( $1 \cdot 10^{-6}$  моль/л) – 6 % и 6 %, соответственно. Данные особенности можно объяснить значительным увеличением в этот пострадиационный период сродства ангиотензиновых рецепторов к Анг II без изменения их плотности:  $EC_{50}$  на интактных и дезэндоотелизованных препаратах аорты облученных животных составила  $24,0 \pm 6,2$  и  $19,9 \pm 4,4$  нмоль/л по сравнению с необлученными –  $70,1 \pm 6,4$  и  $63,4 \pm 6,6$  нмоль/л, соответственно ( $p < 0,05$ ), тогда как показатели  $R_{max}$  достоверно не различались. Известно, что стресс, в не зависимости от его природы, способствует активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и, как следствие, значительному увеличению в плазме крови содержания Анг II. Длительная стимуляция сосудистых ангиотензиновых рецепторов Анг II приводит к их десенситизации. Основой этого феномена может быть либо переход рецептора в иное конформационное состояние, либо инактивация одного из последующих этапов в цепи событий, вызываемых агонистом. Выявленная *in vitro* пострадиационная динамика сократительных реакций аорты молодых крыс в зависимости от концентраций Анг II, отражающая значительный рост аффинности рецепторных структур к действию агониста при неизменной их плотности, по-видимому, является прямым результатом реакций облученного организма, направленных на поддержание регуляторного баланса в новых условиях, вызванных воздействием ионизирующих излучений. Кроме того, определенную роль в снижении роста вазоконстрикторных эффектов Анг II по мере увеличения его содержания в физиологическом растворе, возможно, выполняет НА. Данное предположение основывается на двух важных фактах. Первое – установлено значительное усиление выброса катехоламинов из надпочечников в ближайшие и ранние сроки после облучения, что свидетельствует о начальном этапе мобилизации симпатно-адреналовой системы, когда биосинтез катехоламинов сие

не перекрывается их использованием в окислительных реакциях и образовании свободных радикалов, сопровождающих лучевой стресс [12]. Второе – катехоламины, в частности, НА принимают активное участие в down-регуляции мРНК АТ<sub>1</sub>-рецепторов, приводя к снижению генной экспрессии АТ<sub>1</sub>-рецепторов и их плотности на ГМК сосудов [2]. На 30-е сутки после острого облучения у молодых крыс сохранялась сходная тенденция изменений вазоконстрикторных эффектов Анг II, но уже в значительно меньшей степени: величина прироста силы сокращения интактных и дезэндотелизованных препаратов аорты при  $1 \cdot 10^{-8}$  моль/л агониста составила 123 % и 102 %, соответственно ( $p < 0,05$ ), а при  $1 \cdot 10^{-6}$  моль/л – 2 % и 2 %, соответственно. В отдаленные сроки пострадиационного периода (на 90-е сутки) отмечалось восстановление вазоконстрикторных эффектов Анг II, хотя чувствительность ангиотензиновых рецепторов, ю-прежнему, оставалась высокой.

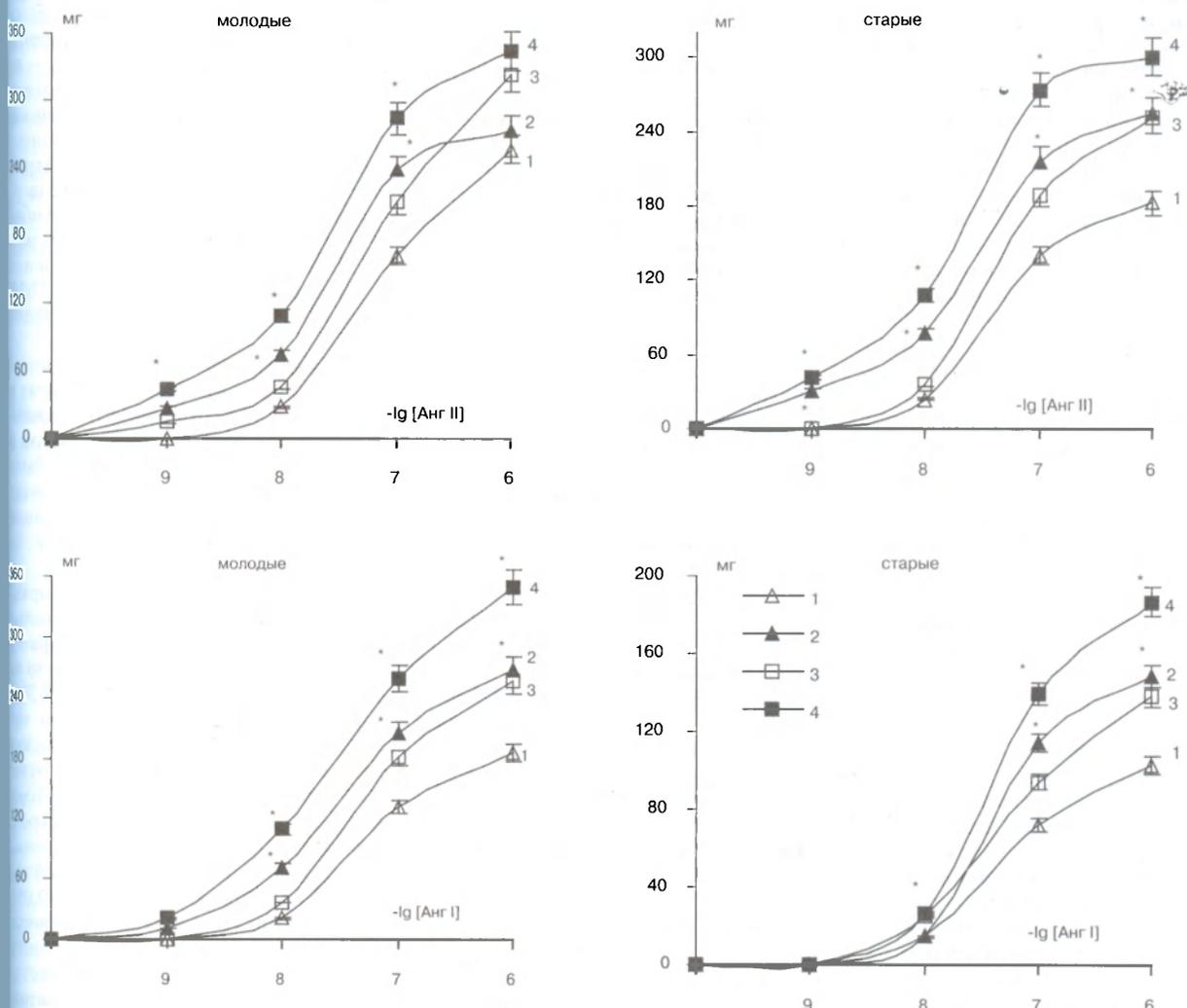


Рис. 1. Пострадиационная динамика вазоконстрикторных эффектов ангиотензина II и ангиотензина I у молодых (10-е сутки) и старых крыс (30-е сутки) после острого облучения

По оси ординат – сила сократительных реакций сосудистых препаратов, мг; по оси абсцисс – отрицательный логарифм концентраций агонистов в растворе. 1 – контроль, препараты с интактным эндотелием; 2 – препараты с интактным эндотелием облученных животных; 3 – контроль, дезэндотелизованные препараты; 4 – дезэндотелизованные препараты облученных животных; \* – различия достоверны по отношению к контролю ( $p < 0,05$ ).

При старении организма, как было указано выше, формируется новый более низкий уровень активности РАС, ее эффективность как регуляторной системы снижается. Возможно, поэтому пострадиационные функциональные нарушения в аортальной РАС у старых крыс были более выражены, чем у молодых (см. рис. 1). В частности, на 10-е сутки после острого облучения максимальный сократительный ответ изолированных сегментов аорты старых крыс ( $R_{max}$ ), инициированный Анг II, увеличивался на интактных и дезэндотелизованных препаратах на 33 % и 14 %, соответственно ( $p < 0,05$ ), что время как у молодых особей данный показатель достоверно не отличался. Выявленные пострадиационные различия в силе сокращения интактных и дезэндотелизованных препаратов у старых крыс могут быть обусловлены изменениями в активных свойств эндотелия – угнетением его дилататорных и усилением констрикторных влияний. О первом, свидетельствует значительное снижение показателя ингибирующего влияния эндотелия в этот пострадиационный период. Второй механизм может быть связан не только с ростом чувствительности ангиотензиновых рецепторов к Анг II, но и, возможно, с дополнительной активацией эндотелиновой вазопрессорной системы, поскольку известно, что Анг II стимулирует высвобождение из эндотелиоцитов эндотелина, который по своей вазоконстрикторной мощности превышает эффект Анг II в 100 раз [4]. Спустя месяц после острого облучения сократительные реакции у старых крыс в отличие

от молодых еще более возрастали и сопровождалась увеличением как чувствительности ангиотензиновых рецепторов к Анг II, так и их плотности (см. рис. 1). Доказательством выступает динамика пострадиационных изменений показателей  $EC_{50}$  и  $R_{max}$ . Первый на 30-е сутки постлучевого периода на интактных и дезэндотелизованных препаратах составил  $21,7 \pm 5,5$  и  $17,5 \pm 4,6$  нмоль/л против  $47,1 \pm 12,3$  и  $47,4 \pm 9,0$  нмоль/л в контроле, соответственно ( $p < 0,05$ ). Второй превышал таковой у необлученных старых крыс на 36 % и 16 %, соответственно ( $p < 0,05$ ).

Важное значение в возникновении пострадиационных нарушений состояния артериальных сосудов имеет дисфункция эндотелия, в частности, радиационно-индуцированные изменения NO-опосредованных дилататорных механизмов, отмеченные в работах при исследовании адренергической регуляции тонуса аорты [13]. Критерием дисфункции эндотелия выступает показатель ингибирующего влияния эндотелия, который на 10-е и 30-е сутки после острого облучения как у молодых, так и у старых крыс был значительно ниже такового в контроле. При этом выраженность пострадиационного ослабления релаксирующих влияний эндотелия у старых особей была выше по сравнению с особями, подвергшихся облучению в молодом возрасте: показатель ингибирующего влияния эндотелия у старых крыс снижался на 10-е и 30-е сутки на 50 % и 51 % (при  $1 \cdot 10^{-6}$  моль/л Анг II), у молодых – на 22 % и 18 %, соответственно ( $p < 0,05$ ). Данный факт угнетения ингибирующего влияния эндотелия на вазоконстрикторные эффекты Анг II у облученных молодых и старых крыс, казалось бы, не согласуется с обнаруженным в более ранних наших работах усилением дилататорных свойств эндотелия после аналогичного радиационного воздействия при действии НА [13]. Причины данных различий кроются во множественных фактах. С одной стороны, они заключены уже в самих типах регулирующих систем – адренергической и ренин-ангиотензиновой. Как указывалось выше, данные нейрогуморальные системы характеризуются различиями в компонентах ингибирующего влияния эндотелия при действии НА и Анг II. Первый включает рецептор-стимулируемый и базальный синтез релаксирующих факторов, тогда как вазодилататорная роль эндотелия в эффектах Анг II преимущественно определяется базальным уровнем NO. Кроме того, НА *in vitro* может значительно повышать содержание цГМФ в дезэндотелизованных сегментах аорты и уровень NO не только в эндотелиоцитах, но и ГМК за счет активации индуцибельной NO-синтазы [14].

С другой стороны, причина может быть заключена в прямом действии Анг II на сосудистую стенку, способствующему увеличению уровня супероксиданиона ( $O_2^-$ ) и гидроперекисей ( $H_2O_2$ ) в сосудистых ГМК, эндотелиоцитах и миоцитах через активацию мембрансвязанной немитохондриальной НАДФ/НАДФН-оксидазы – основного источника активных форм кислорода. Последние, в свою очередь, могут в дальнейшем вступать в реакции друг с другом и железосодержащими молекулами с образованием высоко реактивных гидроксилрадикалов. Pueyo et al. (2000) было показано влияние Анг II-индуцированного окислительного стресса на стимуляцию процессов адгезии и развитие атеросклеротических изменений в сосудистых клетках. Тем самым Анг II может вовлекаться в процессы деградации и инактивации NO, механизмы структурного повреждения сосудистой стенки и развития Анг II-индуцированной, но не катехоламин-индуцированной гипертензии [15].

Третьей причиной, по-видимому, выступает значительная активация АПФ в эндотелиальных клетках аорты, способствующая индуцированию дисфункций эндотелия через Анг II-опосредованное накопление в эндотелиоцитах эндоперекисей. Действительно, величина прироста максимальной силы сократительных реакций препаратов с эндотелием у молодых крыс при действии Анг I после острого облучения существенно превышала таковую на препаратах с удаленным эндотелием: на 10-е сутки постлучевого периода она составила 44 % и 35 %, на 30-е сутки – 24 % и 17 %, соответственно ( $p < 0,05$ ) (см. рис. 1). Параллельно с вышеуказанными изменениями модифицировалась и роль эндотелия в реализации вазоконстрикторных эффектов Анг I. Ингибирующего влияния эндотелия было не достаточно, чтобы в должной мере компенсировать рост сократительных реакций ГМК в ответ на действие ангиотензинового пептида в течение месяца после прекращения воздействия радиационного фактора. Сходная картина изменений при стимуляции Анг I выявлена и у старых животных. На 10-е сутки после острого облучения увеличивалась трансформирующая активность АПФ как в эндотелиальных, так и ГМК аорты и уменьшалось дилататорное влияние эндотелия. Как результат этого происходило усиление сократительных реакций интактных и дезэндотелизованных сегментов в ответ на действие Анг I – на 35 % и 28 %, соответственно ( $p < 0,05$ ). Спустя месяц после облучения нарушения активности АПФ сохранялись (см. рис. 1). При этом пострадиационные изменения сократительных реакций, инициированных Анг I, также как и эффекты прямого действия экзогенного Анг II, возрастали по мере увеличения пострадиационного периода: величина прироста сократительных ответов препаратов с эндотелием и без него составила 49 % и 38 %, соответственно ( $p < 0,05$ ). Ослабление гиперреактивности аорты старых крыс отмечалось лишь к 90-м суткам.

Данный рост активности АПФ в стенке аорты помимо усиления уровня локально образованного Анг II и вытекающих из этого негативных последствий способствует распаду брадикинина с развитием его относительного дефицита. Отсутствие адекватной стимуляции брадикининовых  $B_2$ -рецепторов клеток эндотелия приводит к снижению синтеза эндотелиальных факторов расслабления (NO, простагландинов, простациклина и EDHF) и повышению тонуса ГМК аорты [4]. Таким образом, пострадиационная гиперактивация локальной PAC аорты, выявленная у молодых и старых крыс, подвергнутых облучению в остром режиме, безусловно, выступает патогенетическим фактором, способствующим развитию дисфункций по типу превалирования вазоконстрикторных влияний над вазодилататорными, тем самым, инициируя и/или обостряя гипертензивные состояния, а также пролиферативные изменения аорты.

Аналогичная направленность и сходные возрастные особенности пострадиационных изменений вазоконстрикторных эффектов ангиотензиновых пептидов выявлены после воздействия ионизирующего излучения мощностью  $2,3 \cdot 10^7$  Гр/с. Вместе с тем, следует отметить некоторые важные аспекты. Во-первых, выраженность радиационных эффектов на реактивность аорты при стимуляции ангиотензиновых рецепторов Анг II у молодых и старых крыс после пролонгированного облучения была более значительной, чем после острого (рис. 2). В основе механизмов, определивших данное усиление, лежат радиационно-индуцированные перестройки в самом рецепторном аппарате – усиление плотности и/или чувствительности ангиотензиновых рецепторов к действию Анг II. В частности, на 10-е сутки после пролонгированного облучения  $EC_{50}$ , характеризующая степень сродства ангиотензиновых рецепторов к Анг II, у молодых и старых крыс была меньше таковой в контроле в 4 и 2 раза, соответственно ( $p < 0,05$ ).  $R_{max}$ , как критерий плотности рецепторов, на интактных и дезэндотелизованных

препаратах превышал таковой в контроле у молодых облученных крыс на 12 % и 10 % и у старых – на 45 % и 26 %, соответственно ( $p < 0,05$ ). В силу этого, динамика роста сократительных реакций аорты в зависимости от концентраций Анг II имела следующую тенденцию. Максимальный прирост вазоконстрикции наблюдался при действии низких концентраций Анг II ( $1 \cdot 10^{-8}$  моль/л) – у молодых на 293 % и 202 % и у старых на 144 % и 159 %, соответственно ( $p < 0,05$ ), минимальный прирост отмечался при действии высоких концентраций Анг II ( $1 \cdot 10^{-6}$  моль/л) – у молодых на 16 % и 19 % и у старых на 23 % и 24 %, соответственно ( $p < 0,05$ ). На 30-е сутки постлучевого периода вазоконстрикторные эффекты Анг II у молодых крыс несколько уменьшались, а у старых животных, напротив, даже усиливались. Хочется также подчеркнуть, что к 90-м суткам, несмотря на сохранение высокой чувствительности ангиотензиновых рецепторов к Анг II, сила сократительных реакций аорты молодых облученных крыс восстанавливалась до контрольного уровня, а у старых особей гиперконстрикция сохранялась во весь период исследований (см. рис. 2). Одной из причин этого может быть восстановление вазоактивных свойств эндотелия у молодых животных: показатель ингибирующего влияния в опытной и контрольной группах в отдаленные сроки после пролонгированного облучения оставался без изменений. Последнее может быть результатом как более высоких компенсаторно-приспособительных возможностей молодого организма по сравнению со старым, так и прямого действия на ГМК сосудов Анг II. В частности, при некоторых патологических состояниях данный пептид способен запускать механизм эндотелий-зависимой релаксации за счет непосредственного индуцирования синтеза NO и других нитрозотиольных соединений либо через АТ<sub>1</sub>-рецепторы, либо даже через активацию  $\beta_2$ -адренергических рецепторов. Однако данное предположение требует дальнейшего экспериментального подтверждения. Ингибирующее влияние эндотелия у старых крыс сохранялось на достаточно низком уровне и в более поздние сроки исследования (на 90-е сутки).

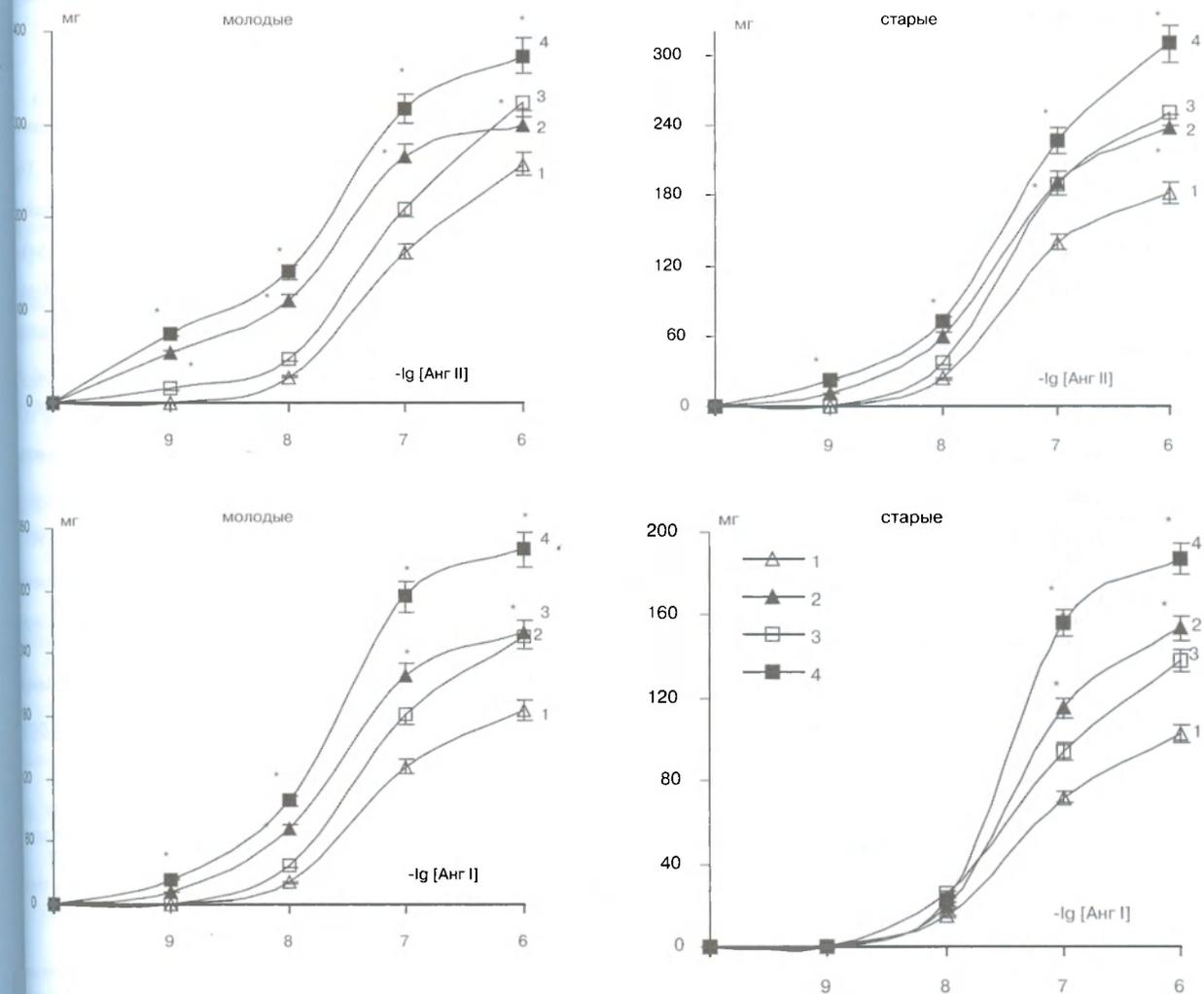


Рис. 2. Пострадиационная динамика вазоконстрикторных эффектов ангиотензина II и ангиотензина I у молодых (10-е сутки) и старых крыс (90-е сутки) после пролонгированного облучения

По оси ординат – сила сократительных реакций сосудистых препаратов, мг; по оси абсцисс – отрицательный логарифм концентрации агонистов в растворе. Обозначения как на рис. 1.

Во-вторых, характер пострадиационной модификации вазоактивных эффектов Анг I определялся длительностью постлучевого периода и возрастом облученного организма (см. рис. 2). В молодом возрасте радиационно-индуцированное усиление сокращения при действии Анг I наблюдалось уже в ранние сроки после облучения и с мере увеличения пострадиационного периода постепенно снижалось. При этом менялось соотношение роли

эндотелиальной и неэндотелиальной компоненты в сторону преобладания последней в механизмах трансформации Анг I в Анг II посредством АПФ. В силу этого у молодых животных, подвергнутых пролонгированному облучению, рост реактивности сосудистых препаратов с и без эндотелия при действии Анг I составил на 10-е сутки – 33 % и 39 %, на 30-е сутки – 17 % и 27 %, на 90-е сутки – 13 % и 22 %, соответственно ( $p < 0,05$ ). У старых крыс пострadiационные изменения носили фазный характер. В ранние сроки после облучения (на 10-е сутки) происходило значительное ослабление вазоконстрикторных эффектов Анг I, которое сохранялось и спустя месяц. Ингибирующие влияния эндотелия на величину сократительных реакций у старых крыс изменялись незначительно и их ролью в постлучевой модификации констрикторных эффектов Анг I можно пренебречь. В отдаленные сроки (на 90-е сутки), напротив, происходило усиление активности АПФ, что вызывало увеличение сокращения в ответ на действие экзогенного Анг I на 48 % и 36 % по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ) (см. рис. 2). Выяснение причин разнонаправленных пострadiационных изменений, выявленных в старом возрасте, требует дополнительного изучения.

Подводя итог, следует заключить, что локальная РАС играет важную роль в механизмах пострadiационных нарушений реактивности аорты. Радиационно-индуцированные изменения функционального состояния локальной РАС аорты проявляются усилением констрикторных эффектов ангиотензиновых пептидов, что опосредовано модификацией активности АПФ в эндотелиальных клетках и ГМК, чувствительности и/или плотности ангиотензиновых рецепторов и вазоактивных влияний со стороны эндотелия. Длительность, выраженность и характер пострadiационных нарушений определяется не только мощностью облучения, но и возрастом облученного организма. С возрастом значительно снижается надежность и лабильность локальной РАС аорты, что при дополнительном воздействии повреждающих факторов, таких как радиация, может способствовать развитию стойких и необратимых нарушений. Последние служат одной из причин возникновения и/или отягощения различных патологических состояний сердечно-сосудистой системы.

### Литература

1. Kim, S. Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases / S. Kim, H. Iwao // *Pharmacol. Rev.* – 2000. – Vol. 52. – P. 11–34.
2. Jagadeesh, G. Angiotensin II receptors: antagonists, molecular biology, and signal transduction / G. Jagadeesh // *Indian J. Exp. Biol.* – 1998. – Vol. 36. – P. 1171–1194.
3. Egleme, C. Local formation of angiotensin II in the rat aorta: effect of endothelium / C. Egleme, F. Cressier, J.M. Wood // *Br.J. Pharmacol.* – 1990. – Vol. 100. – P. 237–400.
4. Heterogeneity in vascular smooth muscle responsiveness to angiotensin II: role endothelin / L. Chen [et al.] // *Hypertension.* – 1995. – Vol. 26. – P. 83–88.
5. Brizzolara-Gourdie, A. Angiotensin II potentiates vasodilation of rat aorta by cAMP elevating agonists / A. Brizzolara-Gourdie, J.G. Webb // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1997. – Vol. 281. – P. 354–359.
6. Лобанок, Л.М. Роль эндотелия в регуляции сосудистых реакций на стимуляцию адренергических рецепторов: возрастные аспекты / Л.М. Лобанок, Н.Г. Соловьева // *Вестн НАН Беларуси. Серия мед.-биол. наук.* – 2002. – № 4. – С. 17–23.
7. Nouet, S. Signal transduction from the angiotensin II AT2 receptor / S. Nouet, C. Nahmias // *Elsevier Science Ltd.* – 2000. – Vol. 11, № 1. – PII: S1043-1049.
8. Физиология и фармакология ренин-ангиотензиновой системы / Д.В. Преображенский [и др.] // *Кардиология.* – 1997. – № 11. – С. 91–95.
9. Aortic smooth muscle cells are able to convert angiotensin I to angiotensin II / P. Andre [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* – 1990. – Vol. 173. – P. 1137–1142.
10. Angiotensin-converting enzyme inhibitor prevents age-related endothelial dysfunction / G. Kenichi [et al.] // *Hypertension.* – 2000. – Vol. 36. – P. 581–587.
11. Aguilera, G. Factors controlling steroid biosynthesis in the glomerulosa of the adrenal / G. Aguilera // *J. Steroid. Biochem. Mol.* – 1993. – Vol. 45. – P. 147–151.
12. Влияние малых доз ионизирующей радиации на уровень содержания катехоламинов и кортикостероидов в надпочечниках мышей / Е.Н. Гончаренко [и др.] // *Радиационная биология. Радиоэкология.* – 2000. – Т. 40, № 2. – С. 160–161.
13. Соловьева, Н.Г. Роль эндотелия в пострadiационной модификации  $\alpha$ -адренергических механизмов регуляции тонуса артериальных сосудов на ранних стадиях онтогенеза / Н.Г. Соловьева // *Фундаментальные и прикладные проблемы радиобиологии и радиационной биологии: сб. материалов науч.-практич. конф. молодых ученых, Минск, 23–24 апр. 2002 г.* – Минск, 2002. – С. 191–194.
14. Effect of pre-exposure to vasoconstrictors on isoprenaline-induced relaxation in rat aorta: involvement of inducible nitric oxide synthase / A. Eckly-Michel [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 128. – P. 591–596.
15. NAD(P)H oxidase mediates angiotensin II-induced vascular macrophage infiltration and medial hypertrophy / J. Liu [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2003. – Vol. 23. – P. 776–782.

### Резюме

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛОКАЛЬНОЙ СОСУДИСТОЙ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ: ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ И ВОЗРАСТА

Н. Г. Соловьева

*Изучены пострadiационные изменения констрикторных эффектов ангиотензина II (Анг II) и ангиотензина I (Анг I) на изолированных препаратах грудной аорты молодых и старых крыс, подвергшихся облучению в дозе 1 Гр ( $^{137}\text{Cs}$ , мощность  $9 \cdot 10^{-4}$  Гр/с и  $2,3 \cdot 10^{-7}$  Гр/с). Установлено, что старение приводит к снижению вазоконстрикторных эффектов Анг II и Анг I, которое опосредовано альтерацией ангиотензиновых рецепторов и усилением активности ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) в стенке аорты. Ингибирующие влияния эндотелия на вазоконстрикторные эффекты Анг II и Анг I в большей степени обусловлены базальным синтезом NO и не изменяются в онтогенезе. Воздействие ионизирующих излучений модифицирует функциональную активность локальной сосудистой ренин-ангиотензиновой системы: повышаются чувствительность и/или плотность ангиотензиновых рецепторов, изменяется активность АПФ, угнетаются дилататорные влияния эндотелия. Выявленность и длительность данных пострadiационных нарушений определяется стадией онтогенетического развития облученного организма.*

## Summary

### FUNCTIONAL ACTIVITY OF LOCAL VASCULAR RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM: INFLUENCE OF IONIZING RADIATION AND AGE

N.G. Solovyeva

Were investigated the ages postradiation changes of constrictor effects of angiotensin II (Ang II) and angiotensin I (Ang I) on the isolated preparations of a thoracic aorta young and old rats which were irradiated in dose 1 Gy ( $^{137}\text{Cs}$ ,  $9 \cdot 10^4$  Gy/s;  $3 \cdot 10^7$  Gy/s). It has been established, that the age leads to reduction of vasoconstrictor effects of Ang II and Ang I, which caused by alteration of angiotensin receptors and the depressing of activity an angiotensin-converting enzyme (ACE) in a wall of an aorta. The inhibitory influences of endothelium on vasoconstrictor effects of Ang II and Ang I in a greater degree are caused by basal synthesis NO and its do not vary during an ontogenesis. Affecting of ionizing radiation modifies the functional activity of local vascular renin-angiotensin system: the sensitivity and/or density of angiotensin receptors increases, the activity of ACE varies, the relaxing influences of an endothelium are oppressed. The expression and duration of the postradiation variations are determined by the stage of ontogenetic development of the irradiated organism.

### АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ ГЛАЗНОГО ТРАВМАТИЗМА У ЖИТЕЛЕЙ ГРОДНЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Солодовникова Н. Г., Кринец Ж. М., Рожко Ю. И., Логош М. В., Ломаник И. Ф., Чернова И. И., Царук О. Ф.  
УО «Гродненский государственный медицинский университет»  
УОЗ «Гродненская областная клиническая больница»

Травма органа зрения является одной из ведущих причин слепоты и слабовидения [6]. В последние десятилетия достигнуты большие успехи в оказании помощи пострадавшим, а также в совершенствовании реабилитационных мероприятий, благодаря внедрению микрохирургии и современных технологий [2].

Однако в связи с изменением структуры травматизма (рост частоты криминогенных и бытовых травм) повреждения глаза и орбиты стали более тяжелыми [3]. Важно то, что резко возросшие в частоте осколочные травмы глаз приобрели новые черты.

Сложность неотложной качественной диагностики при сочетано-комбинированных политравмах очевидна [5]. Исходя из этого, изменилась тактика оказания первой помощи пострадавшим и расширился круг операций, позволяющих реабилитировать больного с травмой глаза.

Наиболее достоверным критерием тяжести травмы глаза является острота зрения поврежденного глаза при его первичном врачебном осмотре.

Специализированная помощь при травме глаза является актуальной проблемой офтальмологии. Сроки оказания специализированной помощи влияют на конечный результат – зрительные функции пациента, его дальнейшую трудоспособность и образ жизни. Четко налаженная urgentная помощь необходима в борьбе за сохранение зрения.

Очередность лечебных мероприятий определяется степенью важности для пациента. В первую очередь решаются вопросы сохранения жизни, а затем – устранение органических поражений, где приоритет отдается органу зрения.

Лечение травмы глаза разделяется на две части: лечение поврежденного яблока и лечение повреждений вспомогательного аппарата.

В настоящее время офтальмохирургам приходится все чаще иметь дело с краниоорбитальными повреждениями – сложными, комбинированными переломами орбиты, требующими мультидисциплинарного подхода, унифицированных показаний и методик проведения реконструктивных вмешательств для достижения оптимальных косметических и функциональных результатов. У таких пострадавших одновременно с черепно-мозговой травмой возникают повреждения различных отделов орбиты и ее содержимого.

Реактивные состояния травмированного глаза подтверждены возникновением воспалительной реакции на травму, что усложняет правильное лечение [1]. Однако благодаря использованию специальных методов биохимического, иммунологического анализа удается выявить процессы на которые можно влиять медикаментозными средствами.

Разработка новых медикаментозных препаратов, изучение их направленного воздействия являются условием прогресса в оказании помощи больным с травматической болезнью глаз.

Целью работы явился анализ структуры глазного травматизма по материалам отделения МХГ УОЗ ГОКБ.

#### Материалы и методы

Мы изучили истории болезни 646 пациентов с различными видами повреждения органа зрения.

Мужчин было 525 человек (81,3 %), женщин – 121 чел. (18,7 %), детей – 127 человек (19,7 %).

Наибольшее число травм среди взрослого населения произошло в возрасте 18-60 лет – 449 человек (69,5 %).

Чаще травмы глаз случались весной – 28,2 %, реже зимой – 18,4 %.

В первые 6 часов после травмы было госпитализировано 343 (53,1 %), в первые сутки – 88 человек (13,6 %), спустя 24 часа – 215 человек (33,3 %).

По виду травм самый высокий процент составили бытовые травмы – 415 человек (64,2 %), производственные – 99 человек (15,3 %).

В состоянии алкогольного опьянения в стационар поступило 28 пациентов в возрасте от 21 до 56 лет с повреждениями различного характера (у 26 из них травма была бытовая).