

КОЗЛОВ ВАДИМ АВЕНИРОВИЧ

**ЛОКАЛИЗАЦИЯ И СОСТОЯНИЕ ТКАНЕВЫХ  
ТРАНСМИТТЕРНЫХ СИСТЕМ В НОРМЕ  
И ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Москва – 2006

УДК 612.014.46:615.9

ББК

А 16

Рецензенты:

Доктор медицинских наук, профессор Северин А.Е.

Доктор биологических наук Лосева Е.В.

**В.А. Козлов**

**А 16** Локализация и состояние тканевых трансммиттерных систем в норме и в эксперименте Москва. – 2006. 124 с.

Разработан и внедрен в практику флуоресцентный метод выявления ацетилхолина в тканях. Впервые исследован экстранейрональный паттерн ацетилхолина, катехоламинов, серотонина, гистамина в их взаимодействии в тимусе, миокарде, почке и почечной капсуле. Водная депривация и водная нагрузка, нагрузка 0,1н HCl и 4% бикарбонатом в объеме 6% от массы тела, экспериментальная гиперсимпатикотония, хроническое водное потребление крысами  $Cu^{++}$  или  $Zn^{++}$  50 мг/л в режиме свободного доступа, вызывают разнонаправленные изменения экстранейронального пула изучаемых трансммиттеров. Исследованные металлы изменяют реакцию тканевых трансммиттеров на водную нагрузку. В исследованных органах наблюдается неравномерное распределение ацетилхолина, катехоламинов и серотонина, с максимумом накопления в функционально-активных областях. Гиперсимпатикотония выравнивает тканевой паттерн ацетилхолина, катехоламинов и серотонина в миокарде, но индуцирует появление не равномерного распределения гистамина. Тимус, миокард, почка и почечная капсула не являются пассивными накопителями исследованных трансммиттеров, паттерн которых активно реагирует на меняющиеся условия гомеостаза.

Монография предназначена для специалистов в области биологии, физиологии, фармакологии, практикующих врачей, студентов медицинских и биологических специальностей.

**Козлов Вадим Авенирович**

## **Локализация и состояние тканевых трансммиттерных систем в норме и эксперименте**

Редактор Е.А. Хохлова

Компьютерная верстка В.А. Козлова

Подписано в печать . Формат 60 × 84/8. Бумага офсетная. Гарнитура Times.

Печать офсетная.

Усл. печ. л. . Уч.-изд. л. . Тираж 5000 экз. Заказ № .

Издательство

© Козлов В.А., 2006

# О Г Л А В Л Е Н И Е

	Стр.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	4
ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1. ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ СПОСОБ ВЫЯВЛЕНИЯ АЦЕТИЛХОЛИНА .....	7
ГЛАВА 2. ЭКСТРАНЕЙРОНАЛЬНЫЙ СИНТЕЗ И ЛОКАЛЬНЫЕ ФУНКЦИИ АЦЕТИЛХОЛИНА .....	17
2.1. Экстранейрональный синтез ацетилхолина .....	17
2.2. Холинергическая нейрональная и экстранейрональная регуляция .....	18
2.3. Влияние холина на флуоресцентный паттерн ацетилхолина в тканях почки .....	24
2.4. Влияние изменения водного баланса и кислотно-основного состояния на тканевое содержание ацетилхолина .....	28
2.5. Влияние длительного потребления $\text{Cu}^{++}$ и $\text{Zn}^{++}$ на тканевое содержание ацетилхолина и его реакцию на водную нагрузку .....	34
2.6. Влияние водной нагрузки и длительного приема $\text{Cu}^{++}$ и $\text{Zn}^{++}$ .....	41
на содержание ацетилхолина в тимусе .....	41
2.7. Реакция экстранейронального ацетилхолина миокарда .....	43
на гиперсимпатикотонию .....	43
ГЛАВА 3. ГИСТАМИНОВАЯ ПАРАКРИННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ .....	48
3.1. Тканевые эффекты гистамина .....	48
3.2. Влияние изменения водного баланса и кислотно-основного состояния на тканевое содержание гистамина .....	50
3.3. Влияние длительного потребления $\text{Cu}^{++}$ и $\text{Zn}^{++}$ на тканевое содержание .....	56
гистамина почки и его реакцию на водную нагрузку .....	56
3.4. Влияние водной нагрузки и длительного приема $\text{Cu}^{++}$ и $\text{Zn}^{++}$ на содержание гистамина в тимусе .....	60
3.5. Реакция гистамина миокарда на гиперсимпатикотонию .....	65
ГЛАВА 4. ЭКСТРАНЕЙРОНАЛЬНЫЙ СИНТЕЗ И ЛОКАЛЬНЫЕ ФУНКЦИИ КАТЕХОЛАМИНОВ И СЕРОТОНИНА .....	66
4.1. Экстранейрональный синтез катехоламинов .....	66
4.2. Дофаминовая и адренергическая нейрональная и паракринная регуляция .....	67
4.3. Экстранейрональный синтез серотонина .....	69
4.4. Влияние изменения водного баланса и кислотно-основного состояния на тканевое содержание катехоламинов и серотонина .....	72
4.5. Влияние длительного потребления $\text{Cu}^{++}$ и $\text{Zn}^{++}$ на тканевое содержание катехоламинов и серотонина и их реакцию на водную нагрузку .....	86
4.6. Влияние водной нагрузки и длительного приема $\text{Cu}^{++}$ и $\text{Zn}^{++}$ на содержание катехоламинов и серотонина в тимусе .....	94
4.7. Реакция экстранейрональных катехоламинов и серотонина миокарда .....	98
на гиперсимпатикотонию .....	98
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	109

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- 5НТ – серотонин
- АХЭ – ацетилхолинэстераза
- АЦХ – ацетилхолин
- Г – гистамин
- ГЛК – гранулярные люминесцирующие клетки
- ДК – дистальные канальцы
- ИП – интактная почка
- ИТ – тимус контрольных крыс
- КА – катехоламины
- КП – контрольная почка
- мВ – милливольт
- МО – медуллярная область
- ОЦК – объем циркулирующей крови
- ПГ – петли Генле
- ПК – проксимальные канальцы
- ПО – парамедуллярная область
- С – септа
- СК – субкапсулярные клубочки
- СКФ – скорость клубочковой фильтрации
- СО – субсептальная область
- ТК – тимус крыс группы внутреннего контроля
- ТКВ – толщина коркового вещества
- ЭНО – эндокардиальная область
- ЭПО – эпикардиальная область
- ЮК – юкстамедуллярные клубочки

## ВВЕДЕНИЕ

С точки зрения современной парадигмы, гомеостаз регулируется нейрогуморально. То есть, нервная система полностью контролирует исполнительные органы, функциональный ответ которых реализует обратную отрицательную связь. «...Медиаторная теория встретила сильную, влиятельную и длительную оппозицию. В пылу дискуссии, как это часто бывает, произошла чрезмерная поляризация точек зрения. Сторонники медиаторной теории стали утверждать, что такие вещества, как ацетилхолин, норадреналин, серотонин, обязательно связаны с нервной системой и служат, как правило, только для передачи нервных влияний. Противники этой теории стали опровергать ее, ссылаясь на возможность синтеза перечисленных веществ в ненервных и неиннервированных тканях, а также у животных, не имеющих нервной системы. Поэтому неудивительно, что победа медиаторной теории ... привела к автоматическому укоренению в умах исследователей представления о полной невозможности ненервных функций нейротрансмиттеров» [16]. Идея, что нейрональные медиаторы – абсолютная принадлежность нервной системы, никогда явно не постулировавшееся утверждение, тем не менее, в настоящее время является труднопреодолимым мыслительным барьером. Любое предположение, что классические нейрональные медиаторы, обнаруживаемые в тканях и плазме, могут иметь экстранейрональное происхождение и выполнять функцию аутоакоидов, вызывает удивительно агрессивное отрицание. Поэтому в рамках медиаторной теории не рассматриваются возможные тканевые ауторегуляторные механизмы, которые могли бы осуществляться, такими трансммиттерами, как: ацетилхолин, катехоламины, серотонин.

Фактов, свидетельствующих об условности деления медиаторов на паракринные и нейрональные, много. В настоящее время доказано наличие экстранейронального синтеза целого ряда трансммиттеров, считающихся исключительной принадлежностью нервной системы: ацетилхолина [276, 277], дофамина в почках [129, 195, 198, 308] и поджелудочной железе [260], ацетилхолина в тимусе [221], катехоламинов в миокарде [112]. В последних обзорах, где рассматриваются вопросы классификации регуляторных веществ, амины в целом называют тканевыми гормонами [56]. Г. Берн (1961) предполагал, что автоматизм миокарда контролируется ацетилхолином как локальным гормоном [10]. А.Г. Гинецинский (1964) пришел к убеждению, что: «...В отношении почки имеет место преобладание гормональных факторов над эфферентными нервами. Сами эти нервы ... обладают способностью воздействовать на различные стороны деятельности почки в виде параллельно дублирующего механизма» [22].

В доступной литературе мы не обнаружили сведений о локальном количественном распределении этих трансммиттеров, их реакции на диаметрально противоположные нагрузки, такие как: изменения водного баланса, кислотно-основного состояния, активация симпатии и парасимпатии, влияние на механизмы синтеза трансммиттеров, физиологические механизмы которых достаточно хорошо изучены.

Данные о действии трансммиттеров на периферические органы, в основном, получены в экспериментах с прямым влиянием медиаторов, экзогенно вводимых непосредственно в органнй кровоток, либо со стимуляцией их нервов. То есть, при такой технике эксперимента мы имеем случай как бы опережающего трансммиттерного ответа: естественной причины, вызывающей регуляторный ответ, нет, тогда как трансммиттерный ответ создан искусственно и именно его последствия мы изучаем. Но в ес-

тественных условиях реакция тканей никогда не бывает опережающим отражением, иначе бы мы имели случай нарушения причинно-следственных связей. Поэтому методологически более точны эксперименты, в которых создается функциональная нагрузка, привычная или специфичная для этого органа, а затем исследуется реакция его регуляторных систем.

Кроме того, по крайней мере, в отношении серотонина, можно утверждать, что его экзогенное введение не может служить моделью для исследования эффектов этого амина как эндогенного вещества, поскольку серотонин уже в микроколичествах изменяет статус практически всех трансмиссивных систем. Поэтому результат его введения это скорее паттерн эффектов высвобождения нейрональных и экстранейрональных трансмиссивных, действующих как *in situ*, так и *in transitu*, но не прямое действие серотонина на ткани-мишени. То есть, ответ органа на экзогенное введение катехоламинов, серотонина, гистамина и ацетилхолина можно расценивать более как фармакологический, чем физиологический эффект.

Поэтому, не смотря на кажущуюся ясность и изученность представленных проблем, существует необходимость изучения прямого влияния обычных функциональных нагрузок на трансмиссивный статус тканей.

В синтезе и деградации серотонина и катехоламинов принимают участие такие микроэлементы, как медь и цинк, биологически являющиеся функциональными антагонистами [3, 77, 280]. Поскольку их влияние на синтез медиаторов является более физиологичным, чем фармакологическая плохо обратимая блокада синтеза с помощью медиаторных ядов, например, резерпина, модель с длительным насыщением организма ионами этих металлов кажется более приемлемой. Обычно изучается дефицит микроэлементов, а их избыток является редкой патологией, связанной, в основном, с промышленной токсикологией. В настоящее время, в связи с бесконтрольным широким распространением пищевых добавок, содержащих иногда очень большие дозы микроэлементов, их избыточное пищевое поступление становится еще и актуальной медицинской проблемой. Клинические критерии необходимости применения тех или иных микроэлементов, вопросы дозирования, сочетаемости, влияния избытка, как на естественное отправление физиологических процессов, так и на их патоморфоз, не изучены. Более того, данная проблема не сформулирована и поэтому клинической настороженности не существует.

Таким образом, в настоящее время в тканях обнаружен синтез трансмиссивных, в отношении которых принято мнение, что они являются исключительной принадлежностью нервной системы. Учитывая важность сведений о локальном количественном распределении этих трансмиссивных в отдельных органах, мы провели целенаправленный поиск таких литературных данных, однако нам не удалось найти публикаций об изучении аутоагонистной функции тканевого пула ацетилхолина, гистамина, катехоламинов и серотонина в их сопоставлении на целостном взрослом организме. В связи с этим не представляется возможным оценить их поведение при наиболее важных изменениях гомеостаза.

## ГЛАВА 1. ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ СПОСОБ ВЫЯВЛЕНИЯ АЦЕТИЛХОЛИНА

Методы флуоресцентной гистохимии остаются абсолютно уникальными как технологии полуколичественного анализа тканевого содержания транмиттеров, позволяющие не только визуализировать их, но и в реальном масштабе времени проследить динамику количественного изменения *in situ* (дискретность зависит только от средств и «усидчивости» экспериментатора). В этом смысле люминесцентным гистохимическим методам исследования альтернативы нет. Кроме того, такой орган как почка, вообще практически не был исследован методами люминесцентной гистохимии, бывшими популярными в 60-80-х годах, а те немногие исследования, которые были все-таки проведены, касались изучения почечных нейрональных систем. Между тем, как это следует из выше приведенного изложения, существуют экстранейрональные транмиттерные системы, являющиеся удобной мишенью для исследования методами люминесцентной гистохимии.

Феномен аутолюминесценции тканей привлек внимание исследователей в 30-х годах, сразу же, как только были созданы первые ультрафиолетовые лампы. Поначалу это было просто макроскопическое наблюдение свечения органов, вызванное ультрафиолетом. Затем были применены методы микроскопической техники. Благодаря совершенствованию люминесцентной микроскопии от прямого наблюдения люминесценции в широком спектре перешли к спектральному анализу. Было установлено, что люминесценция тканей, скорее, правило, чем исключение. Естественным источником вызванной люминесценции является достаточно большая группа разнородных веществ: жиры, ретинол, флавины, NADH- и NADPH-зависимые дегидрогеназы, никотиновая кислота, окисленная форма тиамина, связанная с белком аскорбиновая кислота, филлохиноны [9]. Некоторые установленные на сегодняшний день вещества, являющиеся источником спонтанной люминесценции тканей перечислены в табл. 1.

Из данных, представленных в таблице, следует, что каждое вещество, или группа химически близких веществ, имеет индивидуальные и критически различающиеся параметры возбуждения излучения и, соответственно, параметры люминесценции. Интенсивность люминесценции зависит как от квантового выхода, так и от количества люминесцирующего вещества. Как правило, отношения между интенсивностью люминесценции и количеством вещества описываются линейным законом. Кроме того, часть люминесценции поглощается самим люминесцирующим объектом, представляющим собой *de facto* тонкую прозрачную пленку с распределенными в ней источниками люминесценции [4, 42].

Спектральная специфичность люминесценции позволяет, как выявить конкретное вещество в образце ткани, так и оценить его содержание количественно, либо полуколичественно (то есть, абсолютное содержание определено быть не может, но возможно оценить динамику изменений). В тех случаях, когда разные вещества имеют близкие параметры люминесценции, что мешает их отдельному определению, применяют либо тушение люминесценции одного из веществ специфическими тушителями, либо смещение спектра излучения исследуемого вещества с помощью гистохимических методов.

Таблица 1

Максимумы спектров возбуждения и люминесценции естественных метаболитов при комнатной температуре (по Wolfbeis O.S. [329], с дополнениями)

Метаболит	pH	$\lambda_{в}$ , нм	$\lambda_{ф}$ , нм	Литературный источник
Аденин	7,3	265	365	[160]
	1,5	265	365	[224]
Аденозин	7	248-266	-	[264]
	1,5	270	392	[224]
АМФ	7	248	312	[323]
АТФ (этанол)		280	360	[192]
Гуанин	7	275	328	[323]
	2	260	355	[147]
ГМФ	7	248	340	[323]
$\beta$ -Каротин (бензин)			450	[13]
Копропорфирин III (эфир)		401, 498	625, 690	[42]
Копропорфирин III дикатион 0,1n HCl		400, 548	595, 651	[42]
Протопорфирин IX (эфир)		408, 506, 538, 580	635	[42]
Протопорфирин IX дикатион 1,5 n HCl		410, 560	606, 662	[42]
Рибофлавин	7		520-565	[13]
Zn-Копропорфирин III		409, 542	578, 628	[42]
Zn-Протопорфирин IX		418, 550	588, 638	[42]
Цитозин	7	267	313	[160]
ЦМФ	7	248	330	[323]
Тимин	7	365	320	[160]
ТМФ	7	248	330	[323]
Урацил	7	258	309	[160]
УМФ	7	248	320	[323]

Способность вещества люминесцировать зависит только от энергии ионизации, то есть, не люминесцирующих веществ нет. Это правило ограничено устойчивостью вещества, в тех случаях, когда энергия ионизации настолько велика, что вызывает разрушение вещества. Для обхождения этого препятствия, не люминесцирующее при низких энергиях ионизации вещество может быть химически преобразовано в люминофор. Таковы, например, широко используемые методы выявления гистамина [159], катехоламинов и серотонина [183]. Поскольку при таком способе выявления никогда нельзя быть уверенным, что вещество полностью вступило в химическую реакцию, то, используя эти методы, нельзя сделать вывод об абсолютном содержании вещества в образце ткани, но возможно судить о динамике изменения количества вещества. Например, в реакцию В. Falck`а вступает не более 5-10% катехоламинов, имеющих в образце ткани. Кинетику реакции В. Falck`а можно сместить в сторону образования люминесцирующих продуктов путем витального осаждения катехоламинов на сульфате алюминия и, таким образом, увеличить выход люминесцирующего вещества [5]. Таким образом, применимость и достоверность люминесцентногистохимических методов зависит больше от умелости и знаний экспериментатора, чем от самих методов, которые достаточно объективны.



Спонтанная люминесценция тканей имеет желто-зеленый спектр, этот факт впервые был обнаружен А. Поликармом [278], а затем исследован более подробно [111]. По крайней мере, при формальдегидном способе выявления катехоламинов кроме люминесценции катехоламинов наблюдается паразитная аутолюминесценция липофусцина которая, видимо, не является вполне самостоятельной, а обусловлена накоплением ретиноидов в этом липиде и, в меньшей степени, реакциями перекисного окисления липидов [41]. Было установлено, что интенсивность люминесценции липофусцина, спектр которой совпадает со спектром флуоресценции ретинола и каротиноидов, прямо связана с их содержанием в ткани. Каротиноиды, видимо, являются более древней системой переноса электрона, чем NAD-зависимые дегидрогеназы и оксидазные системы [41]. Люминесценция липофусцина часто служит источником ошибки при визуальной (субъективной) оценке интенсивности люминесценции катехоламинов и серотонина. Тогда как при аппаратном спектральном анализе объект нередко оказывается люминесцирующим значительно слабее или сильнее, чем это оценивает зрительный анализатор. Поэтому к ранее проведенным описательным исследованиям необходимо относиться с осторожностью. Например, когда указывается, что наблюдался выход медиатора из нервного окончания, и растекание его в виде «лужиц», а интенсивность люминесценции нервов при этом снижалась, по сравнению с органами животных не подвергшимися фармакологическому воздействию [93] – это достоверное описание. Если без измерения сравнивается люминесценция катехоламинов двух интактных животных, то различия могут быть связаны как с количественными различиями уровня катехоламинов, так и липофусцина. Кроме того, визуально нельзя различить, что люминесцирует – катехоламины или серотонин.

Методы люминесцентного выявления в тканях катехоламинов и серотонина [183] и гистамина [159] впервые позволили не только визуально обнаружить локализацию биоаминов в тканях, но и количественно оценить изменение содержания биоаминов по изменению величины их флуоресценции. Чувствительность люминесцентных методов визуализации настолько высока, что позволяет зарегистрировать физиологические изменения уровня биоаминов.

Для обнаружения локализации ацетилхолина в тканях нами, на основе метода Феллмана [184], разработанного для выявления ацетилхолина в плазме, был создан метод визуализации этого медиатора в твердой фазе (Козлов В.А., Уфукова А.Ю., Толмачев А.С. Патент № 2159433, приоритет 27 октября 1999 «Способ определения ацетилхолина» [47, 231]). Химизм реакции Феллмана заключается в том, что ацетилхолин осаждается элементарным йодом, с которым образует мицеллы. Затем осажденный ацетилхолин вступает в реакцию с гидразином, при этом образуется ацетилгидразин, последний образует с салициловым альдегидом люминесцирующее соединение [184]. Наш метод заключается в том, что криостатные срезы толщиной 20 мкм монтируют на предварительно охлажденные в криостате предметные стекла. Все стекла в криостате одновременно помещаются в охлажденный до +8°С 0,5% спиртовой (48°) раствор йода на 2 мин. После осаждения ацетилхолина йодом, избыток йода отмывается этиловым эфиром. На две минуты срезы помещают в 5% гидразингидрат, после чего осторожно отмывают дистиллированной водой и высушивают. На сухие срезы наносят салициловый альдегид, и срезы помещают на 20 мин в термостат при 37°С. После инкубации салициловый альдегид смывают этиловым эфиром. В результате этой обработки в местах локализации ацетилхолина образуются

кристаллы, которые при облучении в видимой сине-фиолетовой области люминесцируют желто-оранжевым свечением  $\lambda_{\text{max}}=534-552$  нм, светофильтры N 9 и N 10 спектролюминиметрической насадки ФМЭЛ-1А. Люминесценцию образующегося из ацетилхолина люминофора измеряли на светофильтре N 9  $\lambda=534\pm 9$  нм, запирающий светофильтр ЖС18,  $\lambda_{\text{возбужд.}}=410$  нм, светофильтры ФС, БС, СЗС. Препараты микропировали на люминесцентном микроскопе «Люмам-4», люминиметрию осуществляли с помощью микролюминиметра ФМЭЛ-1А.

Разработка метода флуоресцентного выявления ацетилхолина в тканях осуществлена на криостатных срезах различных органов 60 белых беспородных крыс и в 24 модельных экспериментах на биологических подложках (тонкий слой желатина, либо сыворотки, мазки крови крыс). Во всех экспериментах отбор, обсервацию животных и количество проведенных экспериментов осуществляли согласно рекомендациям И.М. Трахтенберга и соавт. [98]. Для изучения ответа экстранейрональных систем на экспериментальные изменения гомеостаза нами были выбраны органы-мишени, в которых обнаружен экстранейрональный синтез интересующих транмиттеров, а к органам приложены нагрузки, наиболее оптимальные выполняемым им физиологическим функциям. Интенсивность нагрузки была подобрана таким образом, чтобы вызвать максимально возможный функциональный ответ.

При обработке срезов по разработанному нами методу, ацетилхолин образует желто-оранжевый флуорофор с максимумом флуоресценции при  $\lambda=534\pm 11$  нм (светофильтр №9). В срезах тимуса, как и при постановке реакций В. Falck et al. [183] или S. Cross [159], мозговое и кортикальное вещество хорошо различимы, мозговое вещество темнее кортикального; септы флуоресцируют еще меньше, выглядят как более темные полосы, окаймляющие тимусную дольку (Фото 1).

При люминесцентной микроскопии срезов предсердий и желудочков нами было обращено внимание на неравномерное распределение изучаемых транмиттеров в миокарде. Флуоресценция ацетилхолина была максимальной в перегородке предсердий (Фото 2) –  $6,2\pm 0,02$  мВ, по сравнению с желудочками –  $2,5\pm 0,01$  мВ. Флуоресценция ацетилхолина в желудочках распределена неравномерно (Фото 3А), у интактных крыс ацетилхолина больше в субэпикардальной области, чем в субэндокардиальной –  $1,31\pm 0,23$  и  $0,72\pm 0,08$  мВ, соответственно, ( $p<0,001$ ) слева, и  $0,56\pm 0,05$  и  $0,41\pm 0,02$  мВ ( $p<0,01$ ) справа. При выявлении катехоламинов по В. Falck et al. [183] распределение транмиттеров обратное (Фото 3Б): слева в субэндокардиальной области  $4,0\pm 0,08$  мВ и в субэпикардальной  $3,5\pm 0,01$  мВ. Поэтому содержание исследуемых веществ в предсердиях, желудочках и перегородке мы изучали отдельно, кроме того, различали их количество в субэпикардальной и субэндокардиальной областях.

В исследованных образцах ткани почки, после постановки реакции на ацетилхолин, светящийся компаунд обнаруживается в капсуле и кортикальной области почки (Фото 4), в стенках артерий и эндотелии (Фото 5), где распределение люминофора гомогенное. При люминесцентном исследовании развернутой и смонтированной на стекле капсулы почки наблюдается гомогенное желто-зеленое свечение, на общем фоне обнаруживаются отдельные, параллельные друг другу более яркие соединительно-тканые волокна и группы слабо-люминесцирующих клеток.

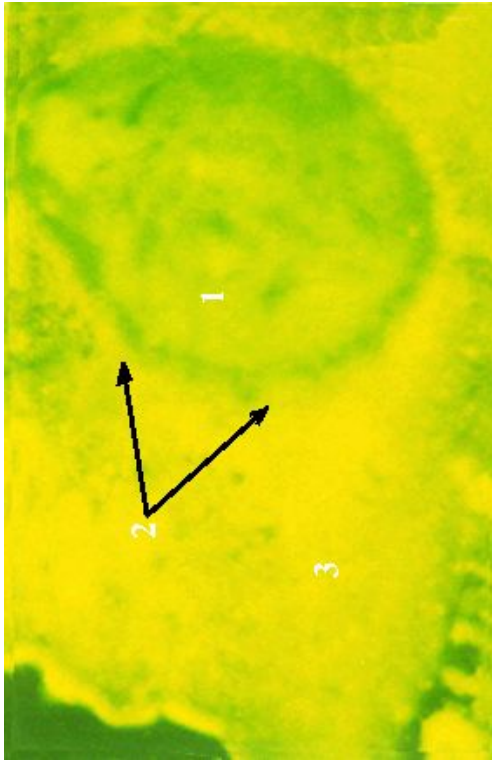


Фото 1. Флуоресценция ацетилхолина в тимусе крыс. Объектив 40<sup>×</sup>. Гомаль 1,5.  
1 – мозговое вещество; 2 – парамедуллярная область; 3 – толщина коркового вещества

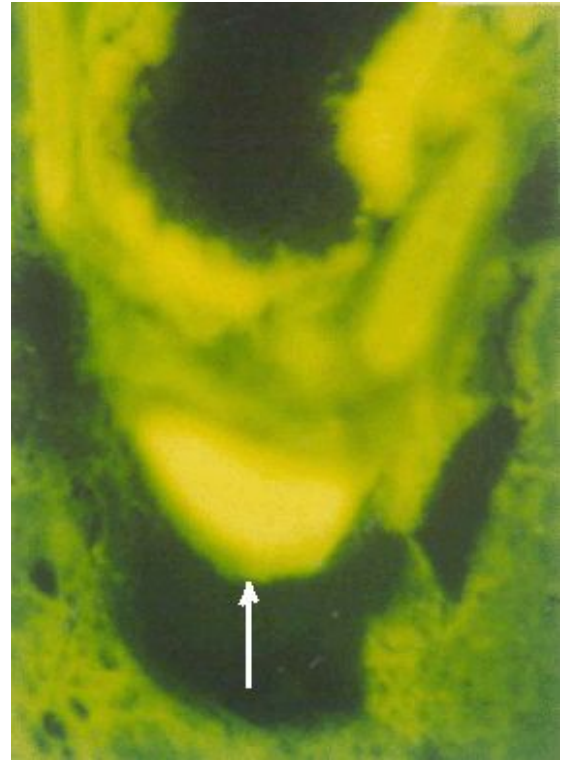
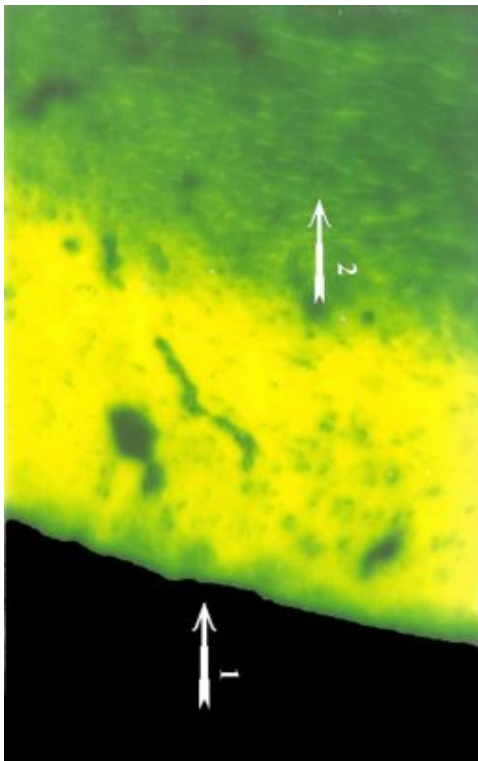
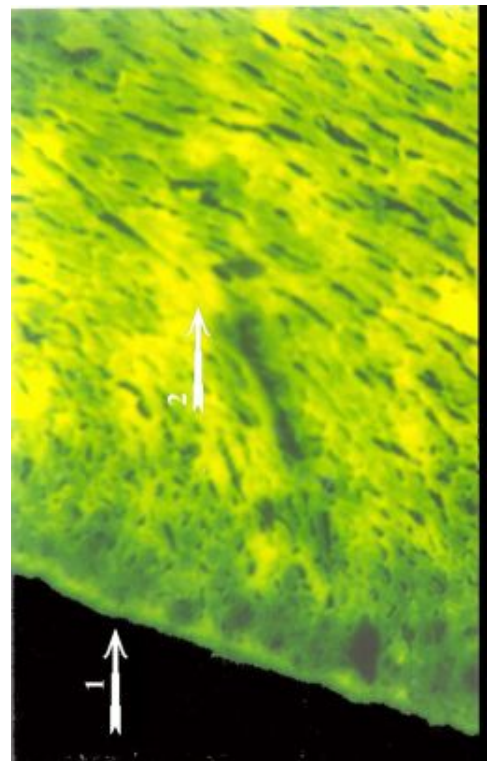


Фото 2. Флуоресценция ацетилхолина в перегородке предсердий. Объектив 40<sup>×</sup>. Гомаль 1,5<sup>×</sup>.



А)



Б)

Фото 3. Локализация в миокарде люминесценции А) ацетилхолина и Б) катехоламинов и серотонина (Falck et al. [183]). Объектив 40<sup>×</sup>. Гомаль 1,5<sup>×</sup>.  
1 – субэпикардальная область; 2 – субэндокардиальная область

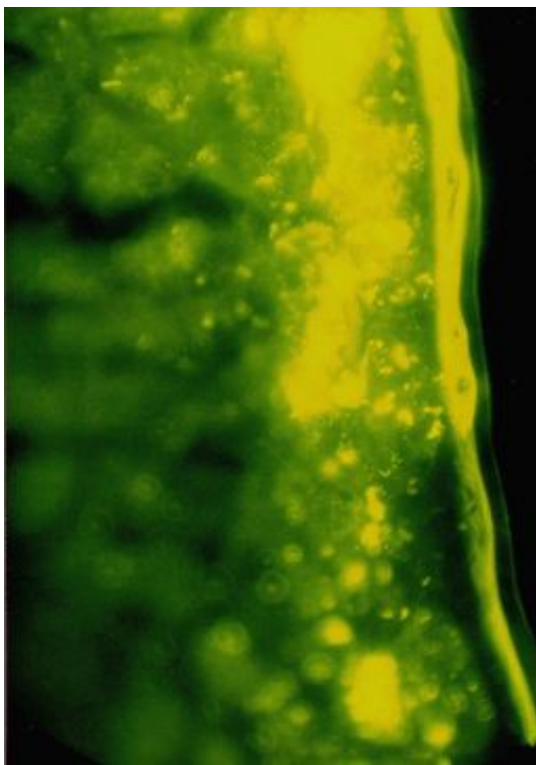


Фото 4. Флуоресценция люминофора ацетилхолина в капсуле почки. Объектив 40<sup>x</sup>. Гомаль 3.

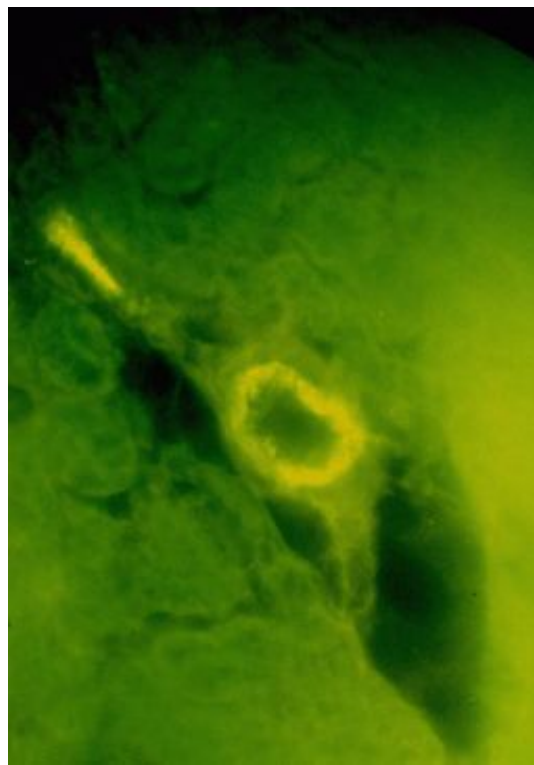


Фото 5. Флуоресценция люминофора ацетилхолина в артерии. Объектив 40<sup>x</sup>. Гомаль 3.

В клубочках (Фото 6) гомогенное расположение люминофора может меняться на скопление желто-оранжевых кристаллов. Для сравнения представлена микрофотография аутолюминесценции необработанной ткани (Фото 7).

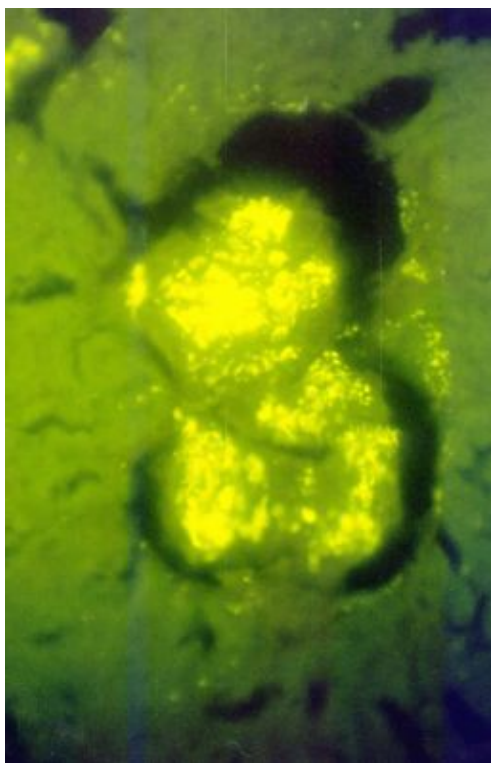


Фото 6. Флуоресценция люминофора ацетилхолина в почечных клубочках. Объектив 40<sup>x</sup>. Гомаль 3.

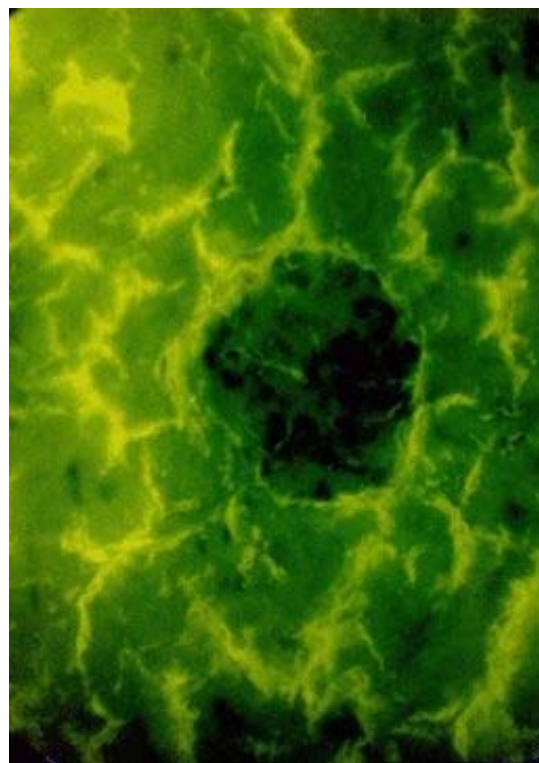


Фото 7. Аутолюминесценция intactных срезов почки. В центре виден клубочек. Объектив 40<sup>x</sup>. Гомаль 3.

Канальцы (Фото 8) хорошо подразделяются на два типа: 1) ярко флуоресцирующие субкапсулярные (10-50 мВ) и 2) менее яркие (4-20 мВ), расположенные во внутренней кортикальной зоне. В канальцах люминофор расположен гомогенно, однако по периферии, видимо в области мембран, люминофор группируется в мелкие кристаллы, собирающиеся в кайму. Спектр флуоресценции этих кристаллов полностью совпадает со спектром люминесценции люминофора, образующегося в почечной ткани и имеет максимум  $\lambda=534\pm 11$  нм (светофильтр №9 насадки ФМЭЛ 1А). В экспериментах *in vitro* также был получен желто-оранжевый люминофор как из ацетилхолинхлорида, так и из ацетоангидрида.

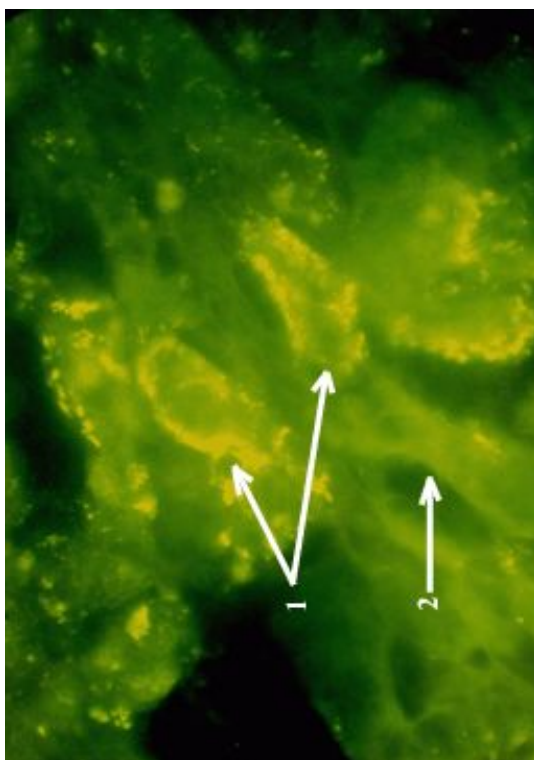


Фото 8. Флуоресценция люминофора ацетилхолина в канальцах. 1 – проксимальные канальцы, 2 – дистальные канальцы. Объектив 40 $\times$ . Гомаль 3.

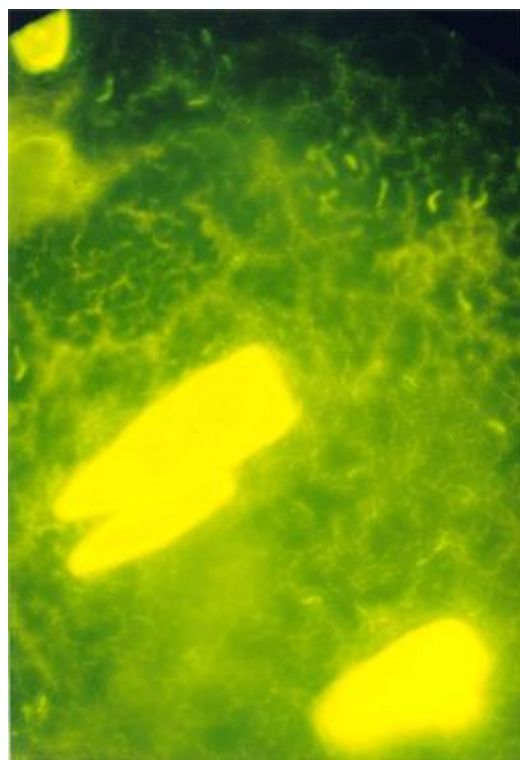


Фото 9. Флуоресценция кристаллов люминофора ацетилхолина. Объектив 40 $\times$ . Гомаль 3.

Спектральные характеристики всех полученных люминофоров показаны на Рис. 1. Оба люминофора имеют одинаковую точку плавления – +203 $^{\circ}$  (после перекристаллизации из бензола) и полностью совпадающие спектры: люминесцентный, с максимумом люминесценции при  $\lambda=552\pm 13$  нм (светофильтр №10) и инфракрасный. Характеристические пики инфракрасного спектра обоих люминофоров – 1610  $\text{см}^{-1}$ , 1560  $\text{см}^{-1}$ , 1455  $\text{см}^{-1}$ , 1370  $\text{см}^{-1}$ . При микроскопическом исследовании очищенного метиловым спиртом люминофора обнаруживается множество продолговатых кристаллов различного размера, форма которых близка к показанным на Фото 9. При их растворении в органических растворителях пик интенсивности люминесценции обоих люминофоров смещается одинаково и составляет в диметилформамиде 398 нм, в бензоле 362 нм, в ацетонитриле 370 нм. Для подтверждения зависимости интенсивности флуоресценции люминофора ацетилхолина от его концентрации в образцах нами были поставлены эксперименты на желатиновых пленках. Усредненные результаты этих

исследований представлены на Рис. 2. Коэффициент корреляции между интенсивностью флуоресценции и концентрацией ацетилхолина в образце желатина составляет 0,99 ( $p < 0,001$ ).

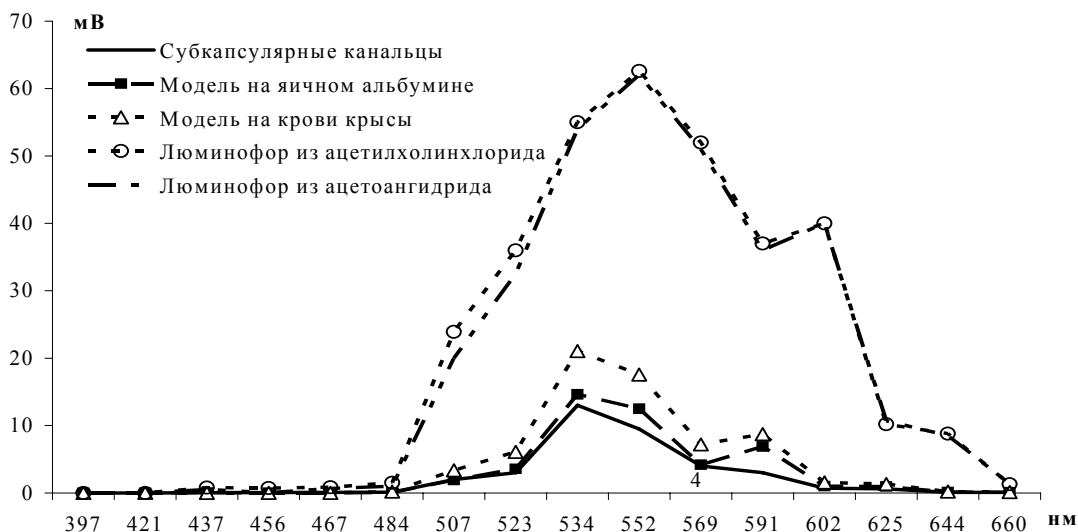


Рис. 1. Спектральная характеристика флуоресценции ацетилхолина

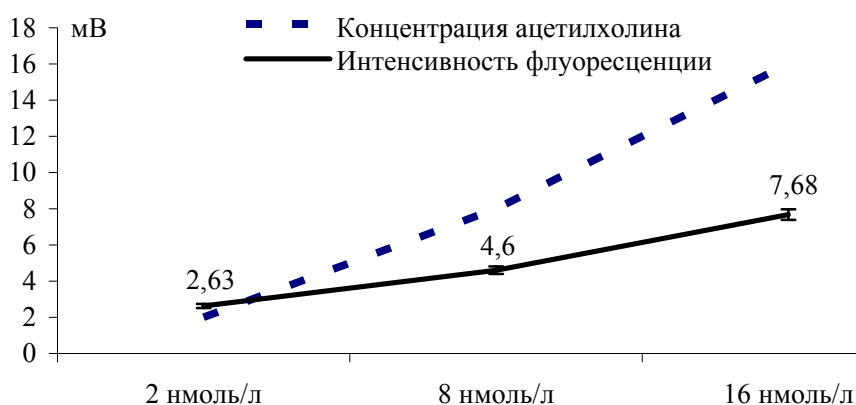


Рис. 2. Зависимость интенсивности флуоресценции люминофора ацетилхолина от его концентрации в 30% желатине.  $N=3$ ,  $n=30$

С момента опубликования S. Hestrin [204] способа выявления ацетилхолина в биологических средах (с помощью цветной реакции гидроксилamina с ацетилхолином в щелочной среде в присутствии хлорида трехвалентного железа), было разработано немало способов обнаружения ацетилхолина. Все эти методы подразделяют на две группы: биологические и химические. Биологические методы основаны на том, что в пределах физиологических концентраций ацетилхолина наблюдается линейная зависимость между концентрацией ацетилхолина в среде и реакцией на ацетилхолин тестового биологического объекта. Наиболее часто применяли метод Фюнера-Минца в модификации З.В. Беляевой [8], в котором используется спинная мышца пиявки. Кроме того, используют прямую мышцу живота лягушки, легкое лягушки, тонкую

кишку морской свинки, серозный слой желудка кролика, полоску желудка золотистого хомячка и изменение кровяного давления у кролика [18, 20].

К химическим методам относится, в частности, метод S. Hestrin [204]. Эта реакция не специфична, поскольку протекает не только с ацетилхолином, но и с другими веществами биологического происхождения, например, с эфирами и лактонами карбоновых кислот, это обстоятельство послужило поводом для достаточно жесткой дискуссии [31]. Кроме метода S. Hestrin [204], существуют следующие химические методы выявления ацетилхолина: газохроматографические и газохроматографические в сочетании с масс-спектрометрией, ферментативные, радиохимические, радиоиммунные [20]. Ни один из этих методов не может быть использован для прямой количественной визуализации местонахождения ацетилхолина в тканях. Среди химических методов количественного обнаружения ацетилхолина высокоспецифичным считается флуориметрический метод J.H. Fellman'a [184], разработанный для выявления ацетилхолина в биологических жидкостях. Чувствительность его метода составляет  $10^{-7}$  нмоль/л [20, 84, 85] Сведений об использовании метода J.H. Fellman'a для выявления ацетилхолина в тканях опубликовано так и не было. Поскольку при проведении наших исследований у нас возникла потребность в методе визуализации местонахождения ацетилхолина в тканях, мы попытались использовать метод J.H. Fellman'a [184] в твердой фазе, что увенчалось успехом в 1999 г., и было защищено патентом как «Способ обнаружения ацетилхолина» [47].

В результате проводимой по Феллману химической реакции на первом этапе на холоде образуется нерастворимый комплекс ацетилхолина с йодом, который выпадает в осадок. На втором этапе гидразингидрат реагирует с ацетогруппой ацетилхолина с образованием ацетилгидразина, который с салициловым альдегидом образует люминесцирующее соединение. Максимум люминесценции элюата, полученного по методу Феллмана, – 370/475 нм [184]. В наших экспериментах был получен желто-оранжевый люминофор, как в срезах почечной ткани, так и в модельных экспериментах на биологических подложках с максимумом люминесценции  $534 \pm 11$  нм, а также в экспериментах *in vitro* – максимум люминесценции  $552 \pm 13$  нм. Графическое сопоставление спектров люминесценции, полученных во всех экспериментах с синтезированными нами люминофорами, показывает практически полное их совпадение (Рис. 1).

Гораздо более высокая интенсивность люминесценции химически полученных люминофоров связана с тем, что для микрофлуориметрии мы заведомо брали люминофор в количестве значительно большем, чем обнаруживается в биологических объектах. Некоторые различия максимумов люминесценции люминофоров, полученных *in vitro*, и люминофоров, образующихся в биологических объектах, можно объяснить тем, что химически синтезированные нами образцы люминофора перед измерением спектра были отмыты метиловым спиртом, естественно, что биологический объект такой обработке без значительного дополнительного повреждения подвергнут быть не может. Кроме того, как показывает эксперимент с измерением спектра люминесценции растворов изучаемого нами люминофора в различных органических растворителях, спектр люминесценции сильно зависит от растворителя, а, следовательно, может зависеть и от присутствия каких-либо органических составляющих биологического объекта. Также этот эксперимент удовлетворительно объясняет, почему в экспериментах Феллмана максимум люминесценции элюата изменяется в довольно ши-

роких пределах ( $\Delta \approx 100$  нм) [184]. Очевидно, чем чище люминофор, тем больше максимум его люминесценции смещается в красную сторону.

Производные салициловой кислоты способны флуоресцировать, и могут существовать в четырех состояниях (Рис. 3), при этом цис-форма (II, III, IV) более вероятна, чем транс-форма (I). Формы I-III имеют  $\lambda_{\max} = 340$  нм [229, 288], а форма IV – 440 нм [327].

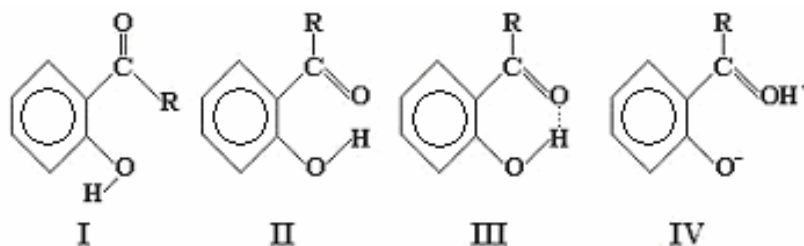


Рис. 3. Различные формы существования производных салициловой кислоты

Поскольку люминофор, получаемый по нашему методу на тканевых срезах, имеет  $\lambda_{\max} = 552$  нм, то регистрируемое нами свечение не является артефактом, обусловленным флуоресценцией салицилового альдегида или производных салициловой кислоты. Образующийся люминофор локализуется в капсуле, стенке артерий, клубочках и канальцах почки. Такое расположение синтезируемого люминофора, при постановке реакции Феллмана на почечной ткани, совпадает с литературными данными о распределении холинергических нервов в почке [95, 114], обнаруживаемых по выявлению ацетилхолинэстеразы (метод А.Е. Badawi at E.A. Schenk, 1967) в капсуле, клубочках и проксимальных канальцах.

В экспериментах с монтированием срезов на теплых стеклах с последующей 40-минутной экспозицией при комнатной температуре постановка реакции не только не вызывала образования люминофора, но и практически полностью уничтожала аутолюминесценцию. Поскольку ацетилхолин быстро разрушается как путем ферментативного гидролиза, так и неферментативно, то этот результат с достаточной долей уверенности позволяет утверждать, что при постановке реакции Феллмана в нашей модификации на почечных срезах, люминофор образовывался из ацетилхолина в местах его локализации.

Результат эксперимента с постановкой реакции на желатиновых пленках, содержащих ацетилхолин в различных концентрациях доказывает, что флуоресценция концентрационнозависима (коэффициент корреляции 0,99,  $p < 0,01$ ). Как можно видеть, сравнивая Рис. 1 и Рис. 2, ацетилхолинхлорид в концентрации 2 нмоль/л на биологических подложках флуоресцирует более интенсивно, чем на желатине. Этот эффект вероятно связан с тем, что желатин поглощает часть излучения. Тем не менее, эталонный источник флуоресценции ацетилхолина, вероятно, может быть создан, например, на агаре, что позволит точно определить содержание ацетилхолина в участке ткани.



## ГЛАВА 2. ЭКСТРАНЕЙРОНАЛЬНЫЙ СИНТЕЗ И ЛОКАЛЬНЫЕ ФУНКЦИИ АЦЕТИЛХОЛИНА

### 2.1. Экстранейрональный синтез ацетилхолина

Ацетилхолин, серотонин и адреналин синтезируются и выполняют как меж-, так и внутриклеточную трансмиссивную функцию уже в клетках трофобласта. Эти регуляторы могут участвовать во внутриклеточной сигнализации и иметь внутриклеточные рецепторы, это убедительно доказано тем, что эффективность их антагонистов по влиянию на развитие зародышей морского ежа и морских звезд прямо зависит от липофильности [15, 16]. Довольно трудно представить, что функционирование регуляторной системы, работающей с самых первых секунд жизни организма, может быть на каком-то этапе полностью прекращено за «ненужностью». Между тем, анализ литературных данных об экстранейрональном синтезе ацетилхолина выявил парадоксальное явление. Экспериментальные факты реальности этого явления получены давно, однако совершенно прошли мимо внимания их авторов, видимо, твердо уверенных в том, что ацетилхолин – нейрональный медиатор и, как таковой, экстранейрональным быть не может. Например, резекция 2/3 поджелудочной железы с перевязкой ее выводных протоков приводит к уменьшению уровня ацетилхолина плазмы (методика, разработанная А.А. Узбековым в 1948 г. и многократно апробированная в Казанском медицинском институте [45, 64]). Сами разработчики метода считали, что это связано с нарушением обмена фосфолипидов, вызванном резекцией железы. Этому эффекту могут быть даны и другие объяснения. Например, из данных Казанской школы физиологов следует, что резекция pancreas у лягушек в большей степени нарушает синтез ацетилхолина в нервах, затем в мышцах и меньше в головном мозге (в 2,5, 1,8 и 1,4 раза соответственно) [34]. То есть, содержание ацетилхолина в нервах, исходя из этих данных, больше зависит от захвата I экстранейронального ацетилхолина, чем от нейронального синтеза и транспорта в область аксона. Более того, авторы, обнаружив и, измерив скорость синтеза ацетилхолина в мышцах, совершенно не придали этому значения.

По-видимому, впервые экстранейрональный синтез ацетилхолина был обнаружен в следующих экспериментах. Инкубация срезов почек собаки в течение 30 мин в среде, содержащей  $H^3$ -холин, при воздействии низкочастотного тока 0,5-1 Гц, 20В, продолжительностью 2 мкс, либо высоко-калиевого (57мМ) раствора, уже через 3 мин вызывает появление  $H^3$ -ацетилхолина в среде. Реакция блокируется внесением в среду  $Mg^{2+}$ . Синтез  $H^3$ -ацетилхолина, индуцированный электрическим током, уменьшается тетродотоксином и гексаметонием, а неостигмин прекращает его полностью, последнее авторы посчитали доказательством наличия пресинаптической регуляции синтеза и высвобождения ацетилхолина. Интересно, что предварительная денервация почки за 7 суток до эксперимента не уменьшала, а даже увеличивала инкубируемыми почечными срезами синтез и секрецию ацетилхолина в среду [276]. Тем не менее, авторы не сделали напрашивающегося вывода, что их эксперимент может свидетельствовать об экстранейрональном синтезе ацетилхолина в почках. Это убедительно доказано в другом исследовании, в котором было обнаружено наличие экстранейронального синтеза ацетилхолина из  $H^3$ -холина в культуре корковых клеток

почки кролика. Синтез ацетилхолина полностью прекращался в безнатриевой среде и стимулировался введением в среду 300 мосмоль мочевины [182]. Денервация почки не влияет на процесс захвата холина почкой и интенсивность в ней синтеза ацетилхолина [277].

Как место экстранейронального синтеза ацетилхолина, почка не является уникальным органом. Так, денервация паращитовидных желез вызывает немедленное уменьшение содержания ацетилхолина в железах на 60% и на 65% к 28 дню денервации. Остаточный базальный уровень, видимо, является экстранейрональным [255].

В клетках крови кролика содержание ацетилхолина в 25 раз выше, чем в плазме – 3722 против 140 пкг/мл (для сравнения: С. Тучек считает, что содержание ацетилхолина в нейронах 360 нмоль/г [99], а в крови у здоровых людей –  $86,6 \pm 5,5$  мкг/мл, то есть ацетилхолина в нейронах в 16,5 раз меньше, чем в крови). Форменные элементы крови, видимо, депонируют ацетилхолин и способны активно менять его содержание в плазме в ответ на холинергические влияния. Например, внутривенное введение никотина 100 мкг/кг вызывает уменьшение ацетилхолина в клетках крови и увеличение его в плазме, следовательно, активация никотиновых рецепторов вызывает перемещение ацетилхолина из клеток крови в плазму. Поэтому авторы сделали вывод, что ацетилхолин не только медиатор, но и аутокоид [220]. В последующих экспериментах эти же авторы обнаружили, что активация мускариновых рецепторов тимуса вызывает синтез экстранейронального ацетилхолина, который действует на Т-лимфоциты как аутокринный и/или паракринный фактор, регулирующий их иммунную функцию [221].

## 2.2. Холинергическая нейрональная и экстранейрональная регуляция

Детальные исследования иннервации почек описаны в классических трудах А.Е. Смирнова [91] и В.Н. Швалева [114]. Их исследования дополнены не менее интересным обзором Д. Стопека и соавт. [95], полное обсуждение которых не является целью настоящего обзора. Поэтому здесь приводится только краткий обзор более поздних публикаций.

Не смотря на то, что получены убедительные данные о стимулирующем влиянии экзогенного ацетилхолина на высвобождение ренина (см. выше), считается, что холинергическая иннервация почек выражена слабо и не принимает участия в регуляции почечных функций, по крайней мере, в отношении выделения ренина [279]. Прямых ветвей от блуждающего нерва к почечному сплетению, несмотря на многолетние поиски, до сих пор не выявлено. Более того, установлено, что преганглионарные нервные волокна вагуса прерываются на нейронах чревного сплетения и, таким образом, функциональная активность почки непосредственно вагусом не регулируется [69]. Почечные нервы, обнаруживаемые по выявлению в них ацетилхолинэстеразы и поэтому расцениваемые как холинергические, определяются в почке собаки по ходу артерий и канальцев [114, 95]. Возможно, что они имеют происхождение из парасимпатических нервов *nn. splanchnici pelvi* и достигают почки со стороны тазового сплетения по верхнему подчревному и межбрыжеечному сплетениям [68, 106, 114, 261]. Все эти исследования справедливы для почки приматов, тогда как у крыс наличие прямых нервных контактов с канальцевым аппаратом дискуссионно [69] и даже отри-

цается [165]. Тем не менее, несмотря на отсутствие прямых нервных связей вагуса и почки, электрическая стимуляция центрального конца перерезанного блуждающего нерва снижает СКФ и увеличивает почечный кровоток и экскрецию натрия и воды, а при денервации почки этот эффект исчезает [62, 265].

Ваготомия сильно снижает экскрецию натрия, хлоридов и воды в ответ на водную нагрузку [61, 62, 321]. Но при денервации почки у собак, получающих водную нагрузку под наркозом, по сравнению с неденервированной почкой, наблюдается увеличение фракционной экскреции натрия, диуреза и клиренса воды, этот эффект блокируется атропином [276], что, свидетельствует, как о необходимости наличия холинергической иннервации почки, так и демонстрирует ее эффекты. Как уже упоминалось выше, денервация почки не влияет на процесс захвата холина почкой и интенсивность синтеза ацетилхолина в почке [276].

Противоречие между морфологическими и электрофизиологическими исследованиями может быть объяснено тем, что электростимуляция периферического конца вагуса может вызывать высвобождение ацетилхолина в общий кровоток, например, поджелудочной железой. То, что pancreas, является источником значительной доли плазменного ацетилхолина убедительно показано работами Казанской школы физиологов [34, 45]. Кроме того, холинергические нервы, в связи с отсутствием прямого способа выявления ацетилхолина, обнаруживали, в основном, по выявлению активности ацетилхолинэстеразы и холинэстеразы (псевдохолинэстераза). Тогда как в настоящее время доказано, что эти ферменты локализованы, например, на адренергических нейронах, где ацетилхолин выполняет роль регулятора высвобождения норадреналина [267]. Возможно, что, в связи с недавней разработкой поликлональных антител к интранейрональному белку-носителю ацетилхолина [125] данные о топографии холинергических нервов будут уточнены.

Почечная ацетилхолиновая регуляция реализует свои эффекты как через  $m_3$ , так и  $N$ -холинорецепторы. Так, например, у грызунов сукцинилхолин и векуроний достоверно уменьшают клиренс инулина и парааминогиппурата, однако атропин блокирует действие сукцинилхолина, но не векурония. В то же время, если сукцинилхолин вызывает прегломерулярную дилатацию почечных сосудов, то векуроний вызывает вазоконстрикцию [214]. При мечении  $m_3$ -холинорецепторов радиоактивным лигандом квинуклединил бензилатом, метка выявляется, в основном, в гладких мышцах почечных сосудов и в, меньшей степени, клетках корковых и мозговых канальцев [163]. Кроме  $m_3$ -холинорецепторов в почках идентифицированы  $N$ -холинорецепторы типа  $\alpha ER3+$ , но их функциональная роль не определена [311]. Дилатация почечных сосудов медируется  $m_3$ -холинорецепторами [179]. Как парасимпатические, так и симпатические нервные волокна входят в почку вместе с сосудами. При этом обнаруживается сильно выраженное симпатическое сплетение по ходу внутрпочечных сосудов [92, 93, 94, 95, 114], достигающее отдельных нефронов и канальцев [18, 43, 91, 106]. В отличие от холинергического контроля, по-видимому, существует прямая центральная нервная катехоламинергическая регуляция функций почек. Например, возбуждение как  $\alpha$ -, так и  $\beta$ -адренорецепторов супраоптического ядра, путем инъекции соответствующих агонистов, вызывает мощный антидиуретический эффект [314]. Аналогично, введение дофамина в полость третьего желудочка вызывает блокируемый галоперидолом антидиурез [318]. Кроме того, обнаружены дофаминергические нервы, достигающие кортикальных клубочков [166, 167].

Прямое влияние ацетилхолина на функцию почек изучено достаточно полно. Эти эффекты легко классифицируются [102] согласно морфофункциональному строению почек. Введение ацетилхолина или его аналогов в почечную артерию, вне зависимости от экспериментальной модели (люди или животные различных видов, *in vitro* или *in vivo*, либо изолированная инфузируемая почка, предварительно суженные катехоламинами сосуды, миогенная констрикция, электростимуляция почечных нервов), вызывает:

- дозозависимую дилатацию почечных сосудов [119, 127, 242];
- повышение общего или локального почечного кровотока и эффективного почечного плазматочка [200, 253];
- дозозависимое увеличение [194, 248], либо уменьшение скорости клубочковой фильтрации (СКФ), либо отсутствие влияния на СКФ [137, 258, 313];
- в малых дозах – увеличение диуреза с увеличением экскреции воды, натрия, калия, хлоридов, фосфатов и кальция [127, 153], а в больших (более 30 мкг/(кг·мин)) – выраженный антидиурез, вплоть до анурии [7].

В условиях обычной жизнедеятельности холинергическая регуляция почки может осуществляться ацетилхолином нейронального происхождения, плазменным и синтезированным *de novo in situ*. Как и в других сосудистых бассейнах, ацетилхолин вызывает дозозависимую дилатацию сосудов почки путем высвобождения NO [66, 144, 206, 218, 219, 263, 334 и многие др.]. У старых крыс, в отличие от молодых, реакция сосудов почки на введение в перфузат как ацетилхолина, так и предшественника NO, нитропруссид натрия, двухфазна, и при высоких дозах наблюдается выраженное сужение сосудов [320]. Это наблюдение было подтверждено рядом независимых исследований, в которых ацетилхолин дилатировал интактные и суживал поврежденные кровеносные сосуды [71, 188]. Аналогичный эффект наблюдается в бронхах, у здоровых крыс ингаляция ацетилхолина вызывает дозозависимую дилатацию бронхов. У крыс с поврежденным эпителием (интерстициальная пневмония, вызванная *pneumonia pneumocistica*) – малые дозы ацетилхолина (5 мкг/кг) вызывали попытку дилатации, а дозы 10 и 15 мкг/кг – бронхоспазм [35, 36]. Возможно, этот результат объясняет некоторые почечные эффекты ацетилхолина и других вазодилатирующих агентов у собак. Введение в почечную артерию малых доз ацетилхолина до 30 мкг/(кг·мин) [7] или дофамина до 3 мкг/(кг·мин) [46] сопровождается дозозависимым диурезом, а увеличение дозы выше критического уровня приводит к олигоанурии.

В почках, высвобожденный ацетилхолином оксид азота не только расширяет сосуды, но и стимулирует диурез и натрийурез [126, 298, 305]. Поскольку значительно ранее было обнаружено, что введение ацетилхолина в почечную артерию сопровождается дилатацией сосудов, диурезом, натри- и хлорурезом [275], то сам собой напрашивается вывод, что почечные эффекты ацетилхолина опосредуются через высвобождение оксида азота. По крайней мере, в почках реализация большинства эффектов через высвобождение оксида азота, видимо, характерна для ацетилхолина. Аналогично, высвобождение NO оказывает отрицательный инотропный эффект на миокард крыс [331].

Так, кроме NO-зависимого расширения почечных сосудов, увеличения диуреза и натрийуреза, ацетилхолин NO-зависимым способом тормозит высвобождение ренина [156, 208, 336]. По данным других авторов при введении ацетилхолина наблю-

дается увеличение высвобождения ренина, блокируемое антагонистом синтазы оксида азота NG-нитро-L-аргинином [292]. В то же время, блокаторы синтеза оксида азота тормозят образование и высвобождение ренина [139, 140]. Это противоречие объясняют неучтенными различиями условий проведения эксперимента. У животных с высоким симпатическим тонусом, который, в частности, обеспечивается относительной скудостью холинергической иннервации почки, по сравнению с адренергической, и высокой секрецией ренина наблюдается холинергическое торможение высвобождения ренина. Напротив, у животных с низким симпатическим тонусом и низким высвобождением ренина – увеличение. Торможение секреции ренина ацетилхолином – это прямое влияние ацетилхолина, а увеличение – опосредовано холинергической стимуляцией симпатических нервных терминалей почки [101]. Направленность эффекта оказалась дозозависимой. Низкие дозы или концентрации ацетилхолина в экспериментах на клеточных культурах тормозили образование и высвобождение ренина, а в десять раз большие – увеличивали [101]. Кроме того, в легких ацетилхолин тормозит активацию ангиотензина I [103], для чего требуются гораздо меньшие дозы, чем для торможения релиза ренина [101]. Секрецию ренина плотной субстанцией через стимуляцию высвобождения оксидом азота стимулирует не только ацетилхолин, но и непосредственно увеличение  $[Na^+]$  в моче [215].

Блокада NO-синтазы N(G)-монометил-L-аргинином 3 мг/кг у здоровых добровольцев вызывала стойкое повышение артериального давления. Сопротивление почечных сосудов возрастало на 21%, скорость клубочковой фильтрации и диурез уменьшались соответственно на 19% и 18%, а натрийурез – на 28%. Эта реакция сопровождалась уменьшением выделения свободной воды на 25%, в то время как фракционная реабсорбция натрия увеличилась в дистальном, но не проксимальном отделе. При этом не было обнаружено изменения уровня ренина плазмы. Кроме того, блокатор NO-синтазы уменьшал высвобождение дофамина в мочу [201]. Последний факт органично дополняется наблюдением ацетилхолиновой стимуляции высвобождения норадреналина и адреналина в перфузируемой головной почке карпа. Этот эффект воспроизводится как никотином, так и мускарином, а так же их агонистами, но не блокируется атропином [191]. Вызванный резекцией поджелудочной железы дефицит плазменного ацетилхолина у крыс вызывает уменьшение содержания серотонина в плазме (от  $0,43 \pm 0,047$  до  $0,27 \pm 0,03$  мкг/мл) и тканях, особенно тонкой кишки, печени и почек, в среднем на 40-45% от исходного уровня. Индуцированный резекцией поджелудочной железы локальный дефицит серотонина корректируется внутривенными инфузиями ацетилхолина, но не серотонина [64]. Таким образом, экстранейрональный ацетилхолин является индуктором синтеза другого аутокоида – серотонина.

Эксперименты К. Kawashima et al. [220] на тимусе (см. выше) демонстрируют, что нейрональный ацетилхолин, активируя м-холинорецепторы тимуса, вызывает синтез экстранейронального ацетилхолина, который и реализует взаимодействие между нервной системой и системой клеточного иммунитета.

Можно заметить, что в большинстве процитированных работ ацетилхолин выступает не как самостоятельный регулятор, а как вторичный межклеточный мессенджер – его высвобождение стимулирует синтез и высвобождение как самого экстранейронального ацетилхолина, так и серотонина и оксида азота, которые реализуют конечный эффект. Естественно, что в тех случаях, когда нервная холинергическая регуляция реализуется через экстранейрональный

синтез ацетилхолина, как промежуточного регулятора, очень трудно дифференцировать нервную и паракринную регуляцию.

Это утверждение можно подтвердить работами J.H. Burn и M.J. Rand [152] и Koelle G.B. [226, 227, 228], которые независимо друг от друга предположили, что ацетилхолин участвует в высвобождении других медиаторов и гормонов. Свою гипотезу они обосновывали теми наблюдениями, что ацетилхолинэстераза расположена как пост-, так и пресинаптически, следовательно пресинаптическая мембрана является точкой приложения действия ацетилхолина, кроме того, ацетилхолинэстераза локализована как в холинергических нейронах, так и в органах, не имеющих холинергической иннервации, например, нейрогипофизе. Более того, даже в парасимпатических ганглиях вызванное карбахолом высвобождение ацетилхолина в перфузат блокируется тубокурарином, гексаметонием и атропином, но эти блокаторы не влияют на высвобождение ацетилхолина, вызванное преганглионарной стимуляцией. Следовательно, карбахол и преганглионарная стимуляция влияют на разные способы и/или места высвобождения ацетилхолина в ганглии.

Поскольку значительная часть эффектов ацетилхолина, реализуемых через m-холинорецепторы, не является прямыми, а опосредованы либерацией оксида азота, то анализ холинергических функций, без описания нитроксидэргических систем, был бы неполным. С момента идентификации эндотелиального сосуда релаксирующего фактора как NO, стало понятно, что часть эффектов ацетилхолин реализует опосредованно через либерацию оксида азота. Поэтому, говоря об ацетилхолиновой регуляции физиологических функций, уже необходимо точно представлять, что является прямыми эффектами ацетилхолина, а что связано с высвобождением нитроксида, поскольку реакции, связанные с увеличением тканевого содержания NO могут быть частью патогенеза, а не физиологического регулирования.

К настоящему времени идентифицировано четыре изоформы NO-синтаз [100]: конституитивная нейрональная [148, 149], конституитивная эндотелиальная [244, 257], индуцибельная гепатоцитов [190], индуцибельная макрофагов [252]. Пользуясь этим морфологическим принципом классификации NO-синтаз, к вышеописанному списку можно добавить синтазу эпителия бронхов, обнаруженную M.B. Зуга и соавт. [35] с помощью методики В.Т. Норе и S.R. Vincent [209].

Уже из названий ясно, что из четырех известных форм синтаз оксида азота, три – экстранейрональные. Кроме того, оксид азота реализует свое действие путем объемной регуляции, то есть внесинаптически, а, следовательно, это паракринный регулятор, в том числе в ЦНС.

Синтез оксида азота многократно описан и не требует дополнительного рассмотрения, однако информация об NO-синтазе еще недостаточно распространена. По-видимому, вне зависимости от изоформ, этот фермент, локализован с НАДФ-диафоразой, поскольку активность обоих ферментов меняется одновременно и однонаправлено [30, 291]. Ряд авторов считает, что NO-синтаза и НАДФ-диафораза это один и тот же фермент [135, 150, 161, 209, 210, 273]. В почках НАДФ-диафораза обнаруживается в эндотелии эфферентной артериолы, macula densa, в незначительном количестве в толстой восходящей части петли Генле и других тубулярных сегментах и, возможно, в нисходящей части vasa recta, а также в гломерулах и мезангиальных

клетках [126, 186, 225]. Индукция высвобождения оксида азота осуществляется, как минимум, ацетилхолином, гистамином, брадикинином, серотонином, адениновыми нуклеотидами [65].

В легких активность НАДФ-диафоразы обнаруживается в нервах, эндотелии сосудов и эпителии бронхов, но активность фермента больше в эпителии бронхов. Интересно, что в адвентиции бронхов авторы обнаружили мелкие 5-15 мкм ветви нитридергических нервов [36]. Нейроны нитридергических нервов получили название NANC-нейроны, которые считают третьим типом нервной системы [283]. Вагусная деафферентация правого легкого крыс вызывает снижение в нем активности НАДФ-диафоразы по сравнению с правым легким [36].

В печени оксид азота при участии  $H_2O_2$  участвует в образовании супероксидных анионов  $ONOO(-)$ , перацетата и персульфата и, соответственно, в процессах окисления [295]. Почти все типы клеток печени, включая гепатоциты, купферовские, звездчатые и эндотелиальные клетки могут продуцировать окись азота. Продукция очень больших количеств NO индуцируется повреждением печени ацетаминофеном, четырёххлористым углеродом, этанолом, галактозамином, при вирусном гепатите, и в постишемическом периоде [247]. По-видимому, при травме (в широком смысле) окись азота участвует или запускает в клетках печени апоптоз. Например, индукция синтеза оксида азота в культуре клеток печени уменьшает их число, а внесение в инкубационную среду ингибитора синтеза оксида азота N-омега-нитро-L-аргинина приводит к увеличению числа клеток [169]. Нейтрофилами оксид азота используется как непосредственно для разрушения фагоцитированных микроорганизмов, так и, по-видимому, для образования супероксидных радикалов [256]. Аналогично ацетилхолину, через стимуляцию образования и высвобождения оксида азота, вызывает вазодилатацию почечных сосудов брадикинин [126].

Из представленного материала можно сделать вывод, что ацетилхолин может осуществлять экстранейрональную регуляцию как непосредственно, так и опосредованно через высвобождение оксида азота.

Подводя итог обсуждению ренальных эффектов ацетилхолина, хочется подчеркнуть следующий факт. Почечному вазодилатирующему действию ацетилхолина, сначала как либератора эндотелийзависимого сосудорелаксирующего фактора, а после его идентификации, как либератора NO, за пятнадцатилетний период посвящено более 400 работ, в которых ацетилхолин либо изучался как либератор NO, либо использовался как либератор NO, но только для изучения сосудистых эффектов. При этом лишь небольшая часть почечных эффектов ацетилхолина была идентифицирована как NO-зависимая: дилатация сосудов и высвобождение ренина плотной субстанцией, диурез и натрийурез. Кроме того, было установлено, что ацетилхолин, нитропруссид натрия и другие предшественники NO, атриальный натрийуретический пептид реализуют свои эффекты через увеличение активности гуанилатциклазы в почках [141] и многие др. Зависимость исполнения парциальных функций почки от наличия как ацетилхолина, так и оксида азота, исчерпывающе так и не исследована. Посвященные этому вопросу процитированные работы можно рассматривать как ценные, но лишь единичные исследования.

Только 30% сердечных нервов крысы, выявляемых по ацетилхолинэстеразной активности, распространяются эпикардиально, тогда как остальные – эндокардиально и входят через сердечные ворота. Нервы, входящие через артериальную часть ворот

сердца распространяются непосредственно на желудочки, тогда как входящие от венозной части сначала образуют нервное сплетение, а затем распространяются на желудочки [136].

У крыс и мышей кардиальные ганглии и связанные с ними нервы обнаруживаются в эпикардальном жире и образуют 5 предсердных и 5 желудочковых сплетений [312]. У человека большая часть интрамуральных ганглиев миокарда находится в предсердиях вблизи устья верхней полой вены, аорты, легочного ствола и легочных вен, на внутренних стенках сердечных ушек. В желудочках обнаруживается небольшое количество нейронов [300]. Крупные парасимпатические ганглии обнаруживаются рядом с правыми *vena pulmonalis superior* и *vena cava superior* [274]. У человека обнаружены холинергические нервы, иннервирующие только верхнюю часть межпредсердной перегородки, тогда как нижние отделы, по-видимому, не иннервированы [168].

Согласно современным представлениям, большой интерес представляет распределение нервных окончаний в миокарде, которое характеризуется выраженной асимметрией. С одной стороны, обнаруживается относительная бедность холинергической иннервации миокарда, по сравнению с симпатической [300], с другой – предсердия иннервированы гораздо обильнее, чем желудочки. Кроме того, имеет место преобладание эффектов этих двух регуляторных систем в разных отделах миокарда. Узловая ткань получает больше холинергических влияний, тогда как желудочки – симпатических [57]. Возможно, что неоднородность иннервации миокарда является частью системы обеспечения механической неоднородности миокарда, которая необходима для механически асинхронного взаимодействия сердечных волокон. В целом это обеспечивает согласованность сокращения миофибрилл и их синергичное взаимодействие в норме, что усиливает контрактильность и позволяет получить более мощный инотропный эффект, чем при взаимодействии механически однородных мышц. Более того, сочетанное взаимодействие медленных и быстрых миофибрилл при внезапном увеличении нагрузки в модельном эксперименте приводит к адекватному увеличению силы сокращения, тогда как механически однородный тандем уменьшает свою сократимость [39]. Изменение асинхронности приводит к снижению сократимости миокарда и насосной функции сердца в целом [79]. Согласно представлениям В.С. Мархасина и соавт. [67] и В.Я. Изакова и соавт. [39], механическая неоднородность миокарда является фактором тонкой ауторегуляции в реальном масштабе времени как ино-, так и лужитропного эффектов, вне зависимости от нервных влияний.

Кроме внесердечных нервов, управляющих миокардом, в сердце, как и в почке, есть внутренняя пептидэргическими автономная нервная система миокарда – часть метасимпатической нервной системы. Кроме того, есть свидетельства, что как минимум ЧСС регуляторными пептидами регулируется выделяемым кардиомиоцитами и эндотелиоцитами [76].

### **2.3. Влияние холина на флуоресцентный паттерн ацетилхолина в тканях почки**

Поскольку в почках описан экстранейрональный синтез ацетилхолина из холина [182, 276, 277], мы исследовали влияние холина на флуоресцентный паттерн аце-



тилхолина в почках. В серии экспериментов на 33 крысах, были выделены четыре группы: контрольная (6 крыс), и 3 экспериментальные (по 9 крыс в каждой группе). Экспериментальные группы ежедневно получали подкожно по 100, 200 и 400 мг/кг массы холина соответственно. Контрольная группа – по 1 мл воды для инъекций. Крысы высаживались на 7 дней в обменные клетки, где имели свободный доступ к корму и воде. В конце эксперимента все крысы были подвергнуты эфирной эвтаназии. Почки помещены на предварительно охлажденные до -21°C блоки и помещены в криостат. Из почек были изготовлены срезы толщиной 20μ и обработаны по В. Falk et al. (1962), S. Cross et al. (1971), на выявление ацетилхолина и ацетилхолинэстеразы по вышеприведенным методикам.

Содержание изучаемых веществ в почках исследовали в субкапсулярных и юкстамедулярных клубочках, проксимальных и дистальных канальцах и петлях Генле. Дифференциацию отдельных участков нефрона осуществляли согласно рекомендациям А. Хэма, Д. Кормака [110]. Холин в дозах 100, 200 и 400 мг/кг массы крыс подкожно в течение 7 дней увеличивал интенсивность люминесценции ацетилхолина во всех частях нефрона (табл. 2). Увеличение интенсивности флуоресценции было дозозависимым. Эффект наблюдался только при дозах 100 и 400 мг/кг массы, а промежуточная доза увеличила интенсивность люминесценции только в дистальных канальцах и петлях Генле.

Таблица 2

Влияние холина на интенсивность флуоресценции ацетилхолина (мВ)  
в почке крысы, N=33, n=90, M±m

Объект	Интактная почка	Доза холина, мг/кг		
		100	200	400
Субкапсулярные клубочки	4,48±0,58	6,77±0,38***	4,09±0,33	6,22±0,45*
Юкстамедулярные клубочки	4,94±0,67	6,59±0,29*	3,94±0,37	4,98±0,32
Проксимальные канальцы	9,47±1,18	15,34±0,58***	11,21±0,81	13,62±0,73**
Дистальные канальцы	6,91±0,7	15,2±0,65***	11,16±0,83***	13,91±0,45***
Петли Генле	3,34±0,73	6,5±0,29***	6,32±0,6**	5,07±0,46*

\* – достоверно отличается от интактной почки (p<0,05), \*\* – p<0,01, \*\*\* – p<0,001

С целью установления причины отсутствия дозозависимости интенсивности люминесценции ацетилхолина при введении холина, нами была исследована активность ацетилхолинэстеразы в почечных срезах. Ацетилхолинэстеразу обнаруживали по Karnovsky, Roots (1964) в модификации [59], нами ацетилтиохолиниодид был заменен ацетилтиохолинбромидом. Криостатные срезы инкубировали при 37°C 120 мин. После инкубации срезы фиксировали в нейтральном формалине и затем отмывали дистиллированной водой, после чего заключали в глицерин-желатин.

Фотометрию срезов проводили в проходящем свете по поглощению (синий светофильтр ( $\lambda_{\max}=420\pm 9$  нм), запирающий светофильтр  $436\pm 12$  нм), на люминесцентном микроскопе «Люмам-4». Измерение осуществляли с помощью микролюминометра ФМЭЛ-1А. Электрические параметры определялись следующими показателями: входное напряжение 900В, сопротивление усилителя  $10^6$  Ом. В насадке был установлен зонд 1,5. Для измерения использовался ФЭУ-79, показания снимались с цифрового вольтметра, на котором при измерении пустого участка стекла устанавли-

валось значение 1, принимаемое за 100%. На каждом препарате плаг-методом в субкапсулярной и интрамедуллярной зонах измеряли интенсивность люминесценции от 10 клубочков или канальцев, а в медуллярной – 10 участков петель Генле. Плаг-метод был выбран после того, как в предварительных исследованиях было установлено, что средние параметры люминесценции при использовании многоточечного метода и плаг-метода совпадают в пределах ошибки измерения. Полученный цифровой материал был пересчитан по формуле  $D = \lg(I_0/I)$ , где  $D$  – оптическая плотность (безразмерная величина),  $I_0=1,0$ ,  $I$  – показатель вольтметра, данные каждого среза служили для вычисления средней, которая исследовалась как статистическая величина, ошибки средней складывали, согласно правилу сложения ошибок [4]. Гистологический материал подготавливали согласно рекомендациям Р. Лили [58].

Введение холина увеличивало активность ацетилхолинэстеразы как в клубочковом, так и канальцевом аппарате почки при введении доз 100 и 200 мг/кг (Рис. 4). Доза 200 мг/кг вызывала достоверно большее увеличение активности холинэстеразы, чем доза 100 мг/кг в субкапсулярных клубочках и канальцевом аппарате. Введение дозы 400 мг/кг не вызывало статистического увеличения активности холинэстеразы в клубочках, а в канальцах повышенная по сравнению с контролем активность холинэстеразы была ниже в дистальных канальцах и не отличалась в проксимальных. Активность ацетилхолинэстеразы в петлях Генле при введении всех доз холина была низкой, и статистической закономерности не было. Максимальная активность холинэстеразы обнаруживалась в париетальной и висцеральной части капсулы Шумлянско-Боумена в виде интенсивно-черного узкого ободка, практически полностью поглощающего свет, в связи с чем, замеры светопоглощения провести было невозможно (Фото 10).

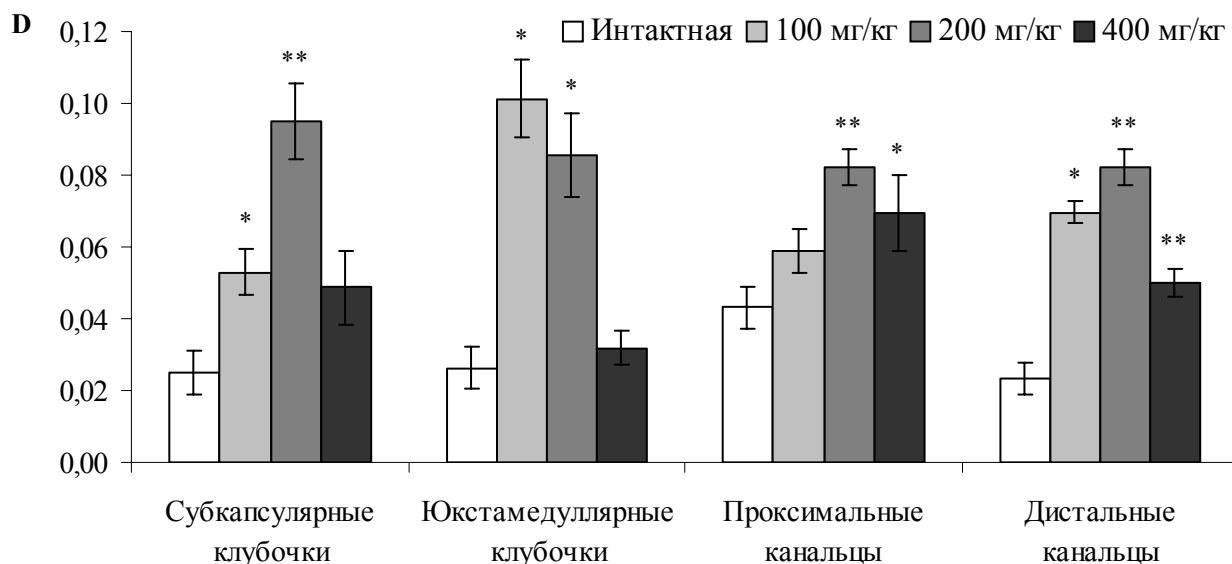


Рис. 4. Зависимость активности ацетилхолинэстеразы от дозы холина, N=3, n=30. D – оптическая плотность

\* – достоверно отличается от интактной почки ( $p < 0,01$ ),

\*\* – достоверно отличается от интактной почки и дозы 100 мг/кг ( $p < 0,01$ )

В почечных клубочках происходит экстранейрональный синтез ацетилхолина de novo из холина [276, 182]. Поэтому было логичным предположить, что введение холина должно сопровождаться увеличением интенсивности флуоресценции ацетил-

холина в почке. В эксперименте с введением холина нами было получено увеличение интенсивности флуоресценции, но без дозозависимости. Этот результат удовлетворительно объясняется увеличением активности холинэстеразы, максимум которой наблюдался при введении дозы 200 мг/кг. Соответственно на этой дозе наблюдается меньшая интенсивность люминесценции ацетилхолина. Интересно, что максимум активности холинэстеразы обнаруживается в капсуле клубочка, ранее это описано, например, Е.Е. Нужненко [78] или в кортикальных отделах почки [107]. Вероятно, образующийся эпителием клубочков ацетилхолин выделяется в капсулу Шумлянско-Боумана, где и разрушается холинэстеразой. Возможно, что не разрушившийся трансмиттер захватывается эпителием проксимальных канальцев, поэтому при выявлении ацетилхолина интенсивность их флуоресценции выше, чем дистальных. Очевидно, что ацетилхолин в данном месте выполняет функцию паракринного гормона, возможно, обеспечивая клубочково-канальцевое взаимодействие.

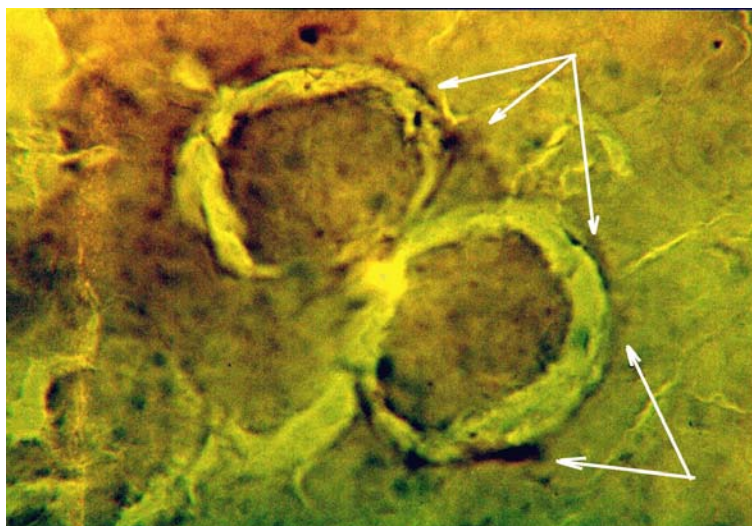


Фото 10. Распределение ацетилхолинэстеразы в париетальной части капсулы Шумлянско-Боумана (показано стрелками) после введения холина 200 мг/кг массы в течение 7 суток. По Karnovsky, Roots (1964) в модификации З. Лойда и соавт. [59]. Объектив 40×. Гомаль 1,5.

Инфузия холина в дозе 400 мг/кг, видимо, вызывает образование ацетилхолина в количествах, достаточных для субстрат-ферментного подавления активности холинэстеразы. Поэтому мы обнаружили более низкую активность этого фермента при введении дозы 400 мг/кг, чем при дозах 100 и 200 мг/кг. Это подтверждается увеличением флуоресценции ацетилхолина при введении холина в максимально примененной дозе. Феномен ауторегуляции активности ацетилхолинэстеразы ацетилхолином описан ранее [6, 25, 53]. Кроме того, в почках различных млекопитающих обнаруживается градиент активности холинэстеразы, с максимумом в корковом веществе почки и минимумом в вершинах пирамид, в мозговом веществе активность холинэстеразы занимает промежуточное положение [107]. В наших экспериментах мы наблюдали максимальную активность холинэстеразы в висцеральной и париетальной частях капсулы Шумлянско-Боумана.

Анализируя ранее проведенные исследования и полученные нами данные, можно предположить, что активация холинергической регуляции в почках достигает

ся путем увеличения синтеза ацетилхолина в клубочках, что приводит к увеличению синтеза NO, который, как известно, легко диффундирует и способен вовлекать в регуляторный процесс далеко расположенные от места его выделения клеточной-мишенью. Такая регуляция способна быстро вовлечь в диуретический или антидиуретический ответ почку в целом. Избыточный ацетилхолин, в основном, разрушается в капсуле клубочка. Возможно, что это и есть автономная почечная экстранейрональная холинергическая регуляция, по-видимому, реализующая клубочково-канальцевое взаимодействие.

#### **2.4. Влияние изменения водного баланса и кислотноосновного состояния на тканевое содержание ацетилхолина**

Для исследования влияния изменения водного баланса на содержание ацетилхолина в почках были проведены две группы экспериментов: с лишением крыс воды в течение двух суток и с нагрузкой водой в объеме 6% от массы тела. Эксперименты с водной депривацией проведены на 20 крысах обоего пола массой 140-160 г в две серии. В каждой серии экспериментов по три крысы были подвергнуты соответственно одно- и двухсуточной водной депривации со свободным доступом к сухому корму. По окончании депривации обе группы были подвергнуты эфирной эвтаназии вместе с контрольными крысами по две на группу. Почки крыс были немедленно изъяты, смонтированы на металлические блоки, предварительно охлажденные до  $-21^{\circ}\text{C}$  и помещены в криостат. Из почек крыс были приготовлены криостатные срезы  $20\mu$  толщиной и обработаны по В. Falk et al. (1962), S. Cross et al. (1971), на ацетилхолин и ацетилхолинэстеразу по вышеприведенным методикам. Поскольку в обеих сериях экспериментов найденные параметры флуоресценции и динамика их изменений ни количественно, ни качественно статистически не различались, результаты этих серий при статистическом исследовании были объединены. В первые сутки водной депривации наблюдалось четырехкратное увеличение интенсивности флуоресценции ацетилхолина в клубочковом аппарате и петлях Генле и полуторократное увеличение в канальцах (Рис. 5) [51]. Во вторые сутки интенсивность флуоресценции уменьшалась, но оставалась достоверно выше в субкапсулярных клубочках, тогда как в канальцах была меньше интактного уровня. Водная нагрузка вызвала увеличение флуоресценции ацетилхолина в проксимальных ( $p < 0,05$  к третьему часу наблюдения, Рис. 6) и дистальных канальцах ( $p < 0,05$  ко второму часу наблюдения). Из этих данных следует, что если на лишение воды увеличением уровня ацетилхолина реагируют все отделы нефрона, то на максимальную водную нагрузку – только канальцы, а выраженность ответа при водном диурезе меньше, чем при водной депривации. В целом это совпадает с результатами ранее проведенных исследований прямого влияния введения ацетилхолина в почечную артерию [101, 102, 103, 119, 126, 127, 242, 153, 298, 305], а также подтверждает мнение о дозозависимости направленности холинергического почечного ответа [101].

Целесообразность увеличения уровня ацетилхолина при адаптации почки к водной депривации можно объяснить следующим образом. Известно, что перфузируемый в почечную артерию ацетилхолин в малых дозах вызывает диуретическую реакцию, тогда как даже незначительное превышение пороговой дозы сопровождается

ся резким угнетением мочевыделения [7]. Поэтому реализация задержки воды при водном лишении вполне может осуществляться путем повышения синтеза ацетилхолина в почках. То, что такой синтез действительно имеет место, в том числе является и нашим наблюдением [231, 234]. Наблюдавшаяся тенденция к восстановлению изучавшихся показателей до интактного уровня, возможно, свидетельствует, что острая фаза стресса, вызванного водным лишением, реализуется в течение первых-вторых суток с переходом почки на новый уровень регуляции.

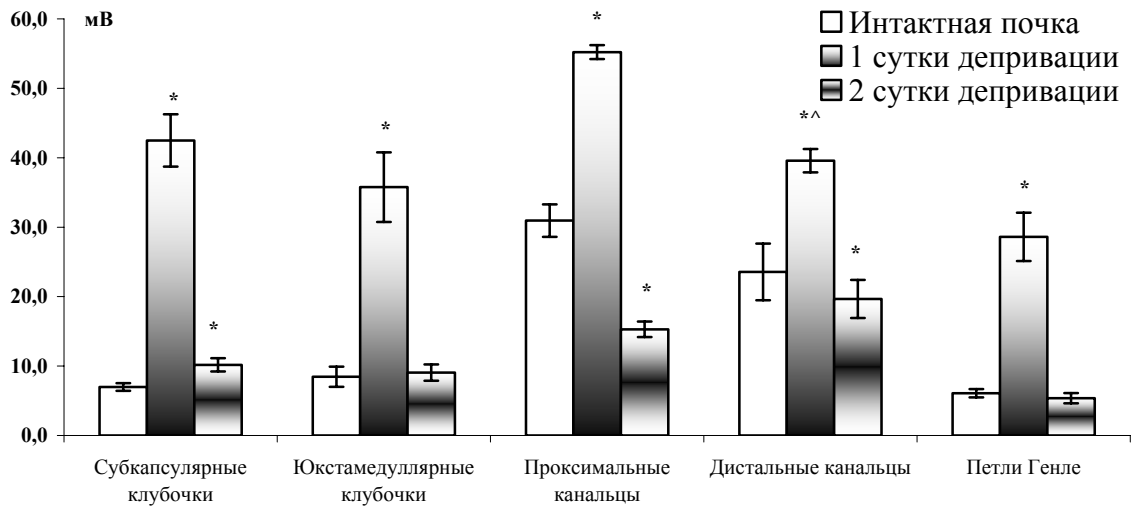


Рис. 5. Изменение флуоресценции ацетилхолина в структурах нефрона крыс при водной депривации, N=9, n=60

Примечание, здесь и далее в экспериментах с водной депривацией:

\*  $p < 0,01$  по отношению к контролю; ^  $p < 0,01$  по отношению к аналогичному отделу нефрона

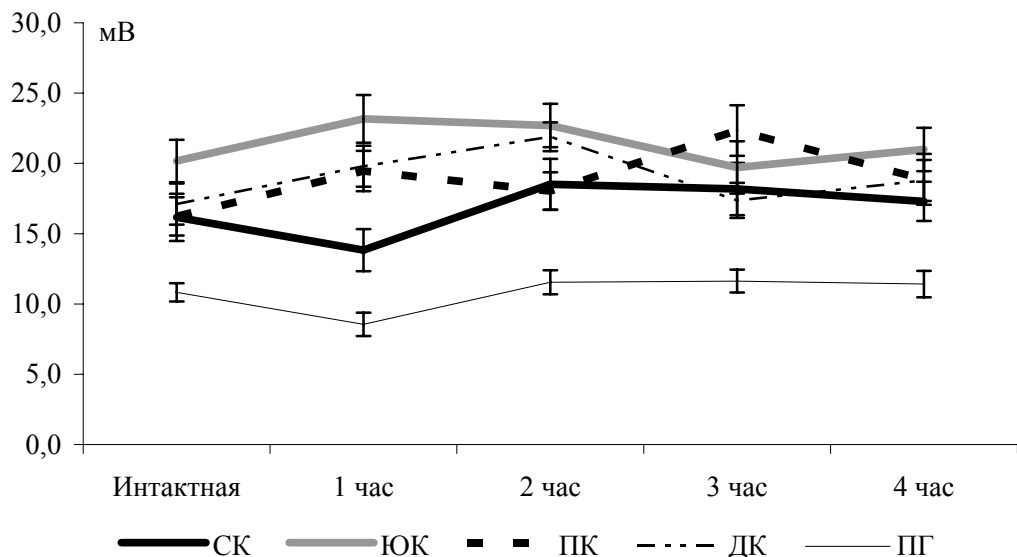


Рис. 6. Изменение флуоресценции ацетилхолина при водной нагрузке 6% от массы тела внутрибрюшинно (N=9, n=90)

Здесь и далее: СК – субкапсулярные клубочки, ЮК – юкстамедуллярные клубочки, ПК – проксимальные каналцы, ДК – дистальные каналцы, ПГ – петли Генле

Эксперименты с нагрузкой водой проведены на 45 крысах обоего пола массой 140-160 г в две серии. Крысы были разделены на пять экспериментальных групп. Первая группа – интактные, со второй по пятую группы крысы получили нагрузку водой в объеме 6% от массы тела внутрибрюшинно (для исключения пищеводного и гастроренального диуретического рефлексов [11]). После введения нагрузки крысы 2-5-х групп были последовательно через интервал в 1 час подвергнуты эфирной эвтаназии. Почки крыс были немедленно изъяты, смонтированы на металлические блоки, предварительно охлажденные до  $-21^{\circ}\text{C}$  и помещены в криостат. Из почек крыс были приготовлены криостатные срезы  $20\mu$  толщиной, в которых исследовали содержание катехоламинов и серотонина по В. Falk et al. [183], гистамина по S. Cross et al. [159], ацетилхолина по В.А. Козлову и соавт. [47]. Кроме того, дополнительно были проведены эксперименты на почечной капсуле 30 крыс-самцов, массой 140-160 г. Шесть крыс служили контролем, двадцать четыре крысы получили водную нагрузку 6% от массы тела внутрибрюшинно. После введения водной нагрузки по шесть крыс ежедневно были подвергнуты эфирной эвтаназии. Контрольные крысы были подвергнуты эфирной эвтаназии вместе с последней парой. Немедленно после эвтаназии почки были извлечены и помещены в криостат. После подмораживания почки были разделены на четыре части. Почечная капсула каждой части была отпрепарирована и смонтирована на предметные стекла. Для выявления ацетилхолина препараты капсул в криостате были обработаны как это описано выше. Для выявления катехоламинов, серотонина и гистамина препараты извлекали из криостата и высушивали под струей холодного воздуха. Затем препараты были обработаны согласно вышеприведенным прописям. Кроме того, состояние трансмиттерных систем капсулы почки было исследовано при нагрузках медью и цинком в описанных выше длительных экспериментах.

В почечной капсуле при водной нагрузке наблюдалось более выраженное, чем в почке, увеличение люминесценции ацетилхолина на 84% ( $p < 0,0001$ ) уже к концу первого часа после введения (Рис. 7). Эта реакция продолжается в течение всего периода наблюдения и совпадает с динамикой водного диуреза, индуцированного водной нагрузкой. К окончанию эксперимента количество ацетилхолина снижается до уровня, близкого к интактному. Поскольку динамика этих изменений совпадает с динамикой водного диуреза при максимальной нагрузке водой, то эта реакция, вероятно, вызвана растяжением почечной капсулы гипергидратированной почкой. Целесообразность такой реакции почечной капсулы остается неясной. В эксперименте с влиянием водной нагрузки на уровень трансмиттеров миокарда использовано 18 крыс массой  $160 \pm 5$  г, из них 15 получили водную нагрузку в объеме 6% от массы тела, а 3 – служили контролем. Подопытные крысы были подвергнуты эфирной эвтаназии через 1, 2, 3 и часа после введения водной нагрузки, а контрольные – в конце эксперимента. В поперечных срезах миокарда исследовали содержание ацетилхолина, гистамина, катехоламинов и серотонина, как это описано выше, в следующих областях: в субэпи- и субэндокардиальной области предсердий и межпредсердной перегородке, субэпи- и субэндокардиальной областях правого и левого желудочков отдельно, и в межжелудочковой перегородке. Желудочки миокарда, с целью различения левого и правого, оценивали визуально по толщине при микроскопии под планаром или объективом  $10\times$ . В миокарде водная нагрузка вызывала ожидаемые изменения (Рис. 8).

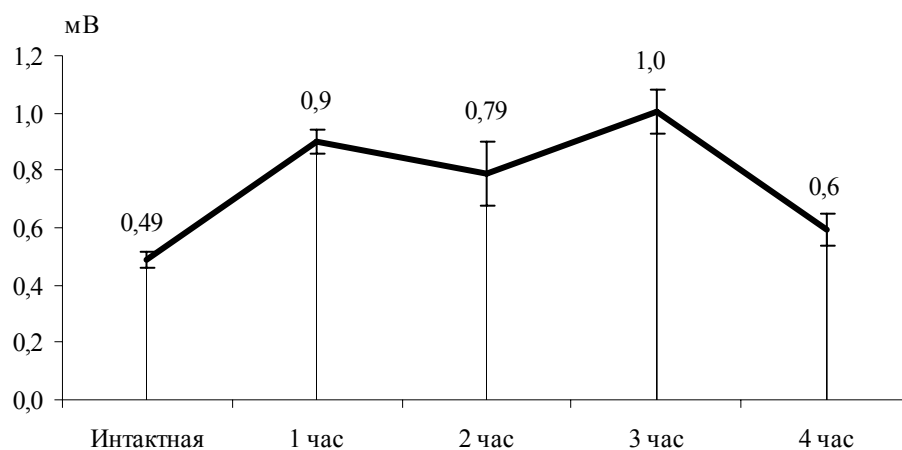


Рис. 7. Влияние водной нагрузки на уровень ацетилхолина в капсуле почки, N=10, n=20

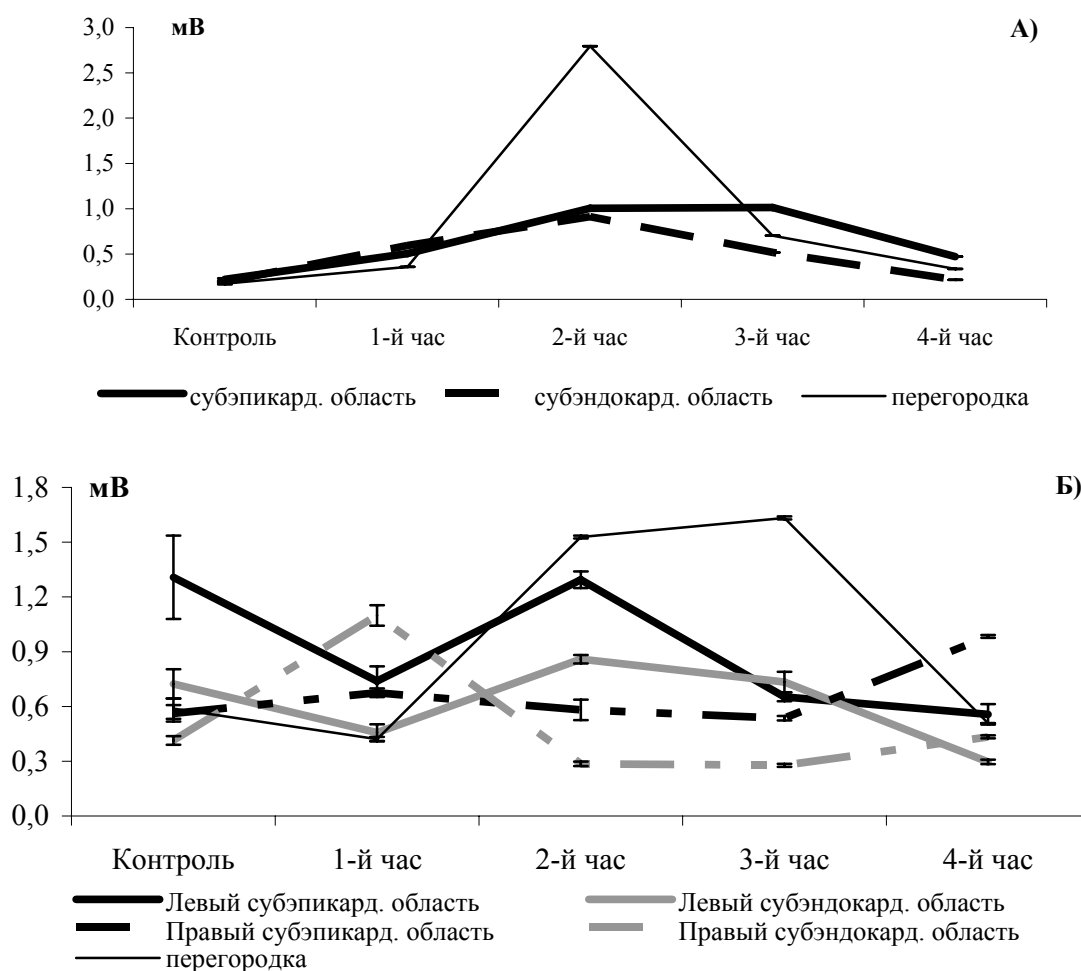


Рис. 8. Влияние водной нагрузки на содержание ацетилхолина в различных отделах миокарда  
А) предсердия, Б) желудочки, N=20, n=40

В первый час флуоресценция ацетилхолина увеличилась только справа от  $0,56 \pm 0,05$  мВ до  $0,68 \pm 0,02$  ( $p < 0,05$ ) в субэпикардиальной области и от  $0,41 \pm 0,02$  до  $1,1 \pm 0,06$  мВ в субэндокардиальной ( $p < 0,001$ ). В левом желудочке свечение ацетилхо-

лина уменьшилось от  $0,72 \pm 0,08$  до  $0,46 \pm 0,05$  мВ в субэндокардиальной ( $p < 0,01$ ). После этого в правых отделах миокарда наблюдалось увеличение содержания ацетилхолина до 30-50% от исходного уровня. Особенно сильное увеличение наблюдалось в перегородке как предсердий, от  $0,17 \pm 0,01$  до  $2,79 \pm 0,001$  ( $p < 0,0001$ , 2-й час), так и желудочков, от  $0,59 \pm 0,06$  до  $1,63 \pm 0,01$  мВ ( $p < 0,01$ , 3-й час). К четвертому часу в правом желудочке уровень ацетилхолина снижался на 50% и более. Поскольку при водном диурезе, индуцированном нагрузкой водой, пик диуреза приходится на второй-третий час наблюдения, то обнаруженные изменения флуоресценции ацетилхолина в миокарде полностью совпадают с динамикой водного диуреза у крыс, описанной ранее Е.Б. Берхином [11, 12].

В различных отделах тимуса под влиянием водной нагрузки флуоресценция ацетилхолина меняется фазно и разнонаправлено (табл. 3). Исходный, относительно высокий, уровень в субсептальной области в первый и третий час наблюдения был меньше исходного, а во второй и четвертый – несколько выше начального. В толще коркового вещества в первый и третий час флуоресценция ацетилхолина сопоставима с интактным уровнем, а во второй и четвертый – выше его более чем в два раза. В парамедуллярной области в ответ на нагрузку водой уровень ацетилхолина увеличился в 4,5 раза в первый и третий час и только в 3 раза во второй и четвертый. В медуллярной области также наблюдалось увеличение уровня, но только с 3-го часа наблюдения. Так называемых, ГЛК при окраске на ацетилхолин в структурах тимуса не обнаружено.

Таблица 3

Влияние водной нагрузки на флуоресценцию ацетилхолина (мВ)  
в строме тимуса, N=10, n=20, M±m

	Тимус интактных крыс	1 час	2 час	3 час	4 час
СО	$2,0 \pm 0,01$	$1,6 \pm 0,1^{**}$	$2,3 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,1^{\#}$	$2,3 \pm 0,2$
ТКВ	$0,9 \pm 0,01$	$0,9 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,1^{\#}$	$1,0 \pm 0,2$	$2,5 \pm 0,2^{\#}$
ПО	$0,9 \pm 0,01$	$4,1 \pm 0,4^{\#}$	$2,6 \pm 0,1^{\#}$	$4,4 \pm 0,3^{\#}$	$2,8 \pm 0,3^{\#}$
МО	$0,9 \pm 0,01$	$0,9 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,01$	$2,0 \pm 0,2^{\#}$	$1,3 \pm 0,1^*$

Примечание: СО – субсептальная область, ТКВ – толща коркового вещества, ПО – парамедуллярная область, МО – медуллярная область, С – септа  
здесь и далее \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ ; # -  $p < 0,0001$

Исследования с кислотной и бикарбонатной нагрузками проведены на 70 крысах самках, массой от 140 до 200 грамм, содержащихся на стандартном рационе виария. Экспериментальным крысам внутрибрюшинно вводили 0,1н раствор соляной кислоты, либо 4% раствор бикарбоната натрия, в объеме 6% от массы тела. Крысы были разделены на пять групп, которых подвергли эфирной эвтаназии через 1, 2, 3 и 4 часа после введения водно-кислотной, либо водно-основной нагрузки, контрольных крыс (пятая группа) забивали вместе с четвертой группой. Почки помещали на предварительно охлажденные до  $-21^{\circ}\text{C}$  криостатные блоки и замораживали. В срезах почек исследовали содержание ацетилхолина, гистамина, катехоламинов и серотонина как это описано выше.



Примененная нами кислотная нагрузка вызывала олигоанурию в течение всего периода наблюдения, поэтому, изучить кислотный и электролитный состав мочи не представлялось возможным. При исследовании рН крови было установлено, что исходный щелочной уровень смешанной (артерио-венозной) крови сильно снижался в кислую сторону, однако, вследствие большого разброса данных, в первый и четвертый час обсервации этот результат статистически не достоверен (табл. 4). Ацидоз извращает реакцию на водную нагрузку, приводя к уменьшению флуоресценции ацетилхолина в мозговом веществе почки в 2-3 раза в первый час обсервации и олигурии, в проксимальных канальцах уровень ацетилхолина несколько возрастала к концу 4-го часа.

Таблица 4

Изменение рН артерио-венозной крови крыс при внутрибрюшинной нагрузке 0,1н раствором соляной кислоты, N=35, M±m

Интактные крысы	1 час	2 час	3 час	4 час
8,06±0,14	6,73±0,53	7,42±0,17*	7,56±0,11	6,61±0,68

Примечание: \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; \*\*\*\* p<0,0001;

Внутрибрюшинное введение 4% раствора бикарбоната вызвало достоверное, но не сильное изменение рН артериовенозной крови (табл. 6), в то время как моча защелачивалась интенсивно. В отличие от ацидоза, алкалоз не вызывал значительных нарушений диуреза (четырёхчасовой диурез составлял около 50% введенной нагрузки) и увеличивал интенсивность флуоресценции ацетилхолина в клубочках (1-й час), а затем и в проксимальных канальцах (табл. 5).

Таблица 5

Изменение содержания ацетилхолина (mV) в структурах почки крысы при внутрибрюшинной нагрузке 0,1н раствором соляной кислоты или 4% раствором бикарбоната, N=35, n=70, M±m

Структуры	Кислотная нагрузка				
	Интактная почка	1 час	2 час	3 час	4 час
Субкапсулярные клубочки	2,2±0,5	3,3±0,2	2,0±0,3	2,5±0,4	3,2±0,5
Проксимальные канальцы	3,0±0,6	3,9±0,6	4,2±0,6	2,5±0,2	4,6±0,4*
Петли Генле	1,4±0,2	1,7±0,3	1,3±0,2	0,7±0,04**	1,3±0,2
Дистальные канальцы	1,9±0,5	1,0±0,1	1,2±0,2	0,6±0,1*	2,3±0,5
Бикарбонатная нагрузка					
Субкапсулярные клубочки	3,66±0,45	4,77±0,32*	4,11±0,27	3,56±0,45	3,76±0,51
Проксимальные канальцы	5,27±0,29	5,67±0,55	6,48±0,52*	5,51±0,41	4,95±0,21
Петли Генле	3,03±0,36	3,05±0,22	3,69±0,28	3,33±0,42	2,83±0,4
Дистальные канальцы	3,93±0,34	3,23±0,42	4,77±0,28	4,06±0,38	3,79±0,52

Таблица 6

Изменение рН артерио-венозной крови, мочи и диурез у крыс при внутрибрюшинной нагрузке 4% раствором бикарбоната, N=35, M±m

	Интактные	1 час	2 час	3 час	4 час
Кровь, рН	8,26±0,11	8,76±0,09*	8,38±0,08	8,78±0,07*	8,56±0,06
Моча, рН	6,46±0,01	8,7±0,05***	9,15±0,03***	9,08±0,04***	9,12±0,05***
Диурез, мл/час	1,3±0,1				3,4±0,1*

С одной стороны, такая реакция совпадает с классическими представлениями о роли проксимального канальца в поддержании рН крови путем регуляции реабсорбции бикарбоната [72, 73, 108], с другой стороны, доказывает, что кроме ранее установленного механизма транспорта бикарбоната, зависящего от активности почечной карбоангидразы, существует холинергическая регуляция этого процесса. Очевидно, что при развитии алкалоза происходит уменьшение высвобождения протонов в просвет желудка, следовательно, это должно сопровождаться торможением активности холинергических систем слизистой желудка. В нашем исследовании алкалоз не сопровождался изменением уровня высвобождения ацетилхолина, что органично совпадает с идеями В.Т. Ивашкина и соавт. [38].

Таким образом, водная нагрузка в почке, почечной капсуле, миокарде и тимусе вызывает однотипный ответ – увеличение количества ацетилхолина, при этом экстремум реакции совпадает с динамикой водного диуреза, который описан ранее [11, 12]. Смещение рН крови в кислую, либо щелочную сторону, вызывает противоположные и отличные от нагрузки объемом (вода 6% от массы тела) изменения количества ацетилхолина в почке.

### 2.5. Влияние длительного потребления $\text{Cu}^{++}$ и $\text{Zn}^{++}$ на тканевое содержание ацетилхолина и его реакцию на водную нагрузку

Поскольку синтез и деградация катехоламинов и серотонина регулируются медь-зависимыми ферментами [3, 77], мы использовали хроническое водное потребление сульфата меди 50 мг/л  $\text{Cu}^{++}$  в режиме свободного доступа в течение 24 недель, исходя из расчета, что при суточном потреблении воды у крыс массой 150-180 г около 20 мл [86], суточное поступление  $\text{Cu}^{++}$  составит  $1\pm 0,01$  мг/сут, или  $6\pm 0,02$  мг/кг массы в сутки. Количественно это равно  $1/20$  ЛД<sub>50</sub>  $\text{Cu}^{++}$  для крыс [21], либо эквивалентно суточному потреблению при содержании в воде  $\text{Cu}^{++}$  10ПДК (1 ПДК  $\text{Cu}^{++}$  – 5 мг/л, [82]). Эксперименты проведены на 30 крысах обоего пола. На каждые три самки в садок помещали одного самца. Десять крыс содержались как контрольные на стандартном водно-пищевом рационе. Двадцать крыс в течение 24 недель получали с водой  $\text{Cu}^{++}$ . После завершения экспериментальная группа была разделена на подгруппы. Первая подгруппа – внутренний контроль, осталась без дополнительного воздействия. Крысам остальных четырех подгрупп вводили водную нагрузку в объеме 6% от массы тела внутрибрюшинно. Как и в предыдущих случаях, эти подгруппы были подвергнуты эфирной эвтаназии через 1, 2, 3 и 4 часа после введения нагрузки. Интактных и контрольных крыс усыпляли по завершении экспери-

мента. Изъятые сразу же после эвтаназии почки были взвешены на аналитических весах и смонтированы на предварительно охлажденные до  $-21^{\circ}$  градусов криостатные блоки. В срезах почек толщиной  $20\mu$ , и почечных капсулах было исследовано содержание катехоламинов и серотонина, ацетилхолина и гистамина по вышеприведенным методикам. Кроме того, в этих экспериментах было проведено люминесцентно-гистохимическое исследование тимуса.

В группе крыс, получавших повышенные дозы  $\text{Cu}^{++}$ , с 12-й по 14-ую недели произошел падеж – 25% от общего числа животных из этой группы, причем умершими были самки на поздних сроках беременности (Рис. 9). У крыс контрольной группы и потреблявших с водой терапевтические дозы  $\text{Zn}^{++}$  в течение 24 недель эксперимента наблюдалась стопроцентная выживаемость. К началу эксперимента средняя масса отобранных крыс составила  $76\pm 8$  г, к моменту его завершения –  $208\pm 12$  г. Начальная масса подопытных крыс была  $63\pm 8$  г, заключительная масса составила  $290\pm 19$  г. В течение 24 недель происходил постепенный прирост массы у крыс всех групп, причем, у животных, находящихся в условиях избыточного поступления металлов, он не отличался от такового у контрольных крыс. Средняя масса влажной ткани почек у контрольных крыс составила  $369,0\pm 28,0$  мг/100 г массы тела. У крыс, длительно потреблявших  $\text{Cu}^{++}$  в больших дозах –  $391,0\pm 33,0$  в группе внутреннего контроля и  $324,0\pm 24,0$  мг/100 г массы тела у крыс, получавших как нагрузку  $\text{Cu}^{++}$ , так и нагрузку водой 6% от массы тела. Достоверных различий ни между массой интактных и подопытных крыс, ни между массой их почек не обнаружено.

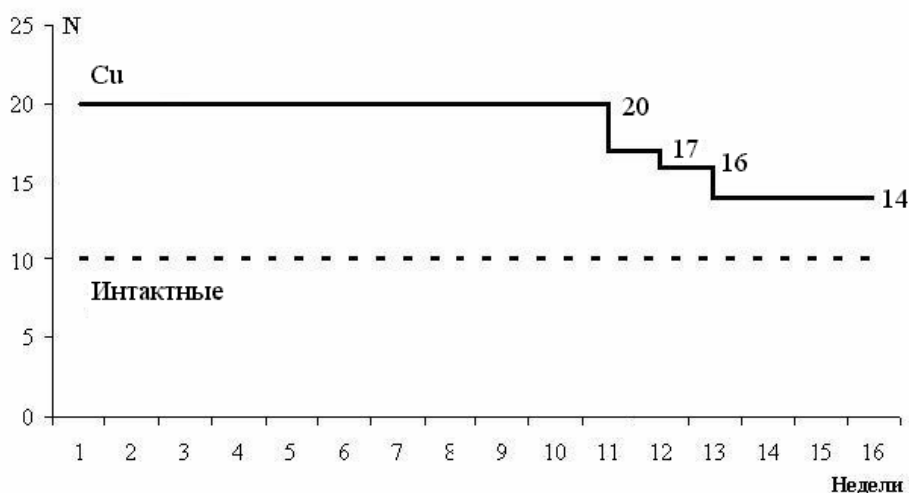


Рис. 9. Динамика выживаемости интактных крыс и потреблявших с водой  $\text{Cu}^{++}$

Питьевая нагрузка  $\text{Cu}^{++}$   $6,0\pm 0,02$  мг/кг массы тела в течение 24 недель уменьшала уровень ацетилхолина в юкстамедуллярных клубочках на 30% по сравнению с почкой контрольных крыс ( $p<0,05$ ). В остальных отделах нефрона содержание медиатора не изменилось (табл. 7). Водная нагрузка 6% от массы тела на этом фоне уменьшала интенсивность флуоресценции ацетилхолина на 23% ( $p<0,03$ ) через 1 час после введения в субкапсулярных клубочках и на 56% и 44% в юкстамедуллярных клубочках через 2 и 3 часа соответственно ( $p<0,0001$  и  $p<0,01$ ) (табл. 7). Содержание медиатора увеличивалось в 1,3 раза ( $p<0,05$ ) в проксимальных канальцах и петлях Генле к 4 часу после гидратации. В петлях Генле уменьшению уровня ацетилхолина предше-

ствовало его увеличение на 38% ( $p<0,01$ ) в пределах первых 3 часов наблюдения. Флуоресценция ацетилхолина увеличилась на 30% в дистальных канальцах к 1 часу после водной нагрузки ( $p<0,01$ ) и возвратилась к исходному уровню в период 2 и 3 часов наблюдения.

Для оценки специфичности медного нарушения транмиттерного паттерна был применен  $ZnSO_4$ , являющийся антагонистом меди [164, 280], в количестве 50 мг/л  $Zn^{2+}$ , эквивалентном в эксперименте с потреблением  $Cu^{2+}$ . Выбранная доза  $Zn^{2+}$ ,  $6\pm 0,01$  мг/кг массы в сутки, сопоставима с рекомендуемой для людей максимальной лечебной дозой  $Zn^{2+}$  (3,9 мг/кг массы в сутки), получаемой при использовании перорального препарата Цинктерал. В дистальных канальцах флуоресценция была выше исходной к концу 1-го и 4-го часа в 1,7 и 2 раза ( $p<0,001$  и  $p<0,0001$ , соотв.), но к концу 3-го часа флуоресценция ацетилхолина была в 3 раза ниже исходного значения ( $p<0,0001$ ) (табл. 8). В капсуле почки длительный прием  $Zn^{2+}$  снижал флуоресценцию ацетилхолина ( $p<0,001$ ) (Рис. 10). Водная нагрузка на этом фоне еще больше угнетала флуоресценцию ( $p<0,001$ ), максимально в 1-й час эксперимента. К 4-му часу содержание ацетилхолина резко возрастало и превышало исходное на 14%. Как и потребление  $Zn^{2+}$ , длительный прием  $Cu^{2+}$  уменьшал содержание ацетилхолина в капсуле почки ( $p<0,0001$ ) (Рис. 11). Если на фоне  $Zn^{2+}$  водная нагрузка индуцировала уменьшение количества ацетилхолина, то на фоне  $Cu^{2+}$  – более чем четырехкратное увеличение ( $p<0,0001$ ), к 3-у часу уровень восстанавливался до исходного.

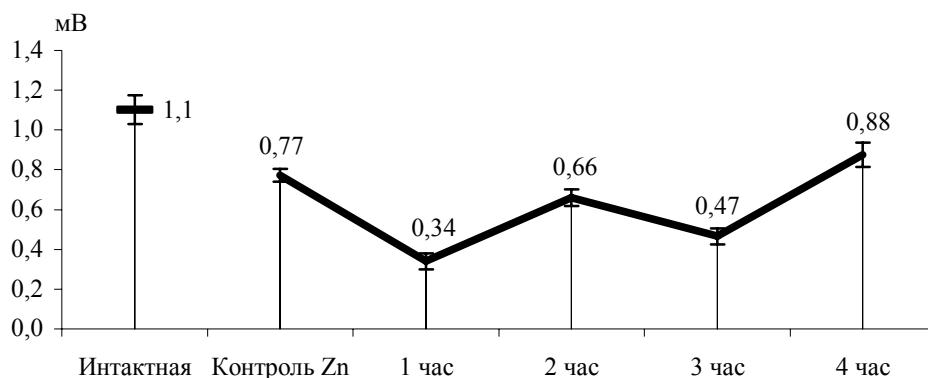


Рис. 10. Влияние длительного приема  $Zn^{++}$  и водной нагрузки на фоне приема цинка на содержание ацетилхолина в капсуле почки,  $N=10$ ,  $n=20$

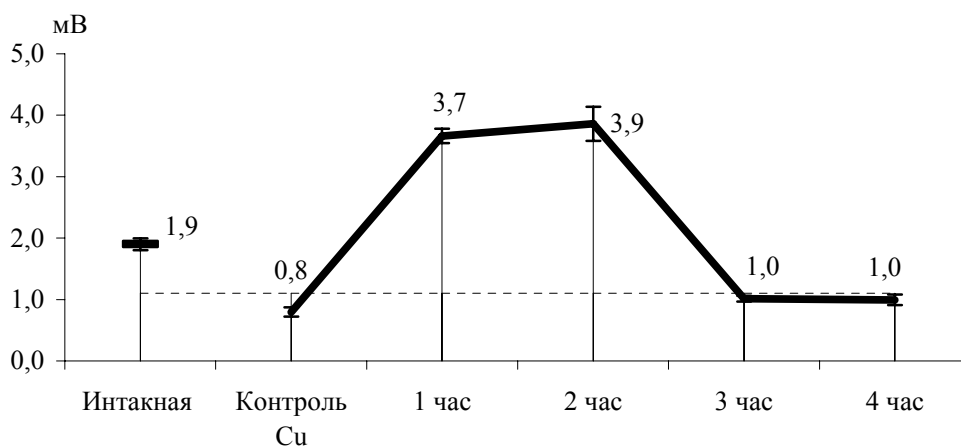


Рис. 11. Влияние длительного приема  $Cu^{++}$  и водной нагрузки на фоне приема меди на содержание ацетилхолина в капсуле почки,  $N=10$ ,  $n=20$

Таблица 7

Влияние длительного потребления  $\text{Cu}^{++}$  50 мг/л и водной нагрузки на его фоне на флуоресценцию ацетилхолина (mV) в структурах почки, N=45, n=90, M±m

Структуры	Контрольная почка	Почка внутреннего контроля	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч
Субкапсулярные клубочки	0,78±0,07	0,88±0,02	0,66±0,04** <sup>K</sup>	0,67±0,06	0,71±0,01	0,92±0,08
Юкстамедуллярные клубочки	1,32±0,2	0,9±0,14* <sup>И</sup>	0,69±0,05	0,45±0,05**** <sup>K</sup>	0,59±0,05** <sup>K</sup>	1,05±0,08
Проксимальные канальцы	1,42±0,09	1,65±0,02	1,53±0,07	1,57±0,08	1,61±0,12	2,1±0,019* <sup>K</sup>
Петли Генле	1,25±0,16	1,0±0,15	0,62±0,04** <sup>K</sup>	0,61±0,06** <sup>K</sup>	0,58±0,05** <sup>K</sup>	1,34±0,12**
Дистальные канальцы	1,06±0,08	1,11±0,08	1,43±0,09** <sup>K</sup>	0,92±0,09	1,16±0,09	1,96±0,14**** <sup>K</sup>

Примечание, здесь и далее: интактная почка – крысы, не получающие нагрузку медью или цинком и водой;

контрольная почка – крысы, получавшие  $\text{Cu}^{++}$  или  $\text{Zn}^{++}$ , но не получавшие нагрузку водой;

1 час ... 4 час – крысы, получавшие нагрузку водой 6% от массы тела и  $\text{Cu}^{++}$  или  $\text{Zn}^{++}$ ;

<sup>K</sup> – различия достоверны относительно контрольной почки;

<sup>И</sup> – различия достоверны относительно интактной почки (t-тест исследован только между интактным и контрольным органом, но не между интактной почкой и водной нагрузкой)

Таблица 8

Влияние водной нагрузки на флуоресценцию ацетилхолина (mV) в структурах почки в условиях длительного приема  $\text{Zn}^{++}$ , N=15, n=20, M±m

Структуры	Контрольная почка	Почка внутреннего контроля	1 час	2 час	3 час	4 час
Субкапсулярные клубочки	1,32±0,18	1,75±0,14	2,07±0,14	0,65±0,05**** <sup>K</sup>	3,49±0,33**** <sup>K</sup>	1,65±0,14
Юкстамедуллярные клубочки	1,17±0,15	1,61±0,14* <sup>И</sup>	1,7±0,12	0,96±0,05**** <sup>K</sup>	3,48±0,25**** <sup>K</sup>	1,79±0,23
Проксимальные канальцы	3,87±0,4	4,1±0,31	2,58±0,24*** <sup>K</sup>	1,5±0,13**** <sup>K</sup>	6,62±0,34**** <sup>K</sup>	2,26±0,14**** <sup>K</sup>
Петли Генле	0,92±0,06	0,49±0,05**** <sup>И</sup>	1,72±0,14*** <sup>K</sup>	0,84±0,04**** <sup>K</sup>	3,79±0,42**** <sup>K</sup>	1,85±0,11**** <sup>K</sup>
Дистальные канальцы	2,7±0,4	1,64±0,16** <sup>И</sup>	2,75±0,24*** <sup>K</sup>	2,01±0,16	5,01±0,31**** <sup>K</sup>	3,54±0,43**** <sup>K</sup>

Медный искусственный микроэлементоз наблюдается у рабочих медеплавильных предприятий [96], потребляющих большое количество воды, как и в любом другом плавильном производстве. Поэтому примененная нами экспериментальная модель – хронический микроэлементоз с последующей водной нагрузкой не кажется надуманным. Кроме того, такой микроэлементоз наблюдается у женщин, использующих с целью контрацепции внутриматочные спирали с медной проволокой [96]. В естественных условиях сочетание медного микроэлементоз и большого потребления воды может наблюдаться в местностях с жарким климатом, где наблюдается более высокая частота сердечно-сосудистой патологии, чем в местностях с умеренным климатом. Такие местности встречаются, например, в Башкирии и на Южном Урале [96]. Возможно, что медный микроэлементоз в этих условиях также является фактором патогенеза сердечно-сосудистой патологии, поскольку избыток меди сопровождается частичной и даже полной блокадой проводимости по отдельным нервным волокнам, извращает интероцептивные реакции сердечно-сосудистой и дыхательной систем, возбудимость холино- и адренореактивных систем [96]. По-видимому, медь имеет непосредственное отношение к водно-солевому обмену, поскольку при вызванном дефицитом меди нарушении функции медьзависимой дофамин- $\beta$ -гидроксилазы, кроме других нарушений, наблюдается дегидратация [28].

Судя по литературным данным, медь  $10^{-8}$ - $10^{-6}$  М уменьшает амплитуду сокращений изолированного сердца лягушки, эта реакция блокируется атропином. Внутривенное введение 100 мкг ионизированной меди уменьшает тормозное влияние вагуса на миокард кроликов и длительность прессорной реакции на введение адреналина. Цинк  $10^{-4}$  М уменьшает амплитуду сокращений изолированного сердца и замедляет внутрисердечную проводимость, а, кроме того – усиливает кардиодепрессивное действие ацетилхолина, его эффекты также блокируются атропином [83], то есть, холинергические эффекты меди и цинка противоположны.

В наших исследованиях, в течение всего периода питьевого потребления  $\text{Cu}^{++}$  (24 недели), масса крыс как интактной, так и экспериментальной групп не различалась. Не смотря на это, масса почек крыс контрольной группы достоверно меньше, чем у интактных крыс. Масса почек крыс получавших водную нагрузку достоверно больше, чем у крыс, с нагрузкой только  $\text{Zn}^{++}$  и статистически не различается с интактной группой. Этот результат может быть интерпретирован следующим образом. С одной стороны, цинк мог селективно уменьшить число митозов в почке. Но с другой стороны, мы наблюдали восстановление массы почек подопытных крыс, получивших нагрузку водой на фоне нагрузки цинком, до уровня, сравнимого с массой интактных крыс. Поскольку маловероятно, что водная нагрузка вызвала настолько быструю пролиферацию, что за четыре часа эксперимента клеточная масса увеличилась на 20%, то этот эффект возможно объяснить только увеличением гидратированности органа. Поскольку известно, что ион цинка является необходимым компонентом функционально способного тубулина [3], постольку предположение, что его избыток или недостаток может изменять лимфатическое дренирование органов, кажется убедительным.

При естественном цинковом микроэлементозе у практически здоровых детей наблюдается относительное увеличение количества Т- и В-лимфоцитов и иммуноглобулинов классов А и М [96]. Искусственный цинковый микроэлементоз, видимо, реализуется при лечении препаратами, содержащими высокие дозы цинка, например,

цинктералом, содержащим 45 мг ионизированного цинка в одной таблетке, №П №011693/01-2001. Максимальная суточная доза ионизированного цинка при использовании этого препарата для лечения злокачественной алопеции, согласно прилагаемой инструкции, составляет 270 мг! без указания продолжительности лечения. Рекомендованный дозовый режим цинктерала сопоставим с применявшимися нами дозами цинка.

Биологически эффекты микроэлементов реализуются несколькими механизмами:

- участием в образование аллостерического центра металлозависимых ферментов;
- связыванием с регуляторными сульфгидрильными группами, что сопровождается как изменением ферментативной активности, например, протеинкиназ, так и некоторых рецепторных систем;
- блокадой активного центра фермента;
- нарушением транспорта ионов в ближайшем окружении ферментативной или рецепторной системы;
- нарушением транспорта ионов через лиганд- либо потенциалзависимые каналы-ионофоры;
- как донаторы электронов для отдельных группировок нуклеиновых кислот [83].

Кроме того, предполагается участие микроэлементов в регуляции деятельности рецепторов [83]. Длительное потребление в течение 24 недель ионов меди в дозе  $6,0 \pm 0,02$  мг/кг массы и эквимолярного количества ионов цинка вызывают противоположное изменение количества ацетилхолина в почке и однонаправленное в ее капсуле. Оба микроэлемента изменяют реакцию почки на нагрузку объемом. В капсуле почки потребление ионов меди инвертировало ацетилхолиновый ответ, а ионов цинка усиливало. В структурах нефрона происходит задержка ответа, если водная нагрузка увеличивает уровень ацетилхолина в первые часы, то на фоне нагрузки этими ионами ответ наблюдался в конце эксперимента и более выражен.

После длительного приема цинка наблюдается полное изменение реакции капсулы почки на нагрузку водой. Во-первых, у крыс, получавших  $Zn^{++}$ , уровень ацетилхолина в капсуле почки снижен, по сравнению с интактными животными. Тогда как в почках длительный прием ионов цинка не вызывал значительных отличий интактных и подопытных крыс по флуоресценции ацетилхолина. Во-вторых, водная нагрузка на фоне длительного приема  $Zn^{++}$  в почечной капсуле индуцирует двукратное уменьшение количества ацетилхолина, тогда как в почках наблюдается значительное увеличение тканевых концентраций в 3-й час эксперимента. Более активный холинергический ответ в условиях избытка ионов цинка, возможно, связан с подавлением цинком активности ацетилхолинэстеразы [307].

Если длительное потребление ионов цинка увеличивало флуоресценцию ацетилхолина в капсуле почки, то потребление ионов меди в течение 6 месяцев вызывало двукратное уменьшение уровня ацетилхолина у контрольных крыс, по сравнению с интактными животными. Так же в отличие от введения на фоне приема  $Zn^{++}$  водная нагрузка индуцировала увеличение интенсивности флуоресценции ацетилхолина, которое было более интенсивным, чем только при водной нагрузке, без предшествующего насыщения ионами меди.

Как и для почечной капсулы, патоморфоз реакции трансммиттерного статуса на водную нагрузку, индуцированный длительным потреблением избытка меди или цинка, для почки в целом оказался характерен. Водная нагрузка увеличивает флуоресценцию ацетилхолина во всех частях нефрона, особенно сильно – в проксимальных канальцах, как это было описано выше. Поскольку никем ранее не было показано, что медь-зависимые ферменты, участвуют в синтезе ацетилхолина и его деградации, то мы не ожидали изменения уровня флуоресценции ацетилхолина у контрольных крыс по сравнению с интактными животными. Длительный прием ионов меди уменьшал количество ацетилхолина в субкапсулярных клубочках. Как известно, здесь осуществляется экстранейрональный синтез ацетилхолина из холина [276, 182], поэтому мы можем предположить, что избыток ионов меди в организме уменьшает экстранейрональный синтез ацетилхолина в субкапсулярных клубочках. Медь может реализовать этот эффект путем нарушения захвата холина клетками клубочков, или блокируя ацетил-КоА и/или холинацетилазу, либо через активацию холинэстеразы. Однако выяснение точных механизмов требует дальнейшего исследования.

Водная нагрузка на фоне длительного потребления ионов меди уменьшает флуоресценцию ацетилхолина в клубочках и петле Генле в 1-ый, 2-ой и 3-ий часы наблюдения. Но к 4-му часу уровень ацетилхолина увеличивается в канальцах и петлях Генле, что аналогично исследованию только с водной нагрузкой. В клубочках к этому часу количество передатчика восстанавливается до уровня, немного большего, чем исходный. Но реакция запаздывает, по сравнению с интактными почками. Возможно, это связано с необходимостью дополнительного синтеза ацетил-КоА и/или холинацетилазы для реализации почкой нормального ответа на водную нагрузку в этих условиях. Такой механизм предполагает прямое участие ядер клеток нефрона в реализации диуреза. Работ, в которых бы исследовалось влияние длительного приема цинка и водной нагрузки на фоне длительного приема цинка на трансммиттерный статус почки, нам не известно. Кроме того, изучение биологической активности редких элементов, как правило, ограничивается исследованием заболеваний, вызванных их дефицитом, или избытком, или дисбалансом. Тогда как их физиологическая роль остается за пределами внимания большинства исследователей. Например, цинк уменьшает эндотелиальную дисфункцию клеток, высвобождение простаглицлина и оксида азота, вызванное активацией  $M_1$ -холинорецепторов [272]. Увеличение цинка в диете (2 г/сут в виде глюконата) вызывает медь-дефицитную анемию и клинически значимый нефроз [203]. Цинк 6 мг/л вызывает у карпа сильное подавление антихолинэстеразной активности во всех тканях и органах [307].

Согласно литературным данным, цинк блокирует ацетилхолинэстеразную активность [307], эти данные хорошо коррелируют с наблюдавшимся нами увеличением люминесценции ацетилхолина в юкстамедуллярных клубочках, индуцированным длительным приемом  $Zn^{++}$ . В петлях Генле и дистальных канальцах наблюдался противоположный эффект – уменьшение люминесценции ацетилхолина. Следовательно, количественные изменения уровня ацетилхолина нельзя объяснить изменением активности ацетилхолинэстеразы, иначе приходится делать маловероятное допущение, что цинк в одних частях нефрона увеличивает активность этого фермента, а в других – блокирует. Поэтому более вероятным кажется предположение, что цинк регулирует синтез ацетилхолина, но повышающая или понижающая регуляция зависят



от клеточной потребности, а не от факта воздействия регулятора. Такие взаимоотношения имеют место, например, при реализации глюкокортикоидного эффекта [24].

Как нами сообщалось ранее, водная нагрузка сама по себе увеличивает флуоресценцию ацетилхолина [233]. Но на фоне длительного приема цинка мы наблюдали двухфазный ответ на водную нагрузку: люминесценция ацетилхолина уменьшалась в первую фазу и увеличивалась во вторую. Исходя из этих данных, мы можем утверждать, что цинк реверсирует реакцию холинергических систем почки на нагрузку водой. Однако, возможно, что генетически почка нуждается в увеличении количества ацетилхолина для реализации диуретического ответа при нагрузке объемом. Поэтому, не смотря на вызванное цинком нарушение, естественный ответ все-таки реализуется во вторую фазу. И это также косвенно подтверждает высказанное выше предположение, что цинк влияет на синтез ацетилхолина в почке.

## **2.6. Влияние водной нагрузки и длительного приема $\text{Cu}^{++}$ и $\text{Zn}^{++}$ на содержание ацетилхолина в тимусе**

Поскольку синтезируемый в тимусе тималин содержит цинк [262, 281], являющийся его обязательным компонентом, имело смысл исследовать, как длительное питьевое потребление ионов цинка и меди скажется на транзиттерном статусе тимуса. Эксперимент был выполнен на 10 крысах по схеме, аналогичной предыдущим. Восемь крыс получили водную нагрузку в объеме 6% от массы тела внутривентриально, и две интактных служили контролем. Интактные и контрольные крысы были подвергнуты эфирной анестезии. Изъятые тимусы взвешивали на аналитических весах и немедленно помещали на криостатные блоки, предварительно охлажденные до  $-15^{\circ}\text{C}$ . В срезах тимуса исследовали уровень люминесценции ацетилхолина, гистамина, катехоламинов и серотонина в гранулярных люминесцирующих клетках (ГЛК) и их ближайшем окружении в септе, субсептальной, парамедуллярной и медуллярной областях тимуса, а также в толще его коркового вещества. Полученный цифровой материал был использован для вычисления индекса  $I_{G/S}$ :

$$I_{G/S} = (\text{люминесценция ГЛК}) / (\text{люминесценция ближайшего клеточного окружения ГЛК}),$$

отдельно для катехоламинов, серотонина и гистамина.

Масса тимуса контрольных крыс составила  $137,0 \pm 16,0$  мг, группы внутреннего контроля (получали  $\text{Cu}^{++}$  в течение 6 месяцев) –  $166,0 \pm 66,0$  мг, экспериментальных крыс, получавших водную нагрузку (после 6 месяцев приема  $\text{Cu}^{++}$ ) –  $131 \pm 11$  мг и статистически не различалась. Прием  $\text{Cu}^{++}$  был причиной значительного увеличения содержания ацетилхолина во всех отделах тимусной дольки (табл. 9) [236].

Водная нагрузка статистически значительно уменьшила количество ацетилхолина во всех частях дольки тимуса без восстановления ее до начального уровня. В отличие от длительного приема меди, длительное потребление цинка не вызывало падеж подопытных животных. Наблюдался токсический эффект, в виде отсутствия беременностей в течение всего периода наблюдения. Нагрузка ионами цинка не вызывала различий динамики массы подопытных животных по сравнению с контролем. Начальная

масса контрольных крыс составляла 135,0±16,0 г, финальная масса – 193,0±31,0 г, у экспериментальных крыс начальная масса была 132,0±7,0 г, финальная – 222,0±9,0 г.

Таблица 9

Влияние водной нагрузки на флуоресценцию ацетилхолина (мВ) в структурах тимуса на фоне длительного приема  $\text{Cu}^{++}$  или  $\text{Zn}^{++}$ , N=15, n=20, M±m

	Контрольный тимус	Тимус внутреннего контроля	Водная нагрузка			
			1 час	2 час	3 час	4 час
<b><math>\text{Cu}^{++}</math></b>						
СО	0,77±0,05	2,78±0,13*	0,77±0,07	1,33±0,1	0,94±0,04	1,02±0,05
		<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>
ТКВ	1,01±0,05	2,56±0,05*	0,9±0,09	0,8±0,02	0,93±0,09	0,83±0,08
		<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>
ПО	0,85±0,07	1,92±0,03*	1,22±0,1	1,13±0,09	1,09±0,07	1,42±0,07
		<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,001</b>	<b>p&lt;0,001</b>	<b>p&lt;0,001</b>	<b>p&lt;0,001</b>
МО	0,79±0,03	1,28±0,13*	0,64±0,05	0,51±0,02	0,42±0,04	0,93±0,04
		<b>p&lt;0,05</b>	<b>p&lt;0,05</b>	<b>p&lt;0,05</b>	<b>p&lt;0,05</b>	<b>p&lt;0,05</b>
С	0,41±0,06	0,87±0,08*	0,36±0,08	0,29±0,02	0,4±0,02	0,23±0,02
		<b>p&lt;0,05</b>	<b>p&lt;0,01</b>	<b>p&lt;0,01</b>	<b>p&lt;0,01</b>	<b>p&lt;0,01</b>
<b><math>\text{Zn}^{++}</math></b>						
СО	0,32±0,02	2,36±0,34*	0,6±0,06	2,09±0,19	3,57±0,29	1,57±0,16
		<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,001</b>	NS	NS	NS
ТКВ	0,27±0,02	1,12±0,08*	0,54±0,05	2,71±0,23	1,67±0,12	1,04±0,18
		<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,001</b>	NS
ПО	0,69±0,09	2,59±0,38*	0,71±0,06	2,86±0,15	3,84±0,43	3,36±0,43
		<b>p&lt;0,001</b>	<b>p&lt;0,001</b>	NS	NS	NS
МО	0,28±0,01	0,49±0,03*	0,29±0,03	1,23±0,07	1,38±0,13	0,55±0,05
		<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>	NS
С	0,25±0,01	0,37±0,03*	0,24±0,01	0,22±0,02	1,07±0,1	0,2±0,01
		<b>p&lt;0,05</b>	<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>	<b>p&lt;0,0001</b>

Примечание, здесь и далее: тимус интактных крыс – крысы не получали ни нагрузку медью, ни нагрузку водой; контрольный тимус – крысы получали нагрузку только медью или цинком, но не водную нагрузку; 1 час ... 4 час – время от введения водной нагрузки на фоне приема  $\text{Cu}^{++}$  или  $\text{Zn}^{++}$  до эвтаназии. \* – данные различаются со значениями контрольных крыс, без \* – данные различаются со значениями крыс внутреннего контроля.

СО – субсептальная область; ТКВ – толщина коркового вещества; ПО – парамедуллярная область; МО – медуллярная область; С – септа.

Влажная масса тимуса контрольных крыс составила 137,0±12,0 мг/100 г массы тела; крыс, получавших  $\text{Zn}^{++}$  в течение 24 недель – 122,0±7,0 мг/100 г массы тела (внутренняя контрольная группа отличается от контрольной,  $p<0,01$ ), и у крыс, получавших как  $\text{Zn}^{++}$ , так и водную нагрузку 6% от массы тела внутрибрюшинно, – 203,0±17,0 мг/100 г массы тела. Влажная масса тимуса экспериментальных крыс достоверно отличается от массы крыс как контрольной группы ( $p<0,02$ ), так и внутреннего контроля ( $p<0,01$ ) [238].

Длительное потребление  $\text{Zn}^{++}$  было причиной достоверного увеличения уровня ацетилхолина в структурах дольки тимуса крыс группы внутреннего контроля. В суб-

септальной области содержание этого трансмиттера было выше, чем в интактной ткани в 7 раз ( $p < 0,0001$ ), в толще коркового вещества и парамедуллярной области в 4 и 3,7 раза соответственно ( $p < 0,001$ ). Уровень ацетилхолина в мозговом веществе долек было выше, чем в интактной на 70% ( $p < 0,001$ ), а в септе – в 1,5 раза ( $p < 0,03$ ) (табл. 9). У подопытных крыс после гидратации в структурах субсептальной области люминесценция медиатора уменьшилась в 4 раза к концу первого часа эксперимента ( $p < 0,001$ ) и на 50% – к концу третьего ( $p < 0,01$ ) по сравнению с внутренним контролем.

К концу 2-го и 4-го часов эксперимента не наблюдалось достоверных изменений уровня люминесценции. В толще коркового вещества количество ацетилхолина уменьшилось в 2 раза и оставалось сниженным по сравнению с внутренним контролем ( $p < 0,0001$ ). К концу третьего часа уровень трансмиттера был на 50% ниже, чем на внутреннем контроле ( $p < 0,0001$ ) и более не менялся. В парамедуллярной области интенсивность люминесценции исследуемого вещества к концу первого часа была ниже внутреннего контрольного уровня в 3,7 раза ( $p < 0,001$ ) и не отличалась от внутреннего контроля к концу второго часа после нагрузки.

С третьего часа люминесценция была выше на 50%, чем на внутреннем контроле ( $p < 0,05$ ). Уровень ацетилхолина достоверно уменьшался на 70% ( $p < 0,001$ ) в мозговом веществе дольки к концу 1-го часа наблюдения. В следующие два часа уровень медиатора превышал внутренний контрольный в 2,6-2,7 раза ( $p < 0,0001$ ). В септах флуоресценция ацетилхолина была ниже внутреннего контроля на 35-45% ( $p < 0,0001$ ) к концу 1-го, 2-го и 4-го часов наблюдения, и в 3 раза выше ( $p < 0,0001$ ) к концу 3-го часа после гидратации (табл. 9).

Таким образом, если длительный прием меди не меняет массу тимуса, то прием эквивалентного количества цинка уменьшает ее, а водная нагрузка на этом фоне резко увеличивает массу тимуса. Оба металла, увеличивают флуоресценцию ацетилхолина в тимусе, однако водная нагрузка на фоне длительного приема меди резко снижает количество ацетилхолина в тимусе, а после приема цинка наблюдается фазная реакция – резкое снижение в первый час и последующий рост выше контрольного уровня. Реакции почки и тимуса на фоне приема цинка в целом совпадают, а на фоне приема меди – противофазны.

## **2.7. Реакция экстранейронального ацетилхолина миокарда на гиперсимпатикотонию**

Приведенные нами данные свидетельствуют о значительной роли тканевых трансмиттеров в реализации ответа изучаемых органов на предъявляемые нагрузки. В связи с этим в отношении миокарда можно утверждать, что вопрос о влиянии на миокард симпатических аминов до настоящего времени является актуальным, не смотря на проведенные ранее многочисленные исследования. В частности это связано с тем, что в ранее проведенных исследованиях не учитывалось происхождение катехоламинов, влияющих на миокард. Это могут быть как нейрональный норадреналин, так и гуморальный адреналин и дофамин, так и, исходя из данных, приведенных в литературном обзоре, норадреналин и адреналин, синтезируемые в самом миокарде. Кроме того, по крайней мере, часть катехоламинов плазмы из артериального русла миокарда через интерстиций переносится в венозные сосуды с участием специфичных транс-

портеров [174, 332]. В практическом смысле более интересны данные о долговременном влиянии катехоловых аминов, либо близких к ним лигандов, чем данные о краткосрочном воздействии. Поэтому многочисленные эксперименты, например, с острой стимуляцией симпатических или холинергических нервов миокарда, с острым введением адреналина в общий кровоток и последующим немедленным изучением содержания катехоламинов в миокарде [29] практически ничего не дают для понимания механизмов физиологической адаптации организма к естественной гиперсимпатикотонии – нейроэндокринном дисбалансе, являющемся одной из важных причин развития сердечной недостаточности. На начальных этапах симпатические нейроэндокринные нарушения имеют адаптационно-компенсаторное значение в развитии хронической сердечной недостаточности, при которой, наряду с повышением суточной почечной экскреции норадреналина, его содержание в миокарде уменьшается иногда в 10 раз [70]. Кроме того, вопросы экстранейрональной комедации в миокарде при длительной симпатической стимуляции, по-видимому, не исследовались. Поскольку в доступной литературе сведений о хронических экспериментах по влиянию длительной симпатической активации на трансмиссерный статус миокарда мы не обнаружили, то было предпринято данное исследование.

В эксперименте использовано двадцать четыре крысы массой  $160 \pm 5$  г. в течение декабря. Двенадцать крыс были использованы как контроль и содержались в отдельной клетке. Вторая группа из двенадцати крыс получала ежедневно вместо питьевой воды 0,005% раствор мезатона в режиме свободного доступа. Поение продолжали в течение четырех недель. Кроме того, ежедневно в 18.00 крысы получали адреналин в дозе 1 мг/кг внутримышечно. Потребление мезатона контролировали ежедневно. В конце каждой недели по три подопытных крысы и три контрольных подвергались эфирной эвтаназии. Массу сердец исследовали на аналитических весах, затем их немедленно помещали на предварительно охлажденный до  $-21^\circ\text{C}$  криостатный блок и замораживали, после чего приготавливали поперечные криостатные срезы толщиной 20 мкм из предсердий и желудочков. В целях стандартизации показателей влажная масса сердец была пересчитана на 100 г. стандартной массы крыс, за стандарт приняли среднюю массу крыс. Люминесцентно-гистохимическое исследование миокарда осуществляли, как описано выше. При выбранном нами дозовом режиме суточный объем потребления воды менялся скачкообразно, со средней продолжительностью периода  $7 \pm 1$  день, что отражено на Рис. 12, в связи с чем, менялась и ежедневная потребляемая доза мезатона (Рис. 13). Таким образом, в последнюю неделю эксперимента суточная доза мезатона составила  $14,8 \pm 0,5$  мг/кг массы, что является максимально-переносимой суточной дозой [33]. С нашей точки зрения это является адекватной моделью симпатоадреналового типа артериальной гипертензии. Гиперсимпатикотония увеличивала стандартную массу сердец подопытных крыс к концу 2-й недели от  $1,16 \pm 0,27$  у интактных крыс до  $1,94 \pm 0,36$  г/100 г у подопытных ( $p < 0,05$ ), затем масса вернулась к интактному уровню. На 4-й неделе в последние двое суток эксперимента у подопытных крыс наблюдались отеки по типу анасарки, у этих же крыс при микроскопии срезов миокарда обнаруживались множественные некрозы, определяющиеся по не люминесцирующим участкам миокарда, тогда как у крыс, подвергнутых эвтаназии в предыдущие недели значительных структурных изменений не наблюдалось. Статистически значимых различий между контрольными крысами, подвергнутыми эвтаназии в разные недели, не найдено.

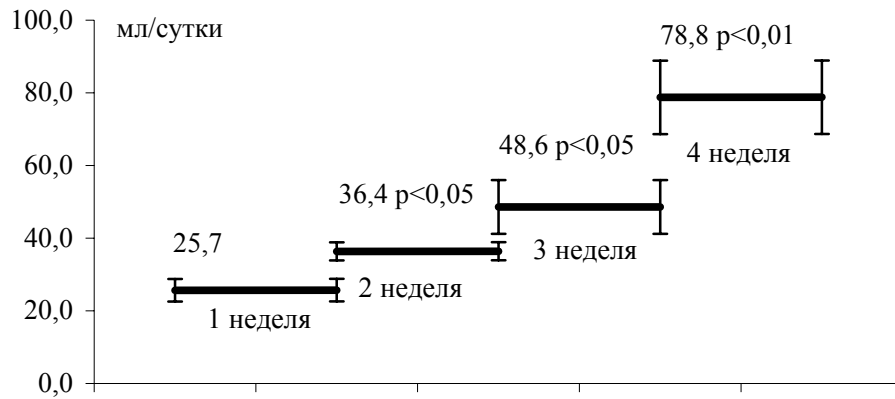


Рис. 12. Суточное потребление воды, N=15, n=3

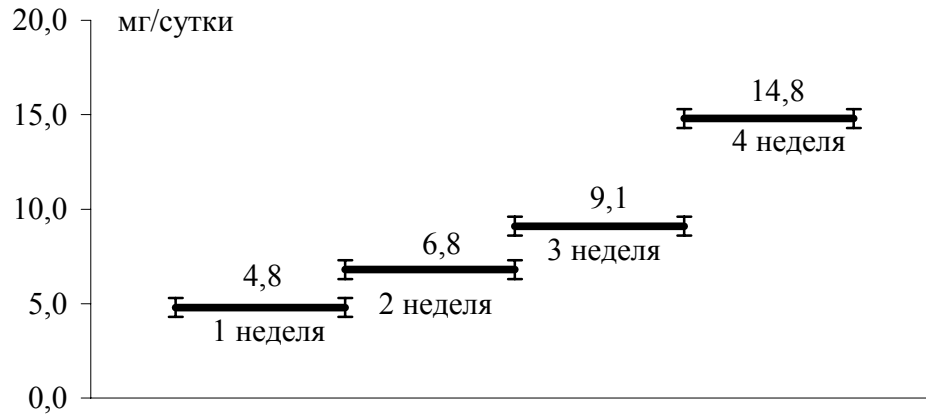


Рис. 13. Изменение суточной дозы мезатона в зависимости от изменения потребления воды

Нагрузка катехоламинами угнетала флуоресценцию ацетилхолина на 60-65% в левых отделах миокарда к концу 1-й недели ( $p < 0,05$ ). К концу 2-й недели в субэндокардиальной области правого желудочка и их перегородке, в отличие от остального миокарда, уровень ацетилхолина увеличился на 61% ( $p < 0,01$ ) и 95% соответственно ( $p < 0,001$ ), по сравнению с интактными крысами и на 62-64% ( $p < 0,01$  и  $p < 0,001$ ), по сравнению с подопытными крысами первой недели. Во всех других областях количество ацетилхолина было сопоставимо с интактным уровнем, но выше, чем у крыс первой недели на 53-105%, что совпадает с увеличением массы миокарда (табл. 10). В последующем, параллельно с падением массы, уровень ацетилхолина снижался в субэпикардиальной области предсердий на 59% ( $p < 0,05$ ) и в субэндокардиальной области обоих желудочков на 82% ( $p < 0,01$ ), по сравнению с контролем. По сравнению с крысами первой недели уменьшение произошло на 17-52% ( $p < 0,001$ ). К концу четвертой недели флуоресценция ацетилхолина резко возрастала в перегородке предсердий на 138% ( $p < 0,001$ ) и желудочков на 90% ( $p < 0,001$ ), в левом желудочке и субэндокардиальной области правого желудочка также наблюдалось увеличение флуоресценции ацетилхолина в среднем на 37-60% ( $p < 0,001$ ).

Таблица 10

Влияние гиперсимпатикотонии на уровень ацетилхолина в предсердиях и желудочках, N=24, n=30.  
ЭПО – субэпикардальная область, ЭНО – субэндокардиальная область

		Недели			
		1	2	3	4
		контр/опыт	контр/опыт	контр/опыт	контр/опыт
Предсердия	Субэпикардальная область	$\frac{3,8 \pm 0,7}{3,1 \pm 0,2}$	$\frac{4,9 \pm 1,0}{5,7 \pm 0,4}^{\circ \circ \circ}$	$\frac{4,3 \pm 0,7}{2,7 \pm 0,2}^{*/\circ \circ \circ}$	$\frac{4,0 \pm 0,6}{4,3 \pm 0,3}^{\circ \circ \circ}$
	Субэндокардиальная область	$\frac{3,9 \pm 0,6}{3,1 \pm 0,4}$	$\frac{4,2 \pm 0,7}{5,4 \pm 0,3}^{\circ \circ \circ}$	$\frac{4,0 \pm 0,6}{2,8 \pm 0,3}^{\circ \circ \circ}$	$\frac{3,9 \pm 0,7}{3,4 \pm 0,1}$
	перегородка	$\frac{3,6 \pm 0,6}{3,2 \pm 0,3}$	$\frac{3,6 \pm 0,6}{4,9 \pm 0,3}^{\circ \circ \circ}$	$\frac{5,3 \pm 1,8}{2,6 \pm 0,3}^{\circ \circ \circ}$	$\frac{3,6 \pm 0,6}{8,6 \pm 0,9}^{***/\circ \circ \circ}$
Желудочки	левый субэпикардальная область	$\frac{3,2 \pm 0,4}{2,0 \pm 0,3}^*$	$\frac{3,8 \pm 0,5}{3,8 \pm 0,3}^{\circ \circ \circ}$	$\frac{3,4 \pm 0,5}{3,4 \pm 0,2}$	$\frac{3,2 \pm 0,3}{4,4 \pm 0,4}^{*/\circ}$
	левый субэндокардиальная область	$\frac{3,3 \pm 0,5}{2,0 \pm 0,1}^*$	$\frac{3,2 \pm 0,5}{4,0 \pm 0,3}^{\circ \circ \circ}$	$\frac{3,1 \pm 0,4}{1,7 \pm 0,1}^{**/\circ \circ \circ}$	$\frac{3,3 \pm 0,5}{5,3 \pm 0,5}^{**/\circ \circ \circ}$
	правый субэпикардальная область	$\frac{3,0 \pm 0,4}{3,0 \pm 0,2}$	$\frac{3,1 \pm 0,5}{3,2 \pm 0,2}$	$\frac{3,3 \pm 0,6}{2,4 \pm 0,2}^{\circ \circ}$	$\frac{3,1 \pm 0,5}{4,5 \pm 0,3}^{*/\circ \circ \circ}$
	правый субэндокардиальная область	$\frac{2,7 \pm 0,3}{2,6 \pm 0,1}$	$\frac{2,6 \pm 0,4}{4,2 \pm 0,4}^{**/\circ \circ}$	$\frac{3,0 \pm 0,4}{1,7 \pm 0,1}^{**/\circ \circ \circ}$	$\frac{3,0 \pm 0,6}{3,8 \pm 0,2}^{\circ \circ \circ}$
	перегородка	$\frac{2,3 \pm 0,2}{2,5 \pm 0,2}$	$\frac{2,1 \pm 0,3}{4,1 \pm 0,4}^{***/\circ \circ \circ}$	$\frac{2,3 \pm 0,3}{1,5 \pm 0,1}^{**/\circ \circ \circ}$	$\frac{2,2 \pm 0,3}{4,2 \pm 0,3}^{***/\circ \circ \circ}$

Примечание, здесь и далее: \* – p<0,05, \*\* – p<0,001, \*\*\* – p<0,001 по отношению к контролю;  
° – p<0,05, °° – p<0,01, °°° – p<0,001 по отношению к 1-й неделе

Уровень ацетилхолина под влиянием водной нагрузки последовательно меняется сначала в правых отделах миокарда, а затем в левых. Изменения его максимальны не в стенках, а в перегородке и предсердий и желудочков, где его люминесценция резко (в 5-7 раз) возрастала на максимуме увеличения объема циркулирующей крови: 2-3 час водной нагрузки. Согласно литературным данным, предсердия гораздо более иннервированы холинергическим нервами, чем желудочки [57], кроме того, в них выше активность холинэстеразы [170, 205]. То есть, наблюдается не только неоднородность иннервации, но и неоднородность ферментативного разрушения ацетилхолина. На первый взгляд это противоречит классическим физиологическим данными о рефлексе Бейнбриджа [128], однако обнаруженное нами увеличение ацетилхолина в межпредсердной и межжелудочковой перегородках с одной стороны, может являться частью механизма обратной отрицательной связи (направленной на уменьшение адренергической активации, индуцированной увеличением объема циркулирующей крови), а с другой – свидетельством функционального единства перегородки, искусственно разделяемой по анатомическому признаку на два самостоятельных образования.

В условиях обычной жизнедеятельности мы наблюдали большее содержание ацетилхолина в субэпикардиальной области, чем в субэндокардиальной и обратное соотношение катехоламинов. При водной нагрузке на пике диуретического ответа и увеличения объема циркулирующей крови (ОЦК) содержание ацетилхолина резко возрастает именно в перегородке как предсердий, так и желудочков. Очевидно, это обеспечивает максимальное увеличение ударного объема крови и разгрузку малого круга кровообращения. Возможно, что транзиттерная неоднородность является частью гипотетического механизма управления сегментарной неоднородности стенок миокарда. Кроме того, распределение нервных элементов миокарда явно не совпадает с обнаруженным нами тканевым распределением изучаемых транзиттеров. Поэтому правомочно предположение, что тонкая настройка сократимости миокарда в реальном масштабе времени осуществляется местными ауторегуляторными механизмами, складывающимися как из эффектов физического взаимодействия разнородных миофибрилл, так и местного высвобождения ацетилхолина, катехоламинов и серотонина, изменяющих параметры возбудимости и рефрактерности этих миофибрилл в зависимости от непосредственной потребности. Ясно, что нервная система с ее задержкой передачи сигнала в рефлекторной петле просто не способна осуществить такое регулирование, и необходима для коррекции сократимости в ответ на изменившиеся потребности организма в целом, а не для непосредственного управления. Соответственно миоциты должны иметь запас транзиттеров для обеспечения такой регуляции.

## ГЛАВА 3. ГИСТАМИНОВАЯ ПАРАКРИННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ

### 3.1. Тканевые эффекты гистамина

По-видимому, не существует необходимости доказывать, что гистамин является паракринным регулятором, поскольку за ним и без того утвердилась эта роль. Гистамин может выполнять как самостоятельную роль, так и модулировать эффекты других регуляторов клеточных функций. Например, между гистамином, ацетилхолином и серотонином, как биогенными регуляторами существует, по крайней мере, одна регуляторная связь, не обусловленная процессами нервной медиации. Серотонин, изначально идентифицированный как фактор плазмы, повышающий тонус сосудов, является либератором гистамина, а гистамин – блокатором ацетилхолинэстеразы [17]. Поэтому, как при увеличении тканевого содержания серотонина, так и при не вызванном серотонином увеличении содержания гистамина, следует ожидать увеличения холинергических влияний. Ряд авторов считает, что содержание гистамина в тканях почки незначительно [259, 266, 305, 326]. В то же время, почка оказалась единственным органом взрослой здоровой крысы, в котором удалось обнаружить суточные изменения уровня гистамина. Максимум катаболизма гистамина приходился на время перехода от темновой к световой фазе суток [250]. Кроме того, у крыс показана возможность синтеза гистамина из гистидина в клубочках [202]. У здоровых людей наблюдается два максимума экскреции гистамина в 12-15 и 18-21 ч, совпадающие с пиками экскреции 5-оксииндолилуксусной кислоты и диуреза [17]. Не смотря на то, что содержание гистамина в тканях почки оценивается как низкое, связывание в почках агониста  $H_3$ -рецепторов  $\alpha$ -метилгистамина, более высокое, чем в головном мозге [333], что может свидетельствовать об участии  $H_3$ -рецепторов в регуляции каких-то парциальных функций почки.

Почечный кровоток составляет около 30% ОЦК, а содержание гистамина в цельной крови здоровых людей изменяется от 0,02 до 0,12 мкг/л [44]. Не смотря на то, что содержание гистамина в тканях почки может быть и в самом деле низким, содержание гистамина в моче может быть высоким и не иметь почечного происхождения. Поскольку гистамин низкомолекулярное вещество, то он должен свободно фильтроваться в провизорную мочу, более того, его концентрация в моче может сильно увеличиваться в результате реабсорбции воды, а, следовательно, гистамин может регулировать не только тонус почечных сосудов, но и канальцевые функции. С другой стороны, гистамин может существовать в нескольких формах [17]:

- 1) свободный гистамин (считается, что в условиях обычной жизнедеятельности свободный гистамин, по крайней мере, в крови отсутствует) [120];
- 2) связанный гистамин
  - а) с белком класса иммуноглобулинов G [174] и
  - б) с гликопротеидами [175];
- 3) гистамин, содержащийся в тучных клетках;
- 4) гистамин, содержащийся не в тучных клетках;
- 5) гистамин, синтезируемый в клетках тканей.

Очевидно, что гистаминовая почечная регуляция может осуществляться, в основном, мобильным гистамином, которым является гистамин тучных клеток и гиста-



мин крови. Более того, также очевидно, что тканевое содержание гистамина может сильно увеличиваться при миграции тучных клеток в этот орган, что может зависеть от очень многих функциональных причин. Например, введение морским свинкам 2 мг диэнистрола в течение 10 дней вызывало уменьшение тканевого содержания гистамина в желудке, но содержание гистамина в коже при этом увеличивалось [17].

Вероятно, изменение содержания гистамина в почке может происходить в широких пределах по самым различным поводам. Так было обнаружено значительное увеличение содержания гистамина в гипоталамусе и почке у крыс при полном парентеральном питании [207]. Введение фактора активации тромбоцитов в перфузат изолированной перфузируемой почки вызывало образование лейкотриенов, простагландинов и серотонина. Кроме того, наблюдалось гистаминовое повреждение проксимальных канальцев [121], поскольку перфузия осуществлялась солевым раствором, а не кровью, то этот гистамин не мог иметь происхождение ни из крови, ни из тучных клеток, ни из тромбоцитов. Этот факт свидетельствует о возможности образования гистамина в почке *ex tempore*. Н.Е. Abboud [118] на культурах изолированных клубочков и канальцев показал, что гистамин синтезируется из L-гистидина в кортикальных клубочках и метаболизируется в кортикальных канальцах.

В другом наблюдении, гистамин в почке высвобождался тучными клетками в результате рефлюкса мочи, что авторы расценили как одну из причин болевой реакции при мочевом рефлюксе [315]. При инкубации почечных срезов в моче, наблюдалась дегрануляция тучных клеток в срезах [316].

Возможность гистаминовой регуляции, как тонуса почечных сосудов, так и транспортных функций канальцевого аппарата подтверждается сообщениями о выведении с финальной мочой как свободного (0-60 мкг/сут), так и связанного (0-227 мкг/сут) гистамина [171, 172, 173]. Кроме того, связывание гистамина (гистаминопексия), как показали многочисленные исследования, процесс динамический [17]. Поэтому обнаружение в финальной моче только связанного гистамина еще не является доказательством, что в данном исследовании не наблюдалось гистаминовой регуляции. В связи с этим обстоятельством – необходимо контролировать не только тканевое содержание гистамина, но и сопоставлять его с количеством тучных клеток, кроме того, были бы интересны эксперименты с сопоставлением содержания связанной и не связанной форм в различных отделах нефрона. Тучные клетки, как накопители гистамина, не являются чем-то уникальным. Некоторые группы клеток также могут накапливать гистамин [254]. Так, например, гистамин адсорбируют «не тучные клетки» правого, но не левого предсердия [17], сведений о наличии подобных клеток в почках не обнаружено.

В почках, по-видимому, функционально активны все три вида известных на сегодня гистаминовых рецепторов. Введение гистамина на фоне 250 мкг/кг  $H_1$ -антагониста дифенгидрамина вызывало увеличение скорости клубочковой фильтрации (СКФ), диурез, натри- и калиурез. В то время как циметидин не изменял антидиуретическое действие гистамина [230]. Связывание в почках агониста  $H_3$ -рецепторов  $\alpha$ -метилгистамина, более высокое, чем в головном мозге [333], что может свидетельствовать об участии  $H_3$ -рецепторов в регуляции каких-то парциальных функций почки. Активация  $H_1$ -рецепторов почки вызывает увеличение клубочкового плазматочка и общего давления ультрафильтрации, однако СКФ при этом не возрастает, кроме того, наблюдается уменьшение диуреза и хлоруреза [213]. Стиму-

лация почечных  $H_2$ -рецепторов напротив, вызывает увеличение диуреза и экскреции хлоридов, СКФ при этом также не меняется [130]. В другом исследовании было показано, что гистаминовая дилатация предварительно суженных почечных сосудов реализуется через  $H_2$ -рецепторы и блокируется ранитидином. Блокатор синтеза простагландинов индометацин и блокатор NO-синтазы NG-нитро-L-аргинин не изменяли сосудистую реакцию на гистамин [243]. Активация центральных и  $H_3$ -гистаминовых рецепторов симпатических нервных окончаний миокарда тормозит нейрональное высвобождение норадреналина и тем самым профилактирует адренергическое повреждение миокарда и развитие аритмий [239, 299, 300], кроме того, гистамин может модулировать высвобождение ацетилхолина, дофамина и серотонина [145].

Несмотря на то, что имеются весьма убедительные доказательства медиаторной роли гистамина [17], широко обсуждаются в основном его гуморальные эффекты. Между тем введение гистамина в дозе 100 мкг/кг в желудочки мозга анестезированного уретаном кролика вызывало антидиуретическую реакцию и уменьшение СКФ. Увеличение дозы, несмотря на дальнейшее уменьшение СКФ, приводило к развитию электролитурии. При денервации одной из почек, антидиурез наблюдался только в иннервированной почке. Резерпинизация не изменяла антидиуретический эффект церебрального введения гистамина, тогда как введение гистамина на фоне 250 мкг/кг  $H_1$ -антагониста дифенгидрамина вызывало увеличение СКФ, диурез, натри- и калиурез. В то время как циметидин не изменял антидиуретическое действие гистамина [230]. P.S. Key et al. [223] наблюдали уменьшение выделения кислот почкой у человека, вызванное кратковременным применением  $H_2$ -антагониста циметидина. Это наблюдение было ими подтверждено экспериментально. Крысы-самки линии Спрэг-Дэйли были беспорядочно распределены на три группы: одна из групп получала циметидин, другая гисталог, третья – плацебо. По сравнению с контрольной группой, у крыс, получавших циметидин, выделение титруемых и свободных кислот было сильно снижено, в то время как у получавших гисталог – увеличено. Наблюдаемые изменения состава мочи не были связаны с влиянием этих средств на желудочную секрецию кислот [223]. Эти данные свидетельствуют, что подкисление мочи у крыс под влиянием острых изменений происходит с участием  $H_2$ -гистаминовых рецепторов.

Возможно провести интересные параллели между способностью медиатора связываться с собственным рецептором и экскреторной электролитной активностью этого медиатора. Так связывание катехоламинов, особенно дофамина, возможно лишь в присутствии  $Na^+$  [88, 270, 330], дофамин рассматривается как почечный натрийуретический фактор [241]. Связывание гистамина с  $H_2$ -рецепторами осуществляется в результате протонирования азота боковой цепи и имидазольного кольца, способного переносить протон [17], гистамин, возбуждая  $H_2$ -рецепторы, активирует протонную помпу и выводит  $H^+$  в обкладочных клетках желудка.

### **3.2. Влияние изменения водного баланса и кислотно-основного состояния на тканевое содержание гистамина**

Люминесцентное обнаружение гистамина в тканях осуществляли с помощью метода S.A. Cross'a [159], основанного на реакции P.A. Shore et al. [297], в которой экстрагированный гистамин элюируют в водную фазу, содержащую ортофталевый

альдегид. Последний образует с гистамином сильно флуоресцирующее соединение. Реакция S.A. Cross'a [159] осуществляется в твердой фазе. Срезы, смонтированные на предварительно охлажденные предметные стекла, после подогревания помещали на 30 с при +100° С в камеру с парами ортофталевого альдегида. Затем срезы сразу же на 2 мин переносили в камеру со 100% влажностью при +100° С. После чего подсушивали при +80° С и немедленно микроскопировали при 507±13 нм (светофильтр N 7 насадки ФМЭЛ-1А), запирающий светофильтр ЖС18,  $\lambda_{\text{возбужд.}}=460$  нм, светофильтры ФС, БС, СЗС, на люминесцентном микроскопе «Люмам-4», люминиметрию осуществляли с помощью микролюминиметра ФМЭЛ-1А.

По уровню гистамина исследованная популяция крыс различалась на две группы: с относительно «высоким» содержанием гистамина и с относительно «низким» (Рис. 15) [50]. Кроме того, наблюдались достоверные различия интенсивности флуоресценции между субкапсулярными и юкстамедулярными клубочками ( $p<0,001$ ) при высоком исходном уровне флуоресценции гистамина (Рис. 15А), сохраняющиеся при водной нагрузке. При низком уровне гистамина таких различий нет (Рис. 15Б). Если флуоресценция гистамина в юкстамедулярных клубочках при высоком уровне значительно выше, чем в канальцевом аппарате, то при низком уровне катехоламинов флуоресценция в канальцах выше, чем в клубочках ( $p<0,05$ ). Как на фоне «высокого» уровня гистамина, так и на фоне «низкого», водная нагрузка уменьшала люминесценцию гистамина в проксимальных канальцах в первый час наблюдения и в дистальных канальцах на протяжении всего периода наблюдения ( $p<0,05$ ) (Рис. 15А). Лишение воды в первые сутки вызывало резкое угнетение люминесценции гистамина ( $p<0,001$ ) (Рис. 14) [51]. К концу вторых суток интенсивность люминесценции возвращалась к уровню интактного органа. Корреляционные отношения с уровнем ацетилхолина на фоне водной депривации во всех отделах нефрона  $r=-0,99$  ( $p<0,05$ ).

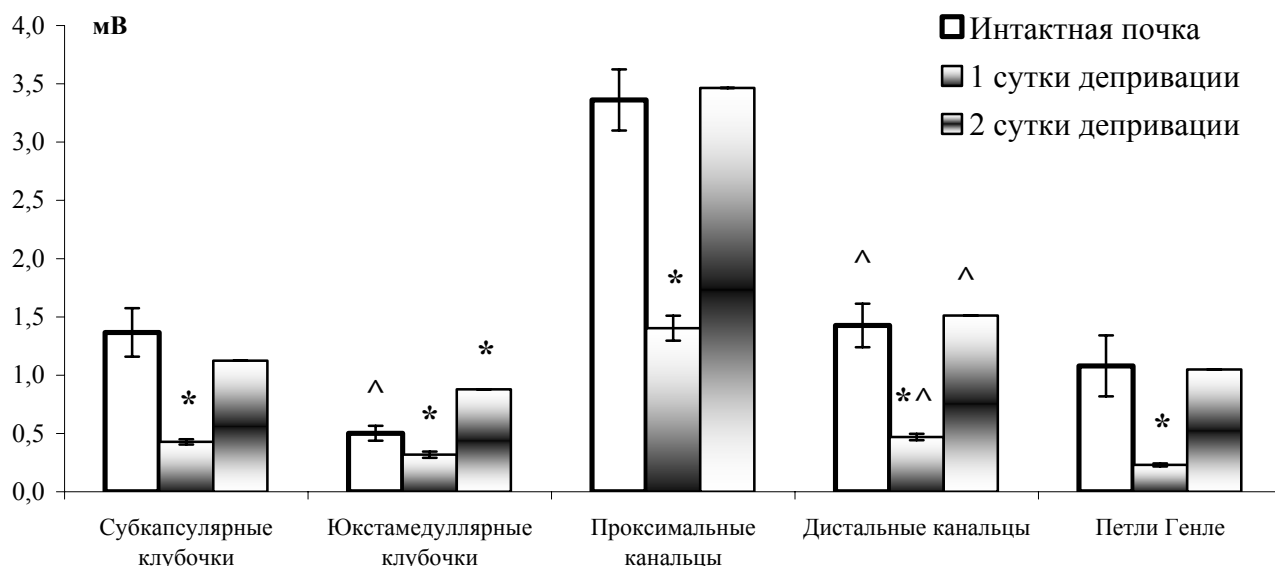


Рис. 14. Изменение флуоресценции гистамина в структурах нефрона крыс при водной депривации, N=9, n=60

Примечание: \* –  $p<0,001$  по отношению к интактному органу  
 $\wedge$  –  $p<0,001$  по отношению к аналогичному отделу нефрона

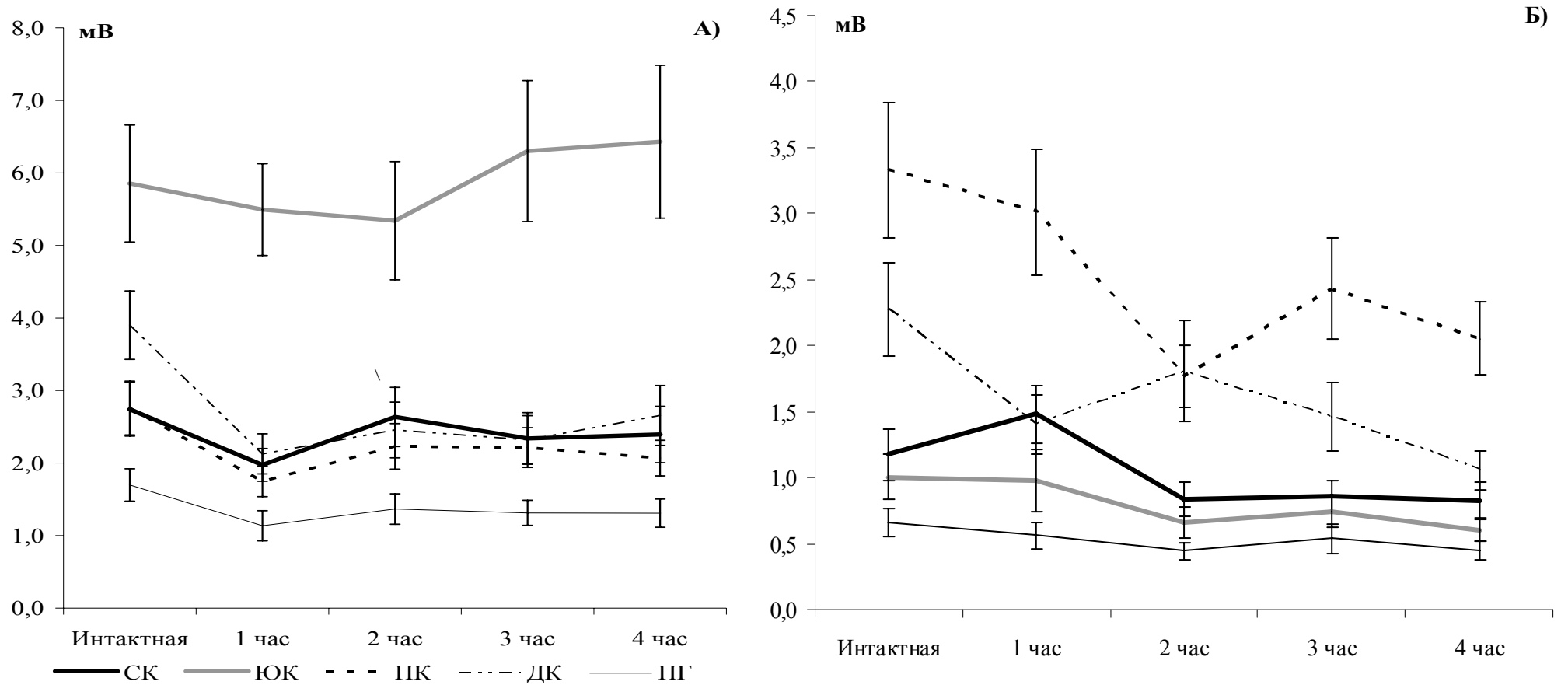


Рис. 15. Типы реакций на водную нагрузку в зависимости от исходного уровня гистамина А) изменение флуоресценции гистамина при высоком исходном уровне катехоламинов и гистамина (N=5, n=50), Б) изменение флуоресценции гистамина при низком исходном уровне катехоламинов и гистамина (N=4, n=40), все исходные данные статистически различимы ( $p < 0,01$ ), кроме проксимальных канальцев.

В капсуле почки в ответ на нагрузку водой уровень гистамина, в отличие от ацетилхолина, остается неизменным в первые часы эксперимента и только к концу 3-го часа наблюдается достоверное ( $p < 0,0001$ ) двукратное снижение его люминесценции (Рис. 16). К концу 4-го часа люминесценция становится близкой к исходному уровню.

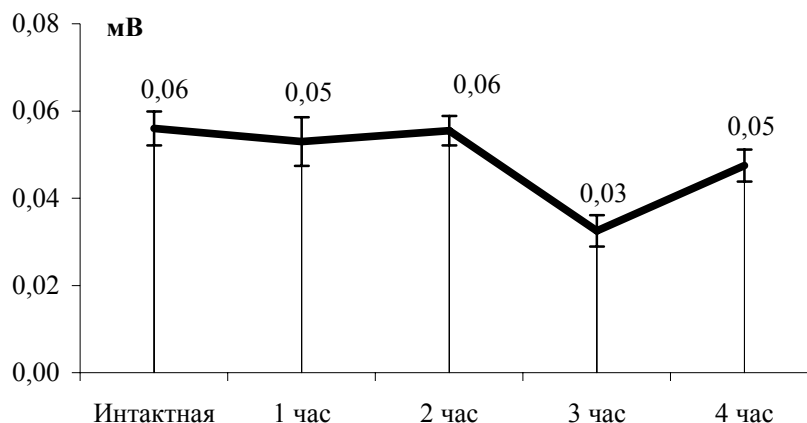


Рис. 16. Влияние водной нагрузки на уровень гистамина в капсуле почки, N=10, n=20

Между ацетилхолином и гистамином обнаруживается средняя отрицательная достоверная корреляция  $r = -0,59$  ( $p < 0,05$ ). Приведенные данные хорошо коррелируют с нашими результатами. Вне зависимости от исходного уровня гистамина мы не наблюдали достоверных изменений его люминесценции в клубочковом аппарате почки, в то время как в канальцах реализация диуретического ответа происходит на фоне снижения тканевого уровня гистамина, что представляется биологически целесообразной реакцией. Поскольку при различающемся в обеих группах исходном уровне гистамина мы наблюдали однотипный ответ, то можно предполагать, что гистаминовая регуляция диуреза не зависит от его абсолютного количества.

В миокарде водная нагрузка уже в первый час эксперимента вызывала увеличение люминесценции гистамина (Рис. 17А) в перегородке предсердий от  $0,17 \pm 0,02$  до  $0,26 \pm 0,001$  мВ ( $p < 0,01$ ). В стенках увеличение уровня наблюдалось во 2-й и 3-й час ( $p < 0,001$ ). В правом желудочке уровни гистамина увеличивались в среднем в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ). После этого в правых отделах миокарда наблюдалось дальнейшее увеличение содержания гистамина до 30-50% от исходного уровня. К четвертому часу содержание гистамина оставалось высоким. Но максимальная реакция наблюдалась в левой субэндокардиальной области ко второму часу от  $0,14 \pm 0,001$  до  $0,55 \pm 0,001$  мВ ( $p < 0,001$ ) (Рис. 17Б). Поскольку при водном диурезе, индуцированном нагрузкой водой, пик диуреза приходится на второй-третий час наблюдения, то, как и в случае с ацетилхолином, наблюдаемые изменения транзитного статуса миокарда совпадают с динамикой водного диуреза у крыс, описанной Е.Б. Берхиным [11, 12].

В ответ на водную нагрузку уровень гистамина в разных отделах тимуса менялся по-разному. В толще коркового вещества уровень гистамина увеличивался, а в других частях – уменьшался. Септы люминесцировали гораздо слабее и практически не содержали транмиттера. В гранулярных люминесцирующих клетках (ГЛК) уровень гистамина не менялся в септальной области (табл. 11). В толще коркового веще-

ства и парамедуллярной области наблюдалась тенденция к снижению уровня гистамина, а в медуллярной – к увеличению.

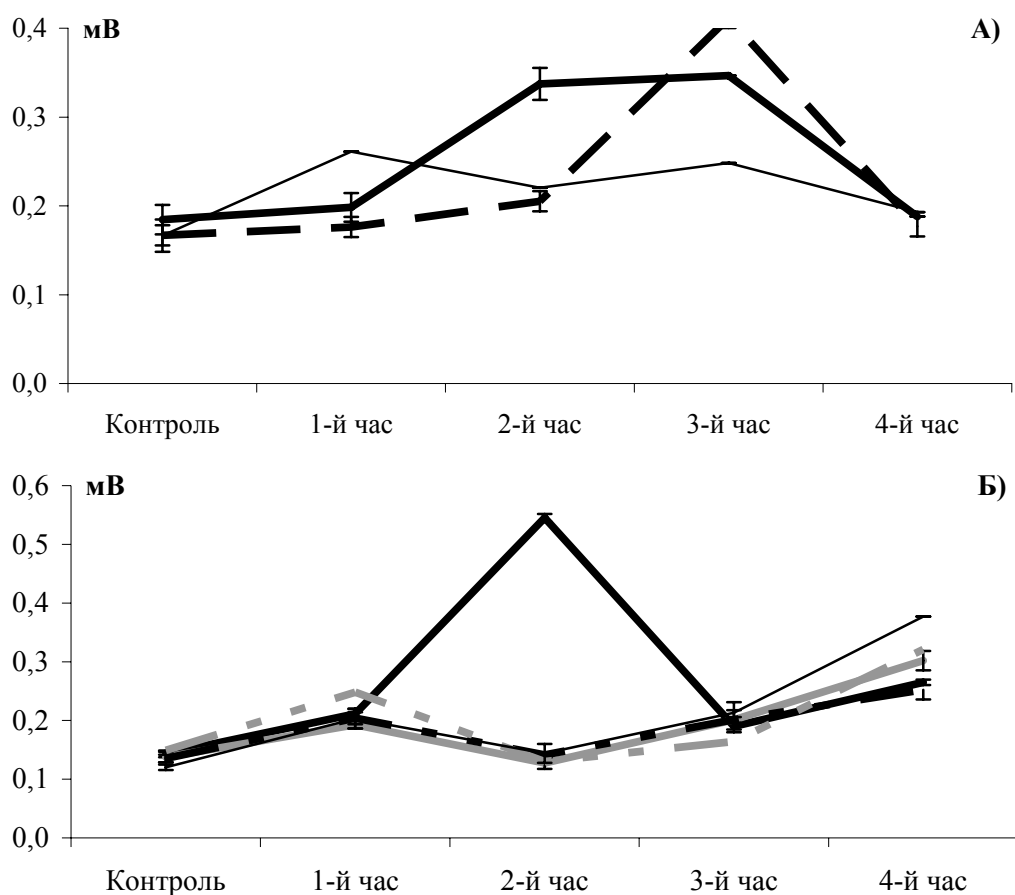


Рис. 17. Влияние водной нагрузки на содержание гистамина в различных отделах миокарда  
А) предсердия, Б) желудочки, N=20, n=40.

При кислотной нагрузке интенсивность люминесценции гистамина снижалась как в клубочковом, так и канальцевом аппарате почки, причем дистальные канальцы и петли Генле почки отреагировали на час раньше, чем клубочки и субкапсулярные канальцы. Кроме того, в дистальных канальцах и петлях Генле наблюдалась фазность реакции почки на кислотную нагрузку – к третьему часу происходило восстановление исходного уровня люминесценции, а к четвертому часу люминесценция вновь уменьшалась (табл. 12). Корреляция между флуоресценцией ацетилхолина и уровнем гистамина при кислотной нагрузке  $r=0,54$  ( $p<0,05$ ). Щелочная нагрузка вызывала изменения, противоположные кислотной нагрузке. В первый час наблюдалось 1,5-2 кратное увеличение люминесценции гистамина, которое затем сменялось возвратом к интактному уровню (табл. 13). Корреляция между флуоресценцией ацетилхолина и уровнем гистамина при щелочной нагрузке  $r=0,88$  ( $p<0,01$ ).

Увеличение высвобождения почечного гистамина при алкалозе на фоне отсутствия ацетилхолинового ответа является неожиданным. Если предположить, что гистамин в почке регулирует не секрецию протонов в просвет канальца, а реабсорбцию, и учесть, что реакция в наших экспериментах значительно более выражена и продолжительна в интрамедуллярных канальцах, где происходит основная реабсорбция  $H^+$ ,

Таблица 11

Влияние водной нагрузки на флуоресценцию гистамина (мВ) в строме и ГЛК тимуса, N=10, n=20, M±m

Структуры	Тимус интактных крыс	1 час	2 час	3 час	4 час
Строма					
Субсептальная область	0,035±0,005	0,016±0,001**	0,015±0,002**	0,011±0,001**	0,016±0,001**
Толща коркового вещества	0,016±0,001	0,024±0,003*	0,023±0,001***	0,01±0,0004***	0,014±0,0005
Парамедуллярная область	0,02±0,002	0,023±0,003	0,022±0,001	0,015±0,002*	0,024±0,001
Медуллярная область	0,023±0,001	0,021±0,0005	0,014±0,0004****	0,013±0,0005****	0,014±0,001****
гранулярные люминесцирующие клетки					
Субсептальная область	0,05±0,001	0,069±0,008	0,05±0,01	0,041±0,01	0,056±0,007
Толща коркового вещества	0,047±0,006	0,076±0,014	0,03±0,002*	0,03±0,004*	0,027±0,002**
Парамедуллярная область	0,17±0,03	0,1±0,014*	0,09±0,01*	0,07±0,01**	0,04±0,004***
Медуллярная область	0,018±0,002	0,07±0,014*	0,031±0,004*	0,078±0,01***	0,078±0,01***

Таблица 12

Изменение содержания гистамина (мV) в структурах почки крысы при внутрибрюшинной нагрузке 0,1н раствором соляной кислоты, N=35, n=70, M±m

Структуры	Интактная почка	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч
Субкапсулярные клубочки	0,03±0,002	0,035±0,002	0,022±0,002**	0,019±0,001***	0,02±0,001***
Проксимальные каналы	0,066±0,004	0,066±0,005	0,042±0,003***	0,05±0,002***	0,041±0,002***
Петли Генле	0,029±0,003	0,015±0,001***	0,019±0,002***	0,022±0,002	0,013±0,001***
Дистальные каналы	0,035±0,002	0,033±0,002*	0,024±0,001***	0,034±0,002	0,025±0,001***

Таблица 13

Изменение содержания гистамина (mV) в структурах почки крысы при внутрибрюшинной нагрузке 4% раствором бикарбоната, N=35, n=70, M±m

Структуры	Интактная почка	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч
СК	0,053±0,007	0,093±0,02*	0,084±0,021	0,095±0,022	0,06±0,01
ПК	0,157±0,028	0,285±0,044*	0,249±0,052	0,232±0,038	0,188±0,027
ПГ	0,033±0,004	0,072±0,013**	0,058±0,013	0,034±0,005	0,031±0,005
ДК	0,057±0,006	0,128±0,02**	0,141±0,035*	0,097±0,016*	0,095±0,014*

Примечание: СК – субкапсулярные клубочки, ПК – проксимальные канальцы, ПГ – петли Генле, ДК – дистальные канальцы

то обнаруженный нами факт также становится логичным и сопоставимым с реакцией других изучаемых нами регуляторных систем. Возможно, гистамин в почках регулирует не только механизмы подкисления мочи, но и проницаемость базальных мембран канальцевого аппарата.

Таким образом, вне зависимости от направленности изменений водного баланса в почках и почечной капсуле наблюдается уменьшение люминесценции гистамина. В целом в строме и ГЛК тимуса реакция на нагрузку объемом аналогична. В миокарде при максимальной нагрузке водой изменение люминесценции гистамина противоположно: происходит увеличение гистаминовых уровней. Как и при исследовании уровня ацетилхолина, кислотная и бикарбонатная нагрузки вызывают противоположные изменения люминесценции гистамина: уменьшение при сдвиге в кислую сторону и увеличение при защелачивании.

### 3.3. Влияние длительного потребления $\text{Cu}^{++}$ и $\text{Zn}^{++}$ на тканевое содержание гистамина почки и его реакцию на водную нагрузку

У крыс, получавших нагрузку медью, через 24 недели люминесценция гистамина в субкапсулярных клубочках увеличилась на 33% ( $p < 0,03$ ) по сравнению с контрольными животными. В других частях нефрона изменений не наблюдалось (табл. 14).

У подопытных крыс водная нагрузка уменьшила люминесценцию гистамина в обоих типах клубочков в 1,3 раза ( $p < 0,03$ ) через 2 часа после гидратации и в 2-2,3 раза к 4-му часу наблюдения ( $p < 0,0001$ ) (табл. 14). Содержание амина в проксимальных канальцах было ниже внутреннего контроля на 38% ( $p < 0,05$ ) во 2-й и 4-й часы наблюдения. В 3-й час – на 30% больше по сравнению с внутренним контрольным уровнем и выше более чем в 2 раза, по сравнению со 2-м и 4-м часами ( $p < 0,005$ ). В петлях Генле гидратация увеличила люминесценцию гистамина ко 2-му и 3-му часам наблюдения в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ). К 4-му часу реакция в этом отделе истощилась, и произошло снижение уровня гистамина ( $p < 0,001$ ). В дистальных канальцах наблюдалось уменьшение интенсивности люминесценции гистамина в 1,2-1,4 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с внутренним контролем в 3 и 4 часа после гидратации (табл. 14).

Длительный прием  $\text{Zn}^{++}$  был причиной увеличения уровня гистамина в субкапсулярных клубочках на 42% ( $p < 0,01$ ) и в 2,6 раза в проксимальных канальцах



( $p < 0,0001$ ) по сравнению с контрольным органом (табл. 14). Люминесценция этого биоamina в субкапсулярных клубочках была в 2,5 раза больше ( $p < 0,0001$ ) после внутрибрюшинного введения водной нагрузки 6% от массы тела в первые два часа эксперимента. К концу 3-го часа содержание гистамина было выше только на 25% ( $p < 0,05$ ) и уменьшилось к концу 4-го часа по сравнению с внутренним контролем ( $p < 0,0001$ ), а в юкстамедулярных клубочках к концу 1-го и 3-го часа было сопоставимо с внутренним контрольным уровнем. Здесь уровень гистамина достоверно снижался в 1,7 и 2,6 раза ( $p < 0,0001$ ) к концу соответственно 2-го и 4-го часа после гидратации (табл. 15).

Люминесценция гистамина в проксимальных канальцах была значительно ниже внутреннего контроля в первые 2 часа водной нагрузки в 2,4 раза ( $p < 0,0001$ ), к концу 3-го часа на 50% ( $p < 0,001$ ) и через 4 часа после водной нагрузки – в 4,3 раза ( $p < 0,0001$ ). Уровень гистамина снижался в 1,4-1,6 раз ( $p < 0,0001$ ) в петлях Генле в первые 2 часа гидратации. К концу 3-го часа люминесценция возрастала на 33% ( $p < 0,0001$ ), а к концу 4-го – уменьшалась в 2 раза ( $p < 0,0001$ ). В дистальных канальцах интенсивность люминесценции снижалась на 23% и 44% соответственно в 1 и 3 час после гидратации ( $p < 0,01$  и  $p < 0,0001$ ), уровень медиатора был уменьшен в 2,7 раза ( $p < 0,0001$ ) к концу 4-го часа по сравнению с внутренним контролем (табл. 15). Длительное потребление цинка почти в два раза снизило количество гистамина в капсуле почки ( $p < 0,0001$ ) (Рис. 18). Водная нагрузка уменьшала количество гистамина к концу 2-го ( $p < 0,05$ ) и 3-го часа ( $p < 0,0001$ ), а к 4-му уровень восстанавливался до исходного. Коэффициент корреляции между динамикой изменения уровня гистамина и ацетилхолина  $r = 0,23$  ( $p > 0,05$ ). В отличие от потребления ионов цинка, на фоне приема ионов меди наблюдалось достоверное увеличение содержания гистамина в почечной капсуле на 42% ( $p > 0,05$ , вследствие большого разброса данных) (Рис. 19). Водная нагрузка, так же, как и на фоне потребления ионов цинка, более выражено снижала люминесценцию гистамина. К концу эксперимента произошло восстановление до исходного уровня.

Из изложенного следует, что длительный прием ионов меди и цинка вызывает противоположные изменения количества гистамина в почке и почечной капсуле. Потребление ионов меди в основном снижает, а цинка увеличивает содержание этого амина. В почечной капсуле наблюдается обратная реакция,  $\text{Cu}^{++}$  на 44% увеличивает, а  $\text{Zn}^{++}$  на 45% снижает люминесценцию гистамина. Не смотря на индуцированное ими различие количества гистамина в почке и почечной капсуле, водная нагрузка, как и в экспериментах без нагрузки металлами, уменьшает люминесценцию гистамина.

Гистамина, как и ацетилхолина, в почечной капсуле значительно меньше, чем в почке. Как и в почке, водная нагрузка индуцирует уменьшение люминесценции гистамина, однако если в почке эта реакция начинается сразу же и продолжается до конца наблюдения, то в капсуле почки уровень гистамина уменьшается только к третьему часу, а затем восстанавливается. Если в почке прием ионов цинка вызывает накопление гистамина, то в почечной капсуле – снижение. Реакция на водную нагрузку и там и там одинаковая – уменьшение флуоресценции гистамина.

Таблица 14

Влияние длительного потребления  $\text{Cu}^{++}$  и водной нагрузки на его фоне на люминесценцию гистамина (mV) в структурах почки, N=45, n=90, M±m

Структуры	Контрольная почка	Почка внутреннего контроля	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч
Субкапсулярные клубочки	0,31±0,05	0,44±0,04* <sup>И</sup>	0,32±0,06	0,31±0,05* <sup>К</sup>	0,49±0,07	0,24±0,05**** <sup>К</sup>
Юкстамедуллярные клубочки	0,3±0,05	0,41±0,05	0,26±0,06* <sup>К</sup>	0,26±0,04** <sup>К</sup>	0,53±0,05	0,17±0,02**** <sup>К</sup>
Проксимальные каналцы	0,66±0,08	0,79±0,09	0,77±0,1	0,51±0,06* <sup>К</sup>	1,0±0,05** <sup>К</sup>	0,53±0,07* <sup>К</sup>
Петли Генле	0,18±0,02	0,21±0,02	0,24±0,03	0,33±0,04** <sup>К</sup>	0,35±0,03** <sup>К</sup>	0,14±0,01*** <sup>К</sup>
Дистальные каналцы	0,59±0,09	0,72±0,06	0,67±0,08	0,87±0,01	0,6±0,04* <sup>К</sup>	0,51±0,08* <sup>К</sup>

Примечание: интактная почка – крысы, не получающие нагрузку ионами меди и водой;

контрольная почка – крысы, получавшие  $\text{Cu}^{++}$ , но не получавшие нагрузку водой;

1 час ... 4 час – крысы, получавшие нагрузку водой 6% от массы тела и  $\text{Cu}^{++}$ ;

<sup>К</sup> – различия достоверны относительно почки внутреннего контроля;

<sup>И</sup> – различия достоверны относительно контрольной почки (t-тест исследован только между интактным и контрольным органом, но не между интактной почкой и водной нагрузкой)

Таблица 15

Влияние водной нагрузки на люминесценцию гистамина (mV) в структурах почки в условиях длительного приема  $\text{Zn}^{++}$ , N=15, n=20, M±m

Структуры	Контрольная почка	Почка внутреннего контроля	1 час	2 час	3 час	4 час
Субкапсулярные клубочки	0,14±0,01	0,2±0,02** <sup>И</sup>	0,09±0,001**** <sup>К</sup>	0,09±0,005**** <sup>К</sup>	0,03±0,01* <sup>К</sup>	0,06±0,003**** <sup>К</sup>
Юкстамедуллярные клубочки	0,18±0,007	0,18±0,01	0,16±0,02	0,1±0,005**** <sup>К</sup>	0,21±0,03* <sup>К</sup>	0,07±0,003**** <sup>К</sup>
Проксимальные каналцы	0,18±0,01	0,48±0,038**** <sup>И</sup>	0,21±0,01*** <sup>К</sup>	0,2±0,01**** <sup>К</sup>	0,32±0,02**** <sup>К</sup>	0,11±0,007**** <sup>К</sup>
Петли Генле	0,1±0,005	0,09±0,003	0,07±0,004**** <sup>К</sup>	0,06±0,003**** <sup>К</sup>	0,02±0,006**** <sup>К</sup>	0,05±0,002**** <sup>К</sup>
Дистальные каналцы	0,14±0,01	0,2±0,02*** <sup>И</sup>	0,09±0,001**** <sup>К</sup>	0,09±0,005**** <sup>К</sup>	0,035±0,01* <sup>К</sup>	0,06±0,003**** <sup>К</sup>

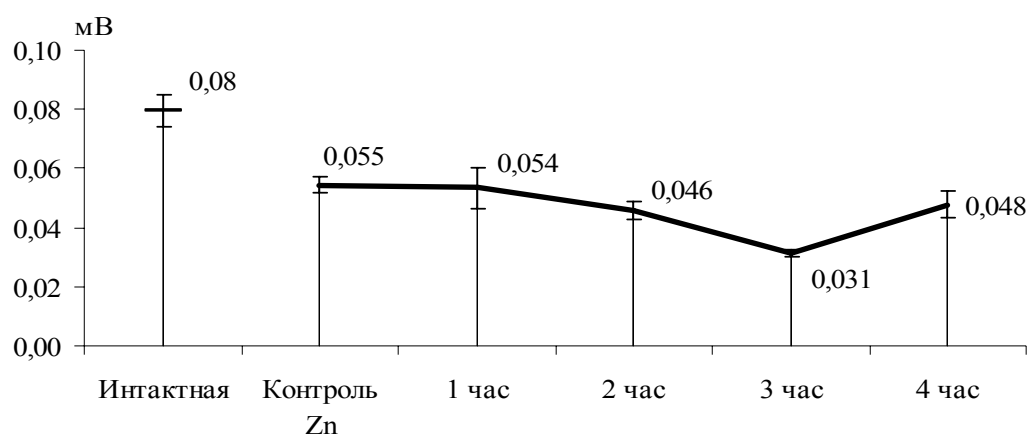


Рис. 18. Влияние длительного приема  $Zn^{++}$  и водной нагрузки на фоне приема ионов цинка на уровень гистамина в капсуле почки,  $N=10$ ,  $n=20$

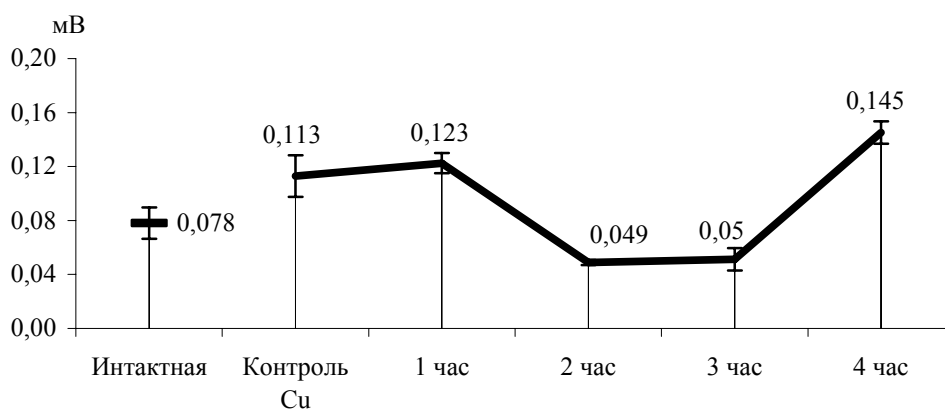


Рис. 19. Влияние длительного приема  $Cu^{++}$  и водной нагрузки на фоне приема ионов меди на уровень гистамина в капсуле почки,  $N=10$ ,  $n=20$

Если потребление ионов цинка достоверно уменьшало содержание гистамина в капсуле почки, то прием ионов меди увеличивал. Водная нагрузка, как и в предыдущих случаях, снижала количество гистамина в капсуле почки.

Длительный прием ионов цинка индуцировал увеличение количества гистамина в кортикальной области почки и уменьшение в дистальных канальцах. Водная нагрузка на фоне длительного приема ионов цинка вызвала немедленное уменьшение уровня гистамина в почке, которое оставалось низким в течение всего эксперимента. Водная нагрузка без предварительного насыщения организма ионами цинка вызывала уменьшение флуоресценции гистамина только к 4-му часу эксперимента. Между цинком и гистамином существуют регуляторные связи. С одной стороны, гистамин влияет на индуцируемую цинком понижающую регуляцию высвобождения NO в эндотелии [290]. С другой стороны, дефицит цинка сопровождается снижением синтеза в печени гистамина из гистидина [211]. В хроническом эксперименте блокада  $H_2$ -рецепторов циметидином сопровождалась увеличением содержания меди и цинка в плазме и сердечной мышце, но не в почках крыс, и уменьшала выведение с экскрементами всех изученных двухвалентных ионов: медь, цинк, кальций, магний, марганец [269]. И, тем не менее, все эти данные не дают достаточно удовлетворительного объяснения полученных нами результатов.

### 3.4. Влияние водной нагрузки и длительного приема $\text{Cu}^{++}$ и $\text{Zn}^{++}$ на содержание гистамина в тимусе

Нагрузка ионами меди уменьшила флуоресценцию гистамина во всех частях тимуса внутренних контрольных крыс (табл. 16). Водная нагрузка на этом фоне увеличивала люминесценцию гистамина в строме тимуса в 1-й час наблюдения. Увеличение флуоресценции носило фазный характер с максимумом ко 2-му часу, затем наблюдалось снижение уровня и повторный рост к 4-му часу наблюдения, который сопоставим со 2-м часом. На фоне питьевого потребления ионов меди гидратация не меняла люминесценцию гистамина в ГЛК субсептальной зоны подопытных крыс в первые три часа наблюдения, но она уменьшалась к концу 4-го часа гидратации в 3 раза ( $p < 0,001$ ) (табл. 16). Уровень исследуемой субстанции уменьшался в ГЛК толщи коркового вещества в 1-й и 4-й часы после водной нагрузки в 3 и 1,6 раза соответственно ( $p < 0,03$ ). Во 2-й и 3-й часы наблюдения люминесценция гистамина была сопоставима с внутренним контрольным уровнем. В ГЛК парамедуллярной зоны обнаруживалось уменьшение уровня трансмиттера на 30% по сравнению с контролем к концу 1-го, 2-го и 4-го часа после введения водной нагрузки ( $p < 0,02$ ).

Длительный прием ионов меди с питьевой водой вызвал практически двукратное увеличение содержания ацетилхолина в тимусе. Этот эффект может быть реализован несколькими способами:

во-первых, накопление меди могло вызвать увеличение захвата холина, поскольку это приводит к накоплению субстрата для синтеза ацетилхолина, то должно вызвать и увеличение его количества. Об участии меди в захвате холина ничего не известно;

во-вторых, это может быть вызвано блокадой активности ацетилхолинэстеразы, что, как следствие, должно привести к накоплению ацетилхолина. Зависимость активности холинэстеразы от содержания меди также не является установленным фактом.

И, наконец, по нашему мнению, вторичная индукция может быть наиболее вероятной причиной увеличения уровня ацетилхолина при избытке меди. Как известно, m-ацетилхолиновые рецепторы контролируют синтез и высвобождение NO. Синтаза оксида азота является цитоплазматической частью NADPH-дегидрогеназы [135, 161], которая является молибдензависимым ферментом [293]. Между медью и молибденом, как микроэлементами, наблюдается физиологический антагонизм [164]. Поэтому представляется возможным, что медь блокирует синтазу оксида азота как антагонист молибдена. В условиях блокады синтазы оксида азота, как компенсаторная реакция, должен увеличиваться синтез ацетилхолина. Длительное водное потребление молибдена, по нашим данным, в 2 раза ( $p < 0,05$ ) уменьшает флуоресценцию всех исследованных нами трансмиттеров в почке и почечной капсуле, больше серотонина, чем катехоламинов. Водная нагрузка на этом фоне в 2 и более раз увеличивала уровень ацетилхолина в почке в первые два часа наблюдения и в 3 раза в капсуле к концу эксперимента. Уровень других трансмиттеров, как в капсуле, так и в почке, уменьшался еще больше ( $p < 0,05$ ) [47].

Как мы наблюдали, водная нагрузка увеличивает флуоресценцию ацетилхолина в почках крысы [52, 49, 233]. Тем не менее, на фоне избытка меди в организме, вызванном ее длительным приемом, водная нагрузка уменьшает содержание ацетилхо-

лина и в строме тимуса и в почке. Полученный результат – свидетельствует о существенном нарушении в тимусе и почке холинергической регуляции, вызванном избытком меди, однако не объясняет механизма этих нарушений.

Нагрузка медью в течение шести месяцев была причиной снижения содержания гистамина в строме тимуса. В то же время, мы не наблюдали изменения количества гистамина в ГЛК, поскольку эти клетки накапливают гистамин и, вероятно, не содержат гистаминазы, и, подобно тучным клеткам, включают гистамин в гранулы. Поэтому уменьшение гистамина в тканях тимуса, индуцированное избытком меди, может быть связано с увеличением активности гистаминазы, которая, как известно, является медь-зависимым ферментом [151]. Избыток кофактора также блокирует ферментативную активность, как и его недостаток. Тем не менее, как следует из наших данных, медь не нарушает гистаминовый ответ на водную нагрузку. Увеличение гистаминовой флуоресценции ГЛК в этом эксперименте является доказательством того, что эти клетки поглощают моноамины из окружающего пространства.

В группе внутреннего контроля длительный прием ионов цинка индуцировал увеличение уровня гистамина в ГЛК субсептальной области в ГЛК толщи коркового вещества по сравнению с интактной тканью в 2 и 2,3 раза соответственно ( $p < 0,001$ ) и не менял в ГЛК парамедуллярной зоны (табл. 17). Потребление ионов цинка не меняло уровень гистамина в мозговом веществе и септах, но достоверно уменьшало его в микроокружении ГЛК субсептальной области и толще коркового вещества в 2,5 и 3,5 раза соответственно ( $p < 0,0001$ ). В исследуемых структурах парамедуллярной области содержание амина было выше в 1,7 раза, чем у интактных крыс ( $p < 0,001$ ). В субсептальной области после введения водной нагрузки люминесценция гистамина была ниже внутреннего контроля в 1,7 и 2,8 раза к концу 1-го и 4-го часов наблюдения соответственно ( $p < 0,02$ ) и не отличалась от внутреннего контрольного уровня во 2-й и 3-й час (табл. 17). Подобный паттерн наблюдался в толще коркового вещества, где уровень люминесценции уменьшился в 1,8-2 раза через 1 и 4 часа после нагрузки ( $p < 0,0001$ ). В ближайшем клеточном окружении ГЛК парамедуллярной области количество гистамина было ниже внутреннего контрольного уровня в 2,4-2 раза в течение 1-го, 2-го и 3-го часов эксперимента ( $p < 0,001$ ). В мозговом веществе долики наблюдался аутентичный ответ гистамина на водную нагрузку, только в конце 3-го часа: уменьшение на 50% по сравнению с внутренним контрольным уровнем ( $p < 0,001$ ). В септах интенсивность люминесценции гистамина не менялась в течение всего периода наблюдения.

Как в почке, так и в почечной капсуле, питьевое потребление ионов меди и цинка в среднем на 50% уменьшает количество гистамина в строме тимуса, и в ГЛК тимуса на фоне потребления ионов цинка, но не меди. Как и в почке, водная нагрузка на фоне длительного потребления  $\text{Cu}^{++}$  и  $\text{Zn}^{++}$  в целом снижает содержание гистамина, как в строме, так и в ГЛК.  $\text{Zn}^{++}$  изменили реакцию тимуса на водную нагрузку. Если у интактных крыс в толще коркового вещества наблюдается увеличение уровня гистамина, то на фоне потребления  $\text{Zn}^{++}$  – снижение. Серотонин является либератором гистамина, а гистамин – блокатором ацетилхолинэстеразы [17]. Тем не менее, нами не обнаружено корреляционных отношений между ацетилхолином и уровнем других транмиттеров. По-видимому, это является следствием одномоментного снижения уровня ацетилхолина в ответ на водную нагрузку, который в последующем оставался неизменно низким. Тогда как, изменения количества катехоламинов, серото-

Таблица 16

Влияние водной нагрузки на люминесценцию гистамина (мВ) в структурах тимуса и ГЛК на фоне длительного приема меди, N=15, n=20, M±m

Структуры	Контрольный тимус	Тимус крыс внутреннего контроля	1 час	2 час	3 час	4 час
Строма						
Субсептальная область	0,09±0,001	0,06±0,01* <sup>I</sup>	0,09±0,01*	0,19±0,01*	0,08±0,01	0,13±0,01*
Толща коркового вещества	0,09±0,01	0,06±0,01	0,06±0,01	0,2±0,03**	0,06±0,001	0,19±0,017**
Парамедуллярная область	0,13±0,02	0,07±0,01* <sup>I</sup>	0,11±0,01*	0,21±0,03*	0,06±0,001	0,27±0,02*
Медуллярная область	0,12±0,001	0,05±0,01**** <sup>I</sup>	0,1±0,004**	0,12±0,006**	0,04±0,001	0,2±0,025**
Септа	0,04±0,002	0,03±0,004**** <sup>I</sup>	0,05±0,002	0,03±0,001	0,02±0,002*	0,11±0,017*
гранулярные люминесцирующие клетки						
Субсептальная область	0,11±0,001	0,09±0,01	0,13±0,01	0,2±0,02**	0,11±0,02	0,19±0,01**
Толща коркового вещества	0,09±0,01	0,1±0,04	0,09±0,001	0,21±0,02*	0,08±0,001	0,24±0,02*
Парамедуллярная область	0,13±0,02	0,1±0,01	0,19±0,01****	0,29±0,04**	0,11±0,01	0,34±0,03**

Таблица 17

Влияние водной нагрузки на содержание гистамина в строме и микроокружении ГЛК различных зон тимуса на фоне длительного приема цинка, N=10, n=10, M±m

Структуры	Контрольный тимус	Тимус крыс внутреннего контроля	1 час	2 час	3 час	4 час
Строма						
Субсептальная область	0,34±0,02	0,14±0,02**** <sup>I</sup>	0,08±0,01*	0,1±0,02	0,1±0,01	0,06±0,01*
Толща коркового вещества	0,31±0,02	0,09±0,01**** <sup>I</sup>	0,05±0,01****	0,08±0,01	0,12±0,01	0,04±0,001****
Парамедуллярная область	0,07±0,01	0,12±0,01**** <sup>I</sup>	0,05±0,01****	0,06±0,01**	0,12±0,01	0,06±0,01****
Медуллярная область	0,05±0,001	0,04±0,01	0,03±0,004	0,05±0,005	0,07±0,004***	0,05±0,008
Септа	0,02±0,003	0,02±0,002	0,02±0,002	0,01±0,002	0,02±0,004	0,02±0,003
гранулярные люминесцирующие клетки						
Субсептальная область	0,54±0,03	0,28±0,04**** <sup>I</sup>	0,18±0,02	0,25±0,05	0,25±0,03	0,14±0,02**
Толща коркового вещества	0,42±0,05	0,18±0,02** <sup>I</sup>	0,07±0,02*	0,13±0,02	0,16±0,01	0,1±0,02*
Парамедуллярная область	0,17±0,03	0,23±0,02* <sup>I</sup>	0,15±0,02*	0,16±0,02*	0,23±0,02	0,16±0,1*

нина и гистамина являлись фазными со склонностью к увеличению. Поэтому мы можем сделать вывод: в тимусе крыс существуют экстранейрональные трансмиссивные системы, холинергические с одной стороны и гистамин-, катехоламин и серотонинергические с другой стороны, контролируемые различными генетически детерминированные программы в ответ на водную нагрузку, что особенно показательно при повреждении этих взаимоотношений избытком меди. Длительное питьевое потребление ионов меди вызывает сильную достоверную корреляцию между уровнем гистамина в строме тимуса и в ГЛК ( $r=0,86$ ,  $p<0,01$ ). Такая реакция вызвана синхронными изменениями количества гистамина ГЛК и стромы в ответ на загрузку воды на фоне длительного приема меди. И это, несмотря на то, что в разных частях доли тимуса изменения противоположные. На фоне длительного приема ионов меди ГЛК исчезают из медуллярной части тимуса, что может быть связано как с их миграцией в парамедуллярную часть, так и с их разрушением.

Как следует из наших данных, водная нагрузка без предварительного приема ионов меди является причиной качественных изменений количества экстранейрональных передатчиков тимуса. Поэтому возможно сделать вывод, что количественные параметры их содержания в тканях зависимы от меди.

Наши данные доказывают: экстранейрональные уровни ацетилхолина, гистамина, катехоламинов и серотонина в тимусе крыс зависят от внешнего поступления ионов меди в организм. Водная нагрузка вызывает критические изменения количества экстранейрональных трансмиссивных систем тимуса. Потребление ионов меди изменяет экстранейрональный трансмиссивный паттерн регуляторного ответа тимуса на водную нагрузку.

После дешифровки A.S. Prasad et al. [280] дефицита цинка как причины различных нарушений физического и сексуального развития жителей Ирана и Египта, дальнейшее изучение биологических и медицинских эффектов цинка, по-видимому, ограничиваются только исследованием эффектов его дефицита. Нами обнаружены литературные сведения лишь об эффектах острой, но не хронической токсичности цинка. Введение в диету его адекватных количеств увеличивает рост и ускоряет сексуальное развитие у больных с цинк-дефицитом [289]. Поэтому избыточное потребление ионов цинка, казалось бы, должно увеличить как массу крыс, так и массу их отдельно взятых органов. Но мы не обнаружили различий динамики массы у контрольных и подопытных крыс в течение 24 недель потребления цинка с водой. Более того, в наших экспериментах наблюдалось снижение массы тимуса и почек. Интересно, что дефицит цинка также сопровождается существенным уменьшением массы тимуса [3]. Другой, не менее интересный факт, полученный нами, – увеличение массы тимуса, индуцированное водной нагрузкой, на фоне длительного потребления избытка цинка. Этот эффект не наблюдался нами, например, при водной нагрузке и водной нагрузке на фоне избыточного потребления меди. Его можно интерпретировать следующим образом:

– во-первых, цинк мог оказывать на тимус прямое токсическое действие. Этот эффект может реализовываться через те же механизмы, что и при дефиците цинка. Например, показано, что у людей с дефицитом цинка активность тималина сыворотки снижена, а поскольку этот специфичный гормон регулирует Т-клеточную активность, то дефицит цинка сопровождается дисбалансом между Т-хелперами и Т-киллерами, нарушением литической активности Т-киллеров, а также относитель-

ным уменьшением числа предшественников цитолитических Т-клеток [138, 281]. Вызванное дефицитом цинка нарушение активности тималина связано с тем, что цинк является обязательным компонентом его молекулы [262]. Поскольку цинк-тималин участвует в пролиферации, по крайней мере, части клеток тимуса, то дефицит или избыток цинка может уменьшать число митозов в тимусе. Кроме того, цинк является обязательным компонентом тубулиновых микрофиламентов и, как таковой, обеспечивает работу хроматинового веретена. Поэтому дефицит цинка сопровождается уменьшением числа митозов и нарушением расхождения хромосом [3];

– во-вторых, цинк может стимулировать другие этапы иммунного ответа. Это могло вызвать уменьшение потребности в активности тимуса, и, как следствие, вызвать вторичное уменьшение его массы;

– в-третьих, избыток цинка мог вызвать гиперактивность тимуса, вследствие чего к концу эксперимента развилось его истощение;

– и, наконец, цинк мог повлиять на лимфатическое дренирование тимуса. Правильность этой гипотезы доказывается уменьшением массы тимуса и увеличением ее в ответ на водную нагрузку.

При выявлении ацетилхолина в тимусе, ГЛК не обнаруживаются, в отличие от гистохимического выявления гистамина, катехоламинов и серотонина. Этот факт может быть объяснен просто – ГЛК не накапливают ацетилхолин. Нам неизвестны литературные данные о прямом влиянии цинка на нейрональный или экстранейрональный уровень ацетилхолина в тканях. Дефицит цинка тормозит активность ацетилхолинэстеразы у карпа [307]. Вероятно, эти сведения объясняют результат нашего эксперимента, поскольку мы обнаружили увеличение уровня ацетилхолина, как в тимусе, так и в почках в ответ на длительный прием двухвалентных ионов цинка. Кроме того, эта реакция может быть не специфична, и связана с действием любых двухвалентных ионов, поскольку при избытке меди мы получили аналогичное увеличение содержания ацетилхолина в тканях тимуса и почки. Эта физиологическая реакция развивается на фоне уменьшения количества катехоламинов и серотонина, и ее биологическая целесообразность не ясна. Только водная нагрузка, без нагрузки двухвалентными ионами, сразу вызывает увеличение уровня экстранейронального ацетилхолина в почках [231]. Тогда как на фоне длительного питьевого потребления ионов цинка реакция тимуса на водную нагрузку была бифазной: снижение уровня ацетилхолина в первую фазу и увеличение во вторую. Причины этого феномена остаются не ясными. Возможно это результат гидратации тканей тимуса.

Как следует из наших данных, уровень гистамина в ГЛК и их ближайшем клеточном окружении под влиянием водной нагрузки на фоне приема цинка меняется однонаправлено. Цинк уменьшает количество гистамина в дольке тимуса, а водная нагрузка усиливает этот эффект. Гистамин, как известно, вещество, увеличивающее сосудистую проницаемость для воды. Тем не менее, в нашем эксперименте набухание тимуса, вызванное водной нагрузкой, протекает на фоне уменьшения уровня гистамина в тканях тимуса. Следовательно, его нельзя объяснить индуцированным гистамином увеличением сосудистой проницаемости. Судя по литературным данным, дефицит цинка вызывает аналогичный эффект: уменьшение количества гистамина в тканях, причиной которого является уменьшение оксидации гистидина, вызванное дефицитом цинка [211].



### 3.5. Реакция гистамина миокарда на гиперсимпатикотонию

В первую неделю эксперимента гиперсимпатикотония снижала люминесценцию гистамина на 59% ( $p < 0,05$ ) в субэндокардиальной области левого желудочка (табл. 18) с контролем, так и с крысами первой недели в 6-11 раз ( $p < 0,001$ ). На третьей неделе реакция была противоположной, произошло увеличение уровня гистамина в субэндокардиальной области предсердий на 38% ( $p < 0,05$ ) и в 2,5-8,5 раз в желудочках ( $p < 0,001$ ). После этого в желудочках уровень гистамина снизился в 1,5-2 раза ( $p < 0,001$ ).

Таблица 18

Влияние гиперсимпатикотонии на уровень гистамина в предсердиях и желудочках,  
N=24, n=30

		Недели			
		1	2	3	4
		контр/опыт	контр/опыт	контр/опыт	контр/опыт
Предсердия	субэпикард. область	$\frac{0,111 \pm 0,021}{0,087 \pm 0,01}$	$\frac{0,116 \pm 0,021}{0,013 \pm 0,001^{***/000}}$	$\frac{0,117 \pm 0,015}{0,161 \pm 0,01^{*/000}}$	$\frac{0,116 \pm 0,015}{0,108 \pm 0,013}$
	субэндокард. область	$\frac{0,105 \pm 0,019}{0,091 \pm 0,005}$	$\frac{0,107 \pm 0,019}{0,016 \pm 0,004^{***/000}}$	$\frac{0,117 \pm 0,016}{0,116 \pm 0,009^{\circ}}$	$\frac{0,095 \pm 0,013}{0,081 \pm 0,005}$
	перегородка	$\frac{0,116 \pm 0,025}{0,078 \pm 0,005}$	$\frac{0,121 \pm 0,024}{0,016 \pm 0,001^{***/000}}$	$\frac{0,111 \pm 0,021}{0,168 \pm 0,017^{000}}$	$\frac{0,102 \pm 0,019}{0,119 \pm 0,006^{\circ}}$
Желудочки	левый, субэпикард. область	$\frac{0,11 \pm 0,019}{0,069 \pm 0,006^*}$	$\frac{0,114 \pm 0,018}{0,017 \pm 0,001^{***/000}}$	$\frac{0,136 \pm 0,023}{0,357 \pm 0,039^{***/000}}$	$\frac{0,143 \pm 0,023}{0,048 \pm 0,002^{***/000}}$
	левый, субэндокард. область	$\frac{0,069 \pm 0,01}{0,065 \pm 0,007}$	$\frac{0,071 \pm 0,01}{0,01 \pm 0,001^{***/000}}$	$\frac{0,085 \pm 0,012}{0,617 \pm 0,118^{***/000}}$	$\frac{0,097 \pm 0,015}{0,056 \pm 0,002^{**}}$
	правый, субэпикард. область	$\frac{0,094 \pm 0,014}{0,107 \pm 0,01}$	$\frac{0,097 \pm 0,013}{0,016 \pm 0,001^{***/000}}$	$\frac{0,089 \pm 0,011}{0,241 \pm 0,013^{***/000}}$	$\frac{0,094 \pm 0,012}{0,066 \pm 0,002^{*/000}}$
	правый, субэндокард. область	$\frac{0,062 \pm 0,011}{0,081 \pm 0,003}$	$\frac{0,063 \pm 0,01}{0,01 \pm 0,001^{***/000}}$	$\frac{0,07 \pm 0,009}{0,598 \pm 0,134^{***/000}}$	$\frac{0,075 \pm 0,011}{0,041 \pm 0,004^{**/000}}$
	перегородка	$\frac{0,089 \pm 0,015}{0,081 \pm 0,003}$	$\frac{0,088 \pm 0,014}{0,008 \pm 0,001^{***/000}}$	$\frac{0,106 \pm 0,016}{0,687 \pm 0,125^{***/000}}$	$\frac{0,109 \pm 0,017}{0,042 \pm 0,001^{***/000}}$

Обнаружение значительного увеличения содержания гистамина в субэпикардиальной области предсердий и левого желудочка и перегородке предсердий, в ответ на нагрузку объемом является интригующим фактом. Насколько известно нам, это ранее не обсуждавшийся и, вероятно, неисследованный факт, биологическая целесообразность которого не ясна. Обнаруженное нами резкое увеличение количества гистамина в ответ на гиперсимпатикотонию может являться саногенным механизмом профилактики адренергического повреждения миокарда, а не дополнительным фактором патогенеза, как это представляется в связи с закрепившейся за гистамином характеристикой альтерирующего агента.

## ГЛАВА 4. ЭКСТРАНЕЙРОНАЛЬНЫЙ СИНТЕЗ И ЛОКАЛЬНЫЕ ФУНКЦИИ КАТЕХОЛАМИНОВ И СЕРОТОНИНА

### 4.1. Экстранейрональный синтез катехоламинов

При рассмотрении вопросов симпатической регуляции в настоящее время, по-видимому, следует точно оговаривать, о каком из трех биогенных регуляторных аминов идет речь. Это связано с тем, что из анализа литературных данных следует вывод о генуинном распределении между тремя катехоламинами нейрональных и паракринных функций. Дофамин, как филогенетически наиболее древний катехоламин, выполняет функцию и медиатора и аутокоида. Норадреналин у млекопитающих, в основном, выполняет медиаторную функцию, а адреналин, как основной катехоламин надпочечника, гормональную.

Почечный синтез дофамина впервые установлен на основании косвенных экспериментов, в которых прием блокатора дофадекарбоксилазы карбидопы добровольцами сопровождался сильной отрицательной корреляцией с натрийурезом [129], а затем в прямых экспериментах доказан J. Hagege и G. Richet [198] и G. Richet et al. [285]. Синтез дофамина из L-Дора воспроизводится и на культуре почечных клеток опоссума [195, 302]. Введение леводопы в перфузируемую изолированную почку сопровождается выраженным дофамин- и натрийурезом, а добавление блокатора дофадекарбоксилазы карбидопы профилактирует этот эффект [308]. Местом синтеза экстранейронального почечного дофамина установлены S<sub>1</sub>S<sub>2</sub> сегменты проксимального извитого канальца [129].

Кроме как в почке, экстранейрональный синтез дофамина обнаружен в желудочно-кишечном тракте, селезенке и поджелудочной железе [176]. В дуоденальном соке крысы содержится дофамин, а в поджелудочной железе обнаружено высокое содержание дофамина и не чувствительная к химической симпатэктомии активность тирозингидроксилазы. Иммуногистохимически и методом гистохимической гибридизации *in situ* подтверждено присутствие в поджелудочной железе тирозингидроксилазы, дофамина и его переносчика, а также мРНК тирозингидроксилазы и переносчика; оба типа везикулярных переносчиков моноаминов обнаружены в экзокринной части поджелудочной железы. Поскольку в поджелудочной железе нет дофаминергических ганглиев, то авторы сделали вывод, что pancreas служит источником значительных количеств дофамина экстранейронального происхождения, который участвует в защите слизистой оболочки кишки от повреждения пищеварительными ферментами [260].

Денервация миокарда уменьшает количество катехоламинов в миокарде, но не вызывает их полного исчезновения. Более того, в еще неиннервированном миокарде, например у 4-дневных куриных эмбрионов уже обнаруживаются катехоламины. Источником экстранейрональных катехоламинов миокарда, по мнению В.А. Говырина (1967), могут служить сами миоциты [23]. Кроме того, в субэндокардиальных областях миокарда существуют хромаффинные клетки [155]. Регуляция выделения адреналина хромаффинными клетками миокарда осуществляется K<sup>+</sup> и Ca<sup>++</sup> каналами, блокада которых индуцирует высвобождение адреналина, а их патология, возможно, связана с развитием синдрома укорочения QT [196]. Хромаффинные

клетки миокарда у двоякодышащих рыб *Protopterus aethiopicus* обнаруживаются во «внутрисердечных» (субэндокардиальных) областях атриума и синтезируют катехоламины из дофамина [246]. В синтезе катехоламинов в хромоаффинных клетках миокарда принимает участие транспортер аскорбиновой кислоты (SVCT2), отсутствие которого у мышей мутантов сопровождается двукратным увеличением тканевого содержания дофамина [146].

Существуют прямые данные о синтезе норадреналина и дофамина из  $^{14}\text{C}$ -тирозина в изолированных препаратах предсердий и желудочков крыс. Согласно этим сведениям,  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимый синтез  $^{14}\text{C}$ -дофамина на 50% интенсивнее в предсердиях, чем в желудочках, а синтез  $^{14}\text{C}$ -норадреналина – на 58%. Синтез  $^{14}\text{C}$ -норадреналина не зависел от уровня кальция в среде. Добавление в инкубационную среду сердечного пептида, похожего на гипоталамический гормон C, дозозависимо увеличивало синтез дофамина в предсердиях («малые дозы») и предсердиях и желудочках «большие дозы». На захват  $^{14}\text{C}$ -дофамина и  $^{14}\text{C}$ -норадреналина из инкубационной среды, что имитирует поглощение катехоламинов из крови, сердечный пептид, похожий на гипоталамический гормон C, не влиял [112]. Авторы этой работы связывают место максимального синтеза катехоламинов в миокарде с большим представительством  $\beta$ -адренорецепторов в предсердиях, чем в желудочках.

В отношении содержания ацетилхолина в миокарде имеются сведения, указывающие, что в миокарде и эпикарде оно практически идентично в правом и левом сердце [158]. Тогда как, в правом предсердии ацетилхолина примерно в четыре раза больше, чем в левом [99]. Катехоламины в тканях миокарда распределены неравномерно [113, 304].

## **4.2. Дофаминовая и адренергическая нейрональная и паракринная регуляция**

Детальная характеристика адренергической иннервации миокарда представлена в нескольких классических руководствах, например, В.А. Говырина [23], коллективных монографиях «Физиология кровообращения. Физиология сердца» под ред. проф. Е.Б. Бабского [105], «Физиология и патофизиология сердца» под ред. проф. Н. Сперелакиса [104]. Поэтому в данном обзоре приводятся только более поздние публикации, несколько уточняющие сведения этих монографий.

Тимус получает обильную адренергическую иннервацию. Адренергический контроль тимуса позволяет центральной нервной системе осуществлять срочные клеточные иммунологические регуляторные акты, такие как ингибирование образования интерлейкина 12 в тимусе, фактора некроза опухоли,  $\gamma$ -интерферона, Th1-активности, а также активация образования интерлейкина 10 и фактора роста- $\beta$ . Все эти регуляторные акты реализуются через активацию цепочки  $\beta_2$ -адренорецепторы-сАМФ-протеинкиназа А [178].

При гистофлуоресцентной микроскопии адренергические постганглионарные нервные волокна обнаруживаются входящими в тимус вместе с кровеносными сосудами и распределяются в капсуле и перегородках тимуса. Эти волокна формируют варикозные сплетения в подкапсульной коре и в кортикомедуллярных областях; они чрезвычайно редки в мозговом веществе тимуса [26, 154, 185, 222, 240, 328]. Самые плотные сплетения найдены во внешней коре, где обнаруживаются и разви-

ваются незрелые тимоциты. В толще коркового вещества и особенно в кортикомедуллярных областях, также обнаруживается много адренергических нервов, образующих сплетения вокруг сосудов. Интересно распределение тучных клеток в тимусе, которые обнаруживаются синхронно распределению норадренергических волокон и в периваскулярных зонах [26, 328]. Аналогичное распределение обнаруживается при иммуноцитохимическом исследовании адренергических нервов [324]. На ультраструктурном уровне рядом с норадренергическими варикозными утолщениями обнаруживаются тимоциты, тучные клетки, фибробласты и ацидофильные гранулоциты [271, 324].

Не смотря на то, что тимус получает адренергическую иннервацию, обратная связь с ЦНС и надпочечником осуществляется через N-холинорецепторные системы. Установлено, что тимопоэтин специфично связывается с бунгаротоксиновым участком N-холинорецептора и конкурирует за место связывания с никотином [282].

Если тимус обильно иннервирован адренергическими нервами, то холинергических нервов, вероятно, почти не имеет [284]. Д.С. Гордон и соавт. (1982) с помощью методики Келле в модификации Гомори обнаружили вхождение в тимус с сосудами нервов, содержащих ацетилхолинэстеразу. Поскольку у них не было уверенности, что это холинергические нервы, они их назвали ацетилхолинэстеразными. Выявленные нервы вплотную подходят к долькам, но в дольки не входят [26].

Локализация дофаминовых рецепторов в почечных структурах и связанные с ними дофаминзависимые регуляторные акты в настоящее время идентифицированы. В юкстагломерулярных клетках обнаруживаются  $D_1$ -рецепторы<sup>1</sup>, активация которых сопровождается увеличением высвобождения ренина, этот эффект полностью блокируется  $D_1$ -антагонистами фенолдопамом и SCH23390 [332]. Другой группой исследователей, считавших, что высвобождение ренина реализуется  $D_2$ -рецепторами, была осуществлена попытка обнаружения их в юкстагломерулярных клетках. Там они обнаружили  $D_3$ - и  $D_4$ -рецепторы, а не  $D_2$  [286]. Кроме того, этот подтип рецепторов, как преобладающий, в почках обнаруживается в канальцах, а  $D_4$  и в прегломерулярных артериолах.  $D_5$ -рецепторы обнаруживаются как в почечных сосудах, так и в канальцах [122, 123].

В настоящее время почечный дофамин уверенно идентифицирован как паракринный натрийуретический гормон. Этот эффект дофамина, видимо, реализуется несколькими способами. Один из них – блокада  $Na^+/K^+$ -АТФазы клеток проксимального канальца, был предположен еще в 1987 г. [124, 143]. Этот механизм достаточно полно расшифрован: дофамин в концентрации  $10^{-5}M$ , активируя  $D_1$ -рецепторы, блокирует  $Na^+/K^+$ -АТФазу проксимальных канальцев на 50%. Эффект воспроизводится  $D_1$  агонистом SKF 38393 в той же концентрации, но не  $D_2$  агонистами, и полностью блокируется  $100\mu M$  H7 – ингибитора промежуточной протеинкиназы. Дофаминовая блокада  $Na^+/K^+$ -АТФазы усиливается фуросемидом [294].

Другой механизм уменьшения реабсорбции Na связан с дофаминовой блокадой активности фосфоорилазы C [187, 216].

---

<sup>1</sup>  $D_1$  и  $D_5$  дофаминовые рецепторы были выделены из ранее идентифицированной группы  $D_1$ -рецепторов, активирующих аденилатциклазу, а  $D_2$ -,  $D_3$ - и  $D_4$ -рецепторы – из группы  $D_2$ -рецепторов, подавляющих активность аденилатциклазы.

Третий механизм связан с прямой активацией D<sub>1</sub>-рецепторов, в результате которой дофамин сильно блокирует Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> обмен в почечной щеточной каемке [216]. Таким образом, дофаминовый натрийурез может сопровождаться подщелачиванием мочи в проксимальном отделе нефрона. Аналогично ситуации с гистамином, адренергическая и дофаминергическая регуляция, например, транспорта H<sup>+</sup> в почке практически не изучалась. Нам известна лишь одна работа, посвященная данному вопросу. Согласно этому исследованию, активация α<sub>1</sub>-адренорецепторов и, в старой номенклатуре, D<sub>1</sub>-дофаминовых рецепторов вызывала увеличение экскреции титруемых кислот, аммония и хлоридов. Этот эффект автор объяснил блокадой ангиотензин-рениновой системы, вызванной симпатической и дофаминергической активацией [53]. Данная работа находится в фактологическом противоречии с предыдущими.

Внутрипочечная дофаминовая ауторегуляция практически не зависит от влияния симпатических почечных нервов [325].

Между миокардом и почками, как органами, поддерживающими постоянство состояния водных пространств организма существуют определенные морфофункциональные взаимоотношения, нарушаемые в патологических условиях. Например, острая инфузия норадреналина в дозе 0,7, 2,2 и 6,7 мкг/(кг×массы тела×мин) в условиях солевой или водной нагрузок вызывала у уток дозозависимую артериальную гипертензию, рефлекторную брадикардию и диурез с натрийурезом на фоне неизменной гломерулярной фильтрации и снижения почечного кортикального кровотока. При этом норадреналин незначительно увеличивал плазменный уровень вазопрессина, не менял концентрацию ангиотензина II, но в четыре раза увеличивал плазменную концентрацию атриального натрийуретического фактора. Субпрессорные дозы норадреналина в почечную артерию стимулировали диурез без увеличения выведения натрия. По мнению авторов, это доказывает, что норадреналиновый натрийурез вызван стимуляцией высвобождения натрийуретического фактора [217].

### 4.3. Экстранейрональный синтез серотонина

Почечный серотонин, как и почечный дофамин не захватывается почкой из крови, а синтезируются *de novo*. Более того, как было показано на линии клеток проксимального канальца опоссума и интактных крыс, преобразует L-Дора в дофамин и 5-гидрокситриптофан в серотонин один и тот же фермент – декарбоксилаза ароматических L-аминокислот, локализованная в клетках проксимальных канальцев [197].

Роль кардиального серотонина все еще не понятна и требует дальнейшего подробного изучения, поскольку серотонин явно неслучайный попутчик сердечных катехоламинов. Например, у мышей мутантов, лишенных гена, контролирующего периферический синтез серотонина, развивается гипертрофия миокарда с последующими летальными остановками сердца [157]. Доступных работ, в которых серотонин исследовался как фактор патогенеза гипертрофии миокарда и хронической сердечной недостаточности, нами не обнаружено.

Между тем, в экспериментах на культуре здоровых клеток почки было показано, что серотонин, в отличие от тромбина, вазопрессина, бомбезина, холецистоки-

нина, простагландина F<sub>2</sub> альфа, норадреналина, гистамина, дофамина, ангиотензина II, карбахола, и фактора роста опухоли, увеличивал активность фосфорилазы C. Это стимулировало митотическую активность, как это наблюдается при использовании факторов роста тромбоцитов, фибробластов и эпидермального фактора роста, также являющихся активаторами фосфорилазы C [199]. То есть, серотонин может быть одним из факторов, формирующих гипертрофию миокарда.

Серотонин в дозах, составляющих тысячные доли миллиграмма, при введении в кровь изменяет деятельность практически всех систем организма млекопитающих и человека. Вызывает сокращение чувствительных к нему гладких мышц, стимулирует передачу в нервных ганглиях и повышает чувствительность N-холинорецепторов вегетативных ганглиев к ацетилхолину, возбуждает чувствительные нервные окончания, высвобождает катехоламины из симпатических нервных окончаний, высвобождает гистамин, уменьшает высвобождение ацетилхолина из нервных окончаний холинергических волокон [81].

Общепринято, что серотонин является вазоконстриктором. Мнение, которое вряд ли является полностью справедливым. Известно, что патогенез мигрени связан с высвобождением серотонина, который в первую фазу вызывает ипсилатеральный спазм сосудов головного мозга, во времени это совпадает с мигренозной аурой. Затем спазм сменяется дилатацией и начинается собственно приступ головной боли [116]. Аналогично в почках, серотонин вызывает вазоконстрикцию, сменяющуюся вазодилатацией. Например, в экспериментах на изолированной перфузируемой раствором Кребса-Рингера почке кролика давление перфузии 80-100 мм рт.ст. поддерживалось норадреналином. Введение в среду болюса серотонина от 20 пкмоль до 20 нмоль дозависимо увеличивало перфузионное давление. Болюс 0,4-4 ммоль дозависимо уменьшал давление перфузии [251]. Данный эксперимент подтверждается другой публикацией: интратенальное введение серотонина в дозе 5 мкг/мин вызывало двухфазный ответ. Скоротечное уменьшение почечного кровотока сменялось длительным увеличением объемной скорости кровотока. Уменьшение почечного кровотока блокировалось метисергидом, но не кетансерином, а увеличение – кетансерином и метисергидом. Блокатор  $\alpha_1$ -адренорецепторов теразозин не изменял реакцию почечных сосудов на серотонин. Кроме изменения объемного кровотока, серотонин вызывал увеличение диуреза и натрийуреза. Диурез и натрийурез модулировались кетансерином и полностью блокировались метисергидом. Авторы сделали вывод, что констрикторное, натри- и диуретическое действие серотонина реализуется через возбуждение 5-НТ<sub>1</sub> рецепторов, а увеличение объемного кровотока – через 5-НТ<sub>2</sub> рецепторы [296]. Аналогичный вывод, в отношении участия 5-НТ<sub>1</sub> и 5-НТ<sub>2</sub>, но не 5-НТ<sub>3</sub> рецепторов, в реализации почечных сосудистых эффектов серотонина, сделали T. Takahashi et al. [310].

По другим наблюдениям у человека серотонин (4-8 мкг/кг) вызывал антидиурез, что связывают как с его прямым миотропным действием, так и с усилением реабсорбции натрия и воды в канальцах. Такие значительные расхождения физиологических ответов на идентичные дозы серотонина в различных экспериментах связаны с очень многими условиями: дизайн эксперимента, вид животного, способ и скорость введения серотонина [81].

Сосудистые эффекты серотонина нельзя объяснить только его прямым действием на собственные рецепторы сосудов: в гладкомышечных клетках аорты быка

серотонин стимулирует синтез простаглицина [249] – вазодилатация; полоска желудка крысы, круговой мышцы сигмовидной кишки человека, антрального отдела желудка при аппликации серотонина дилатируют вследствие индуцированного серотонином высвобождения катехоламинов [80, 87, 181, 189, 319]. Вполне вероятно, что вазодилататорный эффект серотонина опосредован и дублируется несколькими системами, биологическая целесообразность такой реакции, видимо, никогда не обсуждалась. Кроме того, почечные сосуды разного уровня по-разному реагируют на введение серотонина в почечный кровоток. Серотонин, после локальной аппликации  $10^{-8}$  моль/л, на гидронефротических и нормальных почках крыс суживал дугообразные артерии на 10%, но междольковые и прегломерулярные артериолы расширял на 13 и 17% соответственно. В целом это приводило к уменьшению гломерулярного кровотока на 44%. Ритансерин, 5-НТ<sub>2</sub> блокатор,  $10^{-6}$  моль/л расширял все прегломерулярные сосуды и увеличивал гломерулярный кровоток. В присутствии ритансерина серотонин не влиял на диаметр сосудов. На фоне индометацина серотонин не суживал дугообразные артерии, но прегломерулярные продолжал расширять. Таким образом, серотониновое уменьшение гломерулярного кровотока связано с констрикцией больших почечных сосудов и реализуется через циклооксигеназную систему, а дилатация мелких сосудов осуществляется через возбуждение рецептора, похожего на 5-НТ<sub>1</sub> [180].

Вероятно, если ацетилхолин реализует часть своих почечных эффектов через стимуляцию синтеза оксида азота, то серотонин – через стимуляцию синтеза почечных простаглицлинов. Например, в денервированной почке собаки серотонин вызывает высвобождение ренина. Эффект блокируется как 5-НТ<sub>1</sub>, так и 5-НТ<sub>2</sub> блокаторами, например, неселективным 5-НТ<sub>1</sub> и 5-НТ<sub>2</sub> блокатором метисергидом (30 мкг/(кг×мин)) или кетансерином (3 мкг/(кг×мин)) – селективным 5-НТ<sub>2</sub> блокатором и индометацином. Фармакологический регуляторный спектр свидетельствует, что вызванное серотонином высвобождение ренина опосредовано через синтез почечных простаглицлинов, который запускается активацией 5-НТ рецепторов [309]. Это предположение убедительно подтверждается тем фактом, что на поврежденной ишемией почке серотониновая вазоконстрикция более выражена, чем на интактной, и так же блокируется кетансерином [322].

Взаимодействие серотонина с собственными рецепторами в почках вызывает активацию фосфорилазы С с дальнейшим запуском фосфоинозитольного каскада. Кетансерин и метисергид в этом эксперименте блокировали серотониновую активацию фосфорилазы С лишь на 10-20%, следовательно, эта реакция обеспечена не только активацией 5-НТ<sub>1</sub> и 5-НТ<sub>2</sub> рецепторов, но и каких-то других [199].

Наряду с величиной реабсорбции натрия и хлора [241], серотонин регулирует синтез почечного дофамина [335]. Как увеличение реабсорбции натрия и хлора, так и увеличение содержания почечного серотонина приводит к блокаде синтеза дофамина. Последний эффект, видимо, связан с тем, что, как и его прекурсор, серотонин является субстратом декарбоксилазы ароматических L-аминокислот, при этом образуется аммиак и 5-гидроксииндолацетальдегид, а фермент инактивируется, что приводит к блокаде образования дофамина [142].

По-видимому, аналогично дофамину, синтезируемый в почках серотонин является внутрпочечным паракринным гормоном. В этой роли серотонин тормозит

выведение неорганического фосфата, подавляя влияние паратгормона на  $\text{Na}^+/\text{P}_i$  котранспорт [197].

#### 4.4. Влияние изменения водного баланса и кислотно-основного состояния на тканевое содержание катехоламинов и серотонина

Люминесцентное обнаружение катехоламинов и серотонина в тканях осуществляли с помощью метода В. Falk et al. [183] в модификации Е.М. Крохиной [55], который используется для выявления аминокислотных структур. Метод основан на реакции конденсации катехоламинов и серотонина парами формальдегида. В результате этой реакции из катехоламинов образуются производные 1,2,3,4-тетрагидроизохинолина, а из серотонина – 1,2,3,4-тетра-гидро- $\beta$ -карболин, которые дегидрируются до образования 3,4-тетрагидроизохинолина и 3,4-тетрагидро- $\beta$ -карболина, находящихся в рН-зависимом равновесии со своей таутомерной кетоформой, люминесцирующей при облучении в видимой синеволетовой области ( $\lambda_{\text{max}}=410$  нм). Изохинолины, продукты конденсации катехоламинов, люминесцируют в желто-зеленой области ( $\lambda_{\text{max}}=480$  нм, светофильтр N 6 измерительной насадки ФМЭЛ-1А).  $\beta$ -карболины, продукты конденсации серотонина, люминесцируют в желто-оранжевой области ( $\lambda_{\text{max}}=525$  нм, светофильтр N 8 измерительной насадки ФМЭЛ-1А).

Свежеприготовленные криостатные срезы, смонтированные на предварительно охлажденных до  $-15^\circ\text{C}$  предметных стеклах, после высушивания под холодным вентилятором, помещали на 1 час при  $+80^\circ\text{C}$  в камеру с парами формальдегида, высушенного в течение не менее двух недель над 40% серной кислотой. Люминесценцию катехоламинов, после выдерживания срезов в темноте в течение 1 часа, исследовали при  $484\pm 10$  нм, серотонина – при  $525\pm 11$  нм, запирающий светофильтр ЖС18,  $\lambda_{\text{возбужд.}}=410$  нм, светофильтры ФС, БС, СЗС, – на люминесцентном микроскопе «Люмам-4», люминиметрию осуществляли с помощью микролюминиметра ФМЭЛ-1А.

Во всех случаях исследования катехоламинов полученный цифровой материал, описывающий параметры люминесценции катехоламинов и серотонина, исследовался как статистическая величина, кроме того, вычисляли серотониновый индекс (Is) [117]

$$Is = (\text{уровень серотонина}) / (\text{уровень катехоламинов}),$$

который также изучался как статистическая величина, для этого тканевое количество катехоламинов и серотонина измеряли в одних и тех же точках.

При фотометрии препаратов электрические параметры при всех люминесцентных измерениях на всех замерах определялись следующими параметрами: входное напряжение 900В, сопротивление усилителя  $10^6$  Ом. В насадке был установлен зонд 1,5. Для измерения использовался ФЭУ-39, показания снимались с цифрового вольтметра. На каждом препарате плаг-методом измеряли интенсивность люминесценции не менее чем от 10 участков соматических клеток. Плаг-метод был выбран после того, как в предварительных исследованиях было установлено, что



средние параметры люминесценции при использовании многоточечного метода и плаг-метода совпадают в пределах ошибки измерения.

Между количеством катехоламинов и серотонина существует как прямая, так и сильная обратная связь, рассмотренная в многочисленных исследованиях, например, на иммунокомпетентных и других органах [26, 29, 63, 89, 92, 93, 94, 117 и др.]. Поэтому данные по этим аминам, с точки зрения единства их функционального взаимодействия, нами рассматриваются в одной главе.

Вся популяция исследованных нами крыс, в зависимости от исходного уровня люминесценции катехоламинов, делится на две подгруппы с: А) исходным относительно высоким уровнем катехоламинов и Б) исходным низким уровнем (примерно в два раза) во всех областях почки (Рис. 20). Наиболее сильно различались субкапсулярные клубочки и канальцевый аппарат ( $p < 0,01$ ), различия юкстамедуллярных клубочков выражены менее ( $p < 0,05$ ) [50].

Водная нагрузка в объеме 6% от массы тела внутрибрюшинно, в зависимости от исходного уровня катехоламинов, вызывала разнонаправленные изменения уровня катехоламинов, поэтому различия между группами крыс с разным количеством катехоламинов нивелировались. При исходно высокой люминесценции в первый час наблюдалось двукратное уменьшение люминесценции катехоламинов в проксимальных ( $p < 0,05$ ) и дистальных канальцах ( $p < 0,01$ ) по сравнению с исходным уровнем (Рис. 20А). Менее выраженное угнетение люминесценции наблюдалось в клубочковом аппарате. Примечательно, что люминесценция катехоламинов в два раза выше в юкстамедуллярных клубочках, чем в субкапсулярных ( $p < 0,001$ ), это различие сохраняется на протяжении всего эксперимента вне зависимости от наблюдаемых изменений люминесценции. В последующий период времени люминесценция в клубочках и дистальных канальцах восстанавливалась до уровня, близкого к исходному, а в проксимальных канальцах оставалась несколько сниженной, но различия статистичны только во 2-й час ( $p < 0,05$ ). При исходно низкой люминесценции катехоламинов ( $p < 0,01$ ) на контроле (Рис. 20Б), водная нагрузка увеличивала люминесценцию в субкапсулярных клубочках ( $p < 0,05$ ) и проксимальных канальцах ( $p < 0,01$ ). Различия уровня люминесценции в клубочках наблюдались только у интактных крыс и в 3-й час наблюдения ( $p < 0,05$ ). Петли Генле, вне зависимости от исходного уровня катехоламинов, не реагировали на водную нагрузку изменением люминесценции катехоламинов. Вне зависимости от исходного уровня люминесценции катехоламинов, люминесценция серотонина в обеих подгруппах достоверно не различается, и поэтому по серотонину мы приводим объединенные данные (Рис. 21). Водная нагрузка уменьшала люминесценцию серотонина в 1-й час наблюдения во всех отделах нефрона ( $p < 0,005$ ), кроме субкапсулярных клубочков, где изменения не достоверны. Затем люминесценция восстанавливалась до уровня, близкого к исходному. Этот диссонанс между реакцией катехоламинов и серотонина вызвал выраженные изменения  $I_s$  (Рис. 22А). При высоком уровне катехоламинов  $I_s$  сильно возрастает в 1-й и 2-й час наблюдения ( $p < 0,05$ ), а затем восстанавливается (Рис. 22А). При низком уровне – наблюдалась не статистичная тенденция к уменьшению  $I_s$  в 1-й и 2-й час (Рис. 22Б).

На первый взгляд кажется парадоксальным, что, в зависимости от исходного уровня катехоламинов, водная нагрузка вызывает разнонаправленные изменения флуоресценции катехоламинов – снижение при «высоком» уровне и повышение при

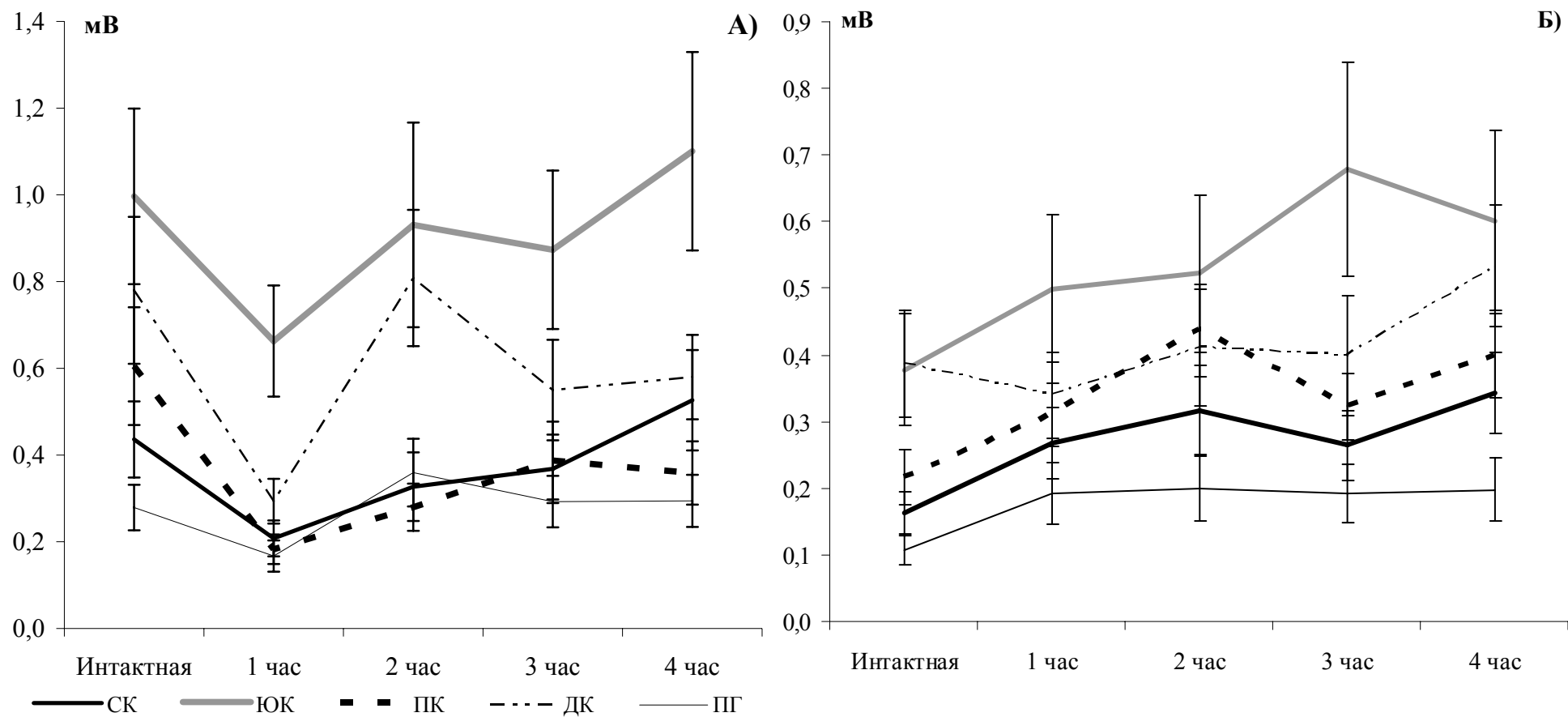


Рис. 20. Типы реакций на водную нагрузку в зависимости от исходного уровня катехоламинов А) уменьшение люминесценции при высоком исходном уровне катехоламинов (N=5, n=50), Б) увеличение люминесценции при низком исходном уровне катехоламинов (N=4, n=40), все исходные данные статистически различимы ( $p < 0,01$ ).

Примечание, здесь и далее: СК – субкапсулярные клубочки, ЮК – юкстамедуллярные клубочки, ПК – проксимальные канальцы, ДК – дистальные канальцы, ПГ – петли Генле

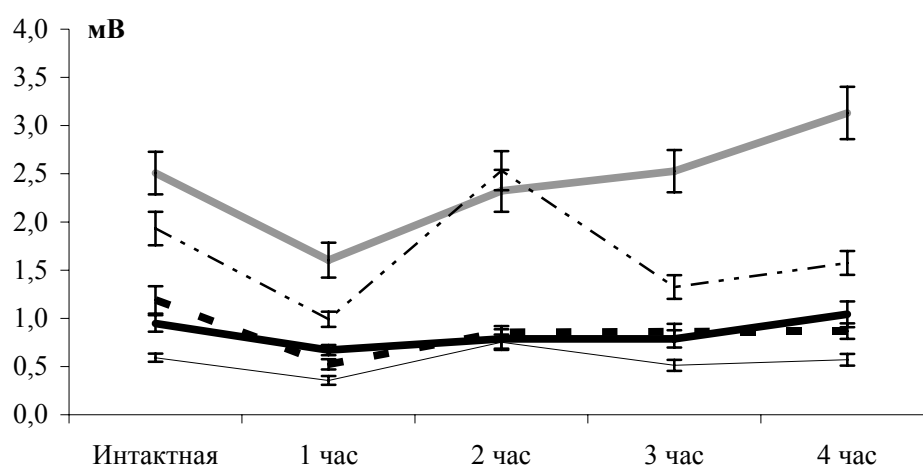


Рис. 21. Изменение люминесценции серотонина при водной нагрузке 6% от массы тела внутривенно (N=9, n=90)

«низком». Если принимать верной точку зрения тех авторов, кто считает дофамин основным и единственным почечным катехоламином [193, 241, 285], то наши данные можно сопоставить с ранее проведенными исследованиями. В зависимости от дозы и исходного уровня диуреза при инфузии в почечную артерию дофамин может вызывать как диурез, так и антидиурез. Например, доза  $0,8 \pm 0,1$  мкг/(кг×мин) вызывала только диуретическую реакцию, доза  $3,0 \pm 0,07$  мкг/(кг×мин) при скорости диуреза менее  $1,3 \pm 0,1$  мл/мин индуцировала диуретическую реакцию, а при скорости более  $1,6 \pm 0,1$  мл/мин – антидиуретическую. Дозы более  $5,0 \pm 0,2$  мкг/(кг×мин) вызывали только антидиурез [46]. В этом нашем исследовании на фоне водной нагрузки происходило выравнивание содержания катехоламинов в тканях почки уже к первому часу водной нагрузки, и в дальнейшем различия между обеими группами не наблюдались. Вероятно, это связано с тем, что для реализации диуретического ответа требуется вполне определенное количество экстранейрональных катехоламинов. Примечательно, что максимальные изменения наблюдаются в канальцевом аппарате почки, это совпадает с мнением ряда авторов, считающих, что основной точкой реализации почечных эффектов дофамина является проксимальный каналец. Тем не менее, из предыдущих наших работ [46] следует, что в реализации диуретических эффектов дофамина может участвовать и дистальный каналец. Теперь эти данные можно считать подтвержденными прямым наблюдением.

Ранее описано наличие серотонина и его интенсивный метаболизм в почках [27]. Введение серотонина в почечную артерию вызывает антидиурез, реализуемый на канальцевом уровне [303]. Поэтому уменьшение интенсивности флуоресценции серотонина, вызванное водной нагрузкой, не является неожиданным фактом. Но, поскольку ко второму часу уровень серотонина восстанавливается и не меняется далее, необходимость этой реакция, видимо, существует только на начальных этапах реализации почечной программы в ответ на нагрузку объемом. Поскольку влияние серотонина не всегда определяется величиной содержания в тканях [17], то для описания его влияния на интегральную биоаминную обеспеченность предложен серотониновый индекс –  $I_s$  [117]. При высоком уровне катехоламинов мы наблюдали синхронное снижение флуоресценции как катехоламинов, так и серотонина. Но, поскольку уровень катехоламинов в отдельных частях нефрона умень-

шался в 1,5-2,5 раза, а серотонина – менее чем на 50-20%, Is увеличивается. Тогда как при увеличении уровня катехоламинов наблюдается лишь тенденция к не достоверному снижению этого показателя ко второму часу с восстановлением к четвертому. Интересно, что величина Is на высоте диуреза в обоих случаях выравнивается и, если на контроле выборки различаются ( $p < 0,01$ ), то затем достоверных различий нет. Это может свидетельствовать, что для реализации диуреза необходимо вполне определенное соотношение обоих аминов. Это наблюдение хорошо согласуется с процитированной идеей И.Л. Вайсфельда и Г.Н. Кассиля [17] о большей значимости соотношения биоаминов, чем абсолютного их количества.

Не смотря на то, что, в зависимости от исходного уровня, количество катехоламинов при водной нагрузке может как возрастать, так и уменьшаться, холинергическая регуляция в любом случае осуществляется через увеличение экстранейронального ацетилхолина в канальцевом аппарате почки. Это явление может быть следствием того, что диурез, как интегральная реакция, реализуется в разных отделах нефрона независимо регулируемые, но синергичными механизмами. Отсутствие изменений количества исследуемых биоаминов в петлях Генле, а также их низкий уровень, по сравнению с другими участками нефрона, может свидетельствовать о том, что в этом отделе нет механизмов синтеза медиаторов, а их присутствие обеспечено захватом медиаторов, диффундируемых из кортикальных отделов.

Очевидно, что диурез, как интегральная реакция, реализуется в разных отделах нефрона независимо регулируемые, но синергичными медиаторными механизмами. Исходя из наших данных, в целом почечный паттерн медиаторного взаимодействия при водной нагрузке выглядит следующим образом. Для реализации диуретического ответа необходимо: 1) некий определенный уровень тканевых катехоламинов, достигаемый либо уменьшением катехоламинов (при исходного высоком уровне), либо их увеличением (при исходно низком уровне); 2) уменьшение уровней серотонина и гистамина; 3) увеличение холинергических влияний в канальцах почки. По-видимому, как наши, так и ранее опубликованные данные [182, 129, 276, 277, 305] свидетельствуют, что в почках существует экстранейрональный пул таких транскмиттеров как: катехоламины, серотонин, гистамин, ацетилхолин, – осуществляющих паракринную регуляцию интегральных функций почки.

Водная депривация вызывала статистически достоверное уменьшение люминесценции катехоламинов во всех отделах нефрона, максимальное в первые сутки депривации, а во вторые – наблюдалась тенденция к восстановлению исходного уровня (Рис. 23). Кроме снижения люминесценции, зафиксировано достоверное различие между интенсивностью люминесценции катехоламинов в субкапсулярных и медуллярных клубочках, а также проксимальными и дистальными канальцами в интактной почке. Интенсивность люминесценции в медуллярной области была примерно в два раза ниже, чем в субкапсулярной. В первые сутки эти различия полностью нивелировались, а ко вторым – происходило восстановление различий в канальцевом аппарате, но не в клубочках [51]. Как в интактном органе, так и при водной депривации, вне зависимости от ее длительности, максимальная люминесценция катехоламинов обнаруживается в канальцевом аппарате почки, больше в проксимальных канальцах, чем в дистальных (Рис. 23). Люминесценция серотонина (Рис. 24), параметрически более высокая, чем люминесценция катехоламинов, также более выражена в канальцевом аппарате почки, чем в клубочковом и петлях

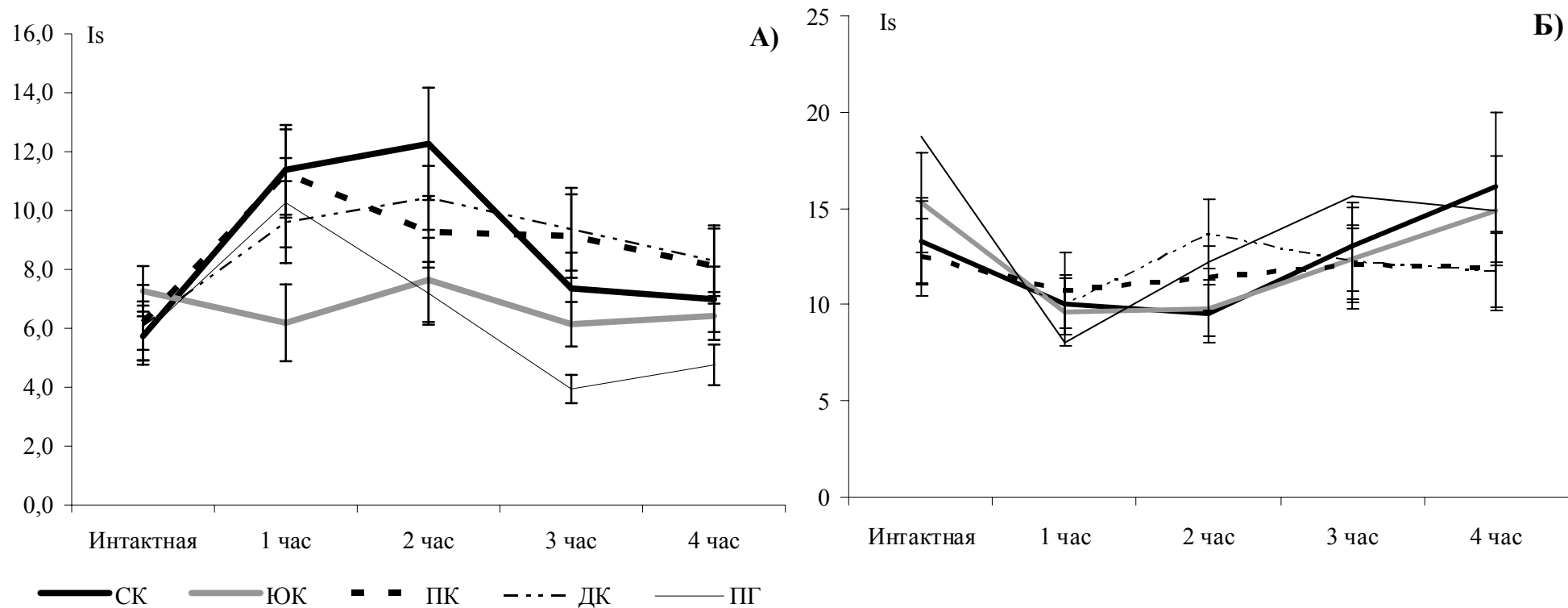


Рис. 22. Направленность изменений серотонинового индекса при водной нагрузке в зависимости от исходного уровня катехоламинов А) при высоком исходном уровне катехоламинов (N=5, n=50), Б) при низком исходном уровне катехоламинов (N=4, n=40), все исходные данные статистически различимы ( $p < 0,01$ ).

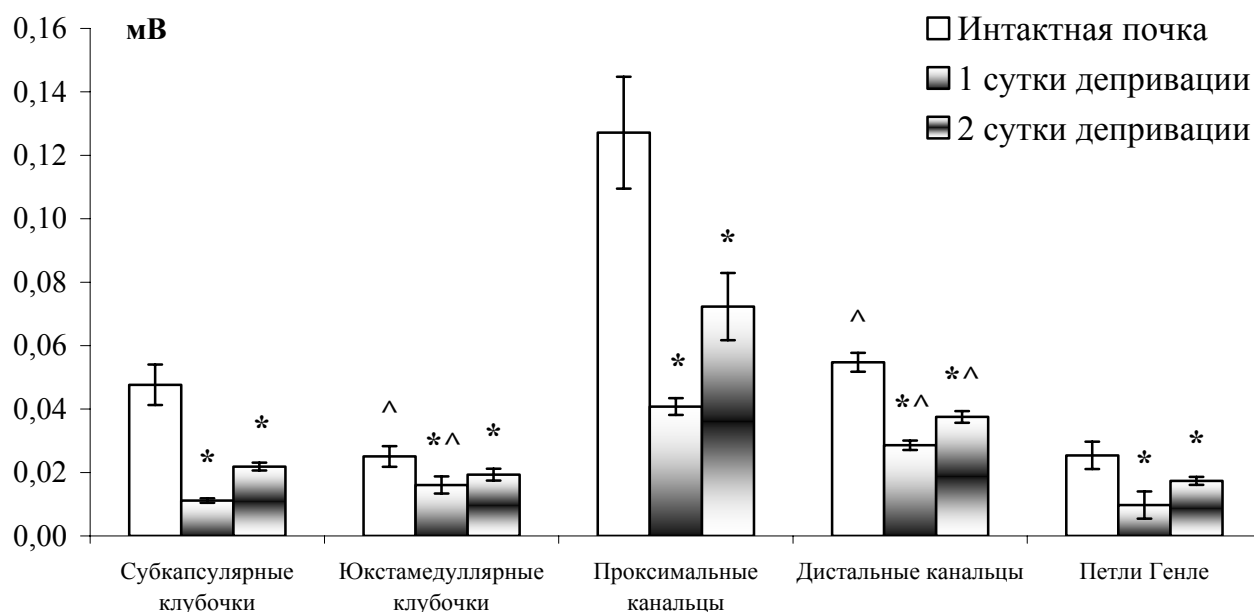


Рис. 23. Изменение люминесценции катехоламинов в структурах нефрона крыс при водной депривации, N=9, n=60

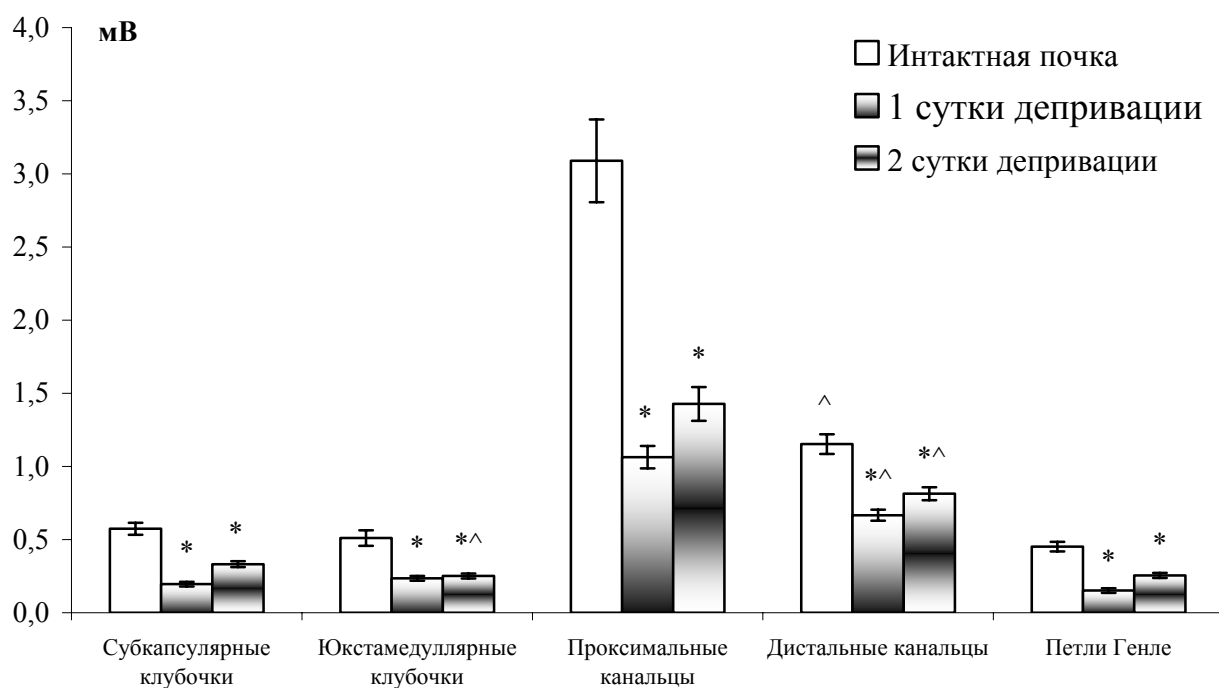


Рис. 24. Изменение люминесценции серотонина в структурах нефрона крыс при водной депривации, N=9, n=60

Генле. Водная депривация вызывала такие же изменения люминесценции серотонина, как и катехоламинов. Если люминесценция катехоламинов уменьшалась двукратно, то относительное уменьшение люминесценции серотонина в проксимальных каналцах было трехкратным. В капсуле почки в ответ на нагрузку водой количество катехоламинов статистично менялось со 2-го часа ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  соответственно), возврата к исходному уровню не наблюдалось (Рис. 25). Аналогично катехоламинам менялась люминесценция серотонина, однако достоверные различия наблюда-

лись уже с 1-го часа эксперимента ( $p < 0,001$ ) (Рис. 26). Между катехоламинами и серотонином обнаруживается сильная положительная корреляция  $r = 0,99$  ( $p < 0,01$ ).

В миокарде интактных крыс не наблюдалось различий содержания катехоламинов. Серотонина было больше в желудочках, чем в предсердиях в 1,5 раза ( $p < 0,001$ ) и в субэпикардиальной области, больше слева, чем справа ( $0,52 \pm 0,05$  и  $0,24 \pm 0,05$  мВ ( $p < 0,001$ ), но не в субэндокардиальной области. Водная нагрузка вызывала ожидаемые изменения. В 1-й час снизилось содержание серотонина (Рис. 27) и катехоламинов (Рис. 28) в стенках предсердий от  $0,3 \pm 0,03$  мВ до  $0,16 \pm 0,01$  мВ в субэпикардиальной области и от  $0,14 \pm 0,01$  до  $0,07 \pm 0,01$  мВ ( $p < 0,001$ ) в субэндокардиальной (Рис. 28). В правом желудочке уровни серотонина и катехоламинов увеличивались в среднем в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ).

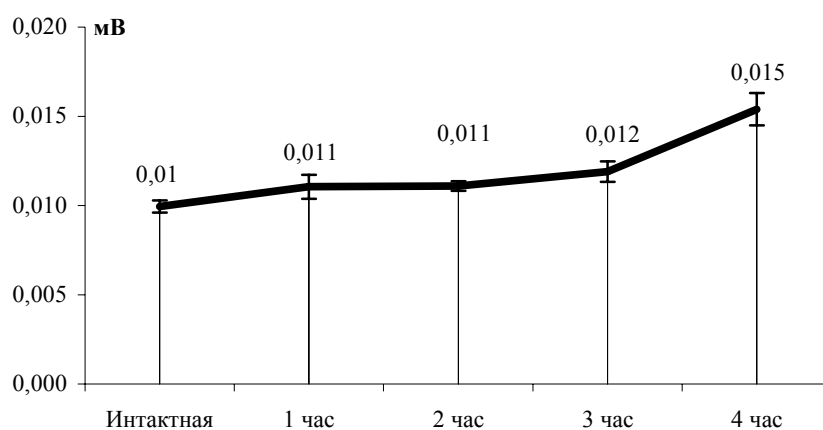


Рис. 25. Влияние водной нагрузки на уровень катехоламинов в капсуле почки, N=10, n=20

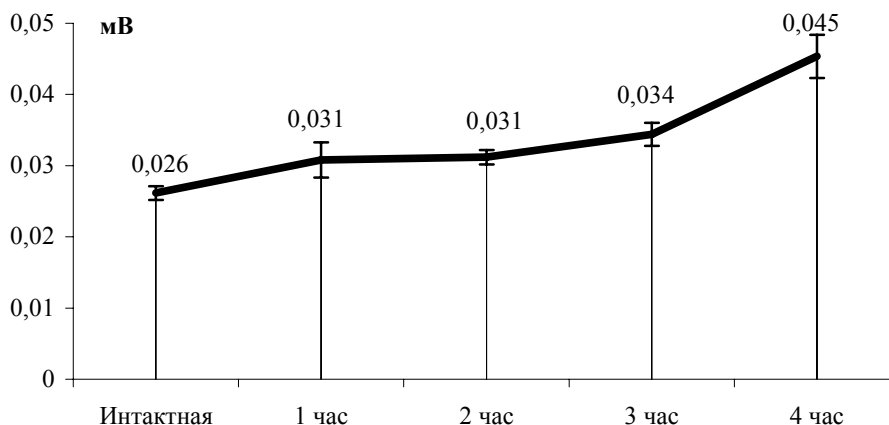


Рис. 26. Влияние водной нагрузки на уровень серотонина в капсуле почки, N=10, n=20

В левом желудочке содержание серотонина не менялось, а катехоламинов и ацетилхолина уменьшилось от  $0,15 \pm 0,02$  мВ до  $0,06 \pm 0,01$  в субэндокардиальной области для катехоламинов от  $1,31 \pm 0,23$  до  $0,17 \pm 0,08$  в субэпикардиальной и от  $0,72 \pm 0,08$  до  $0,46 \pm 0,05$  мВ в субэндокардиальной для ацетилхолина ( $p < 0,01$ ). После этого в правых отделах миокарда наблюдалось увеличение содержания серотонина и катехоламинов, максимальное в 3-й час до 30-50% от исходного уровня.

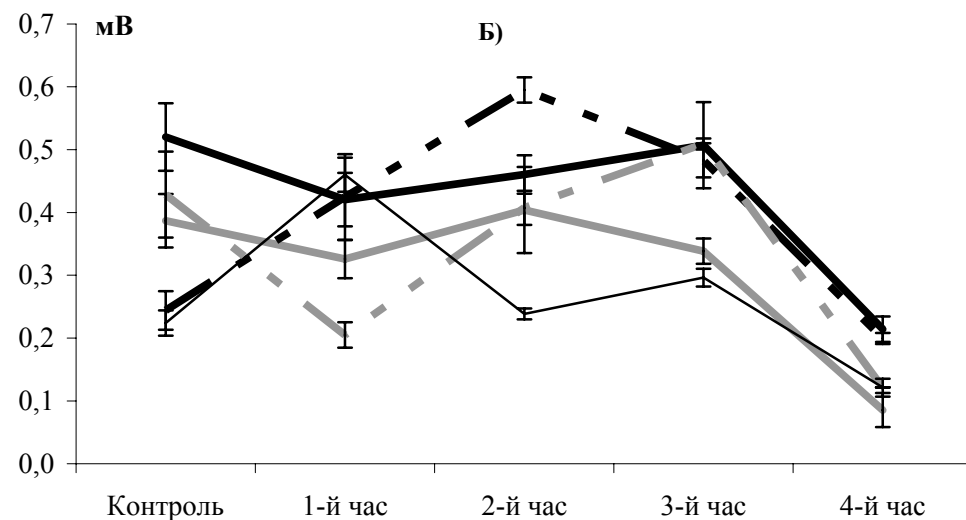
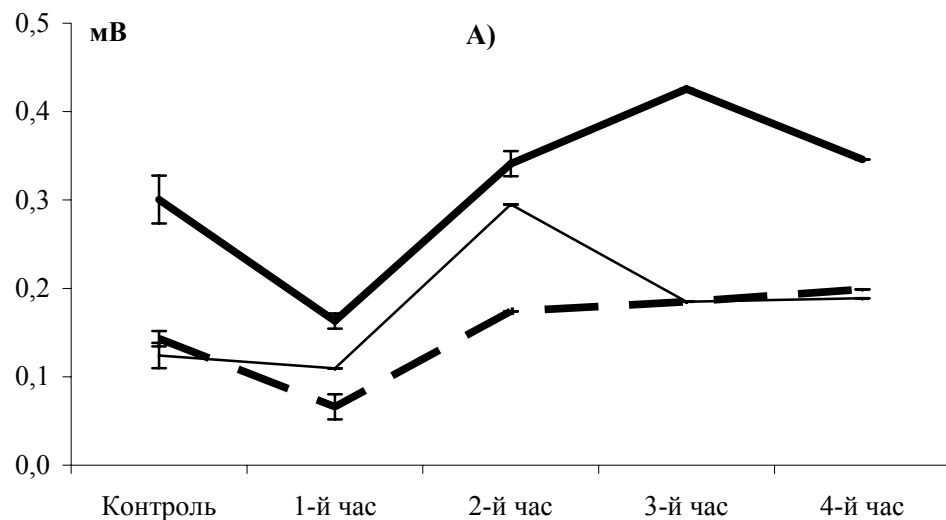


Рис. 27. Влияние водной нагрузки на содержание серотонина в различных отделах миокарда  
А) предсердия, Б) желудочки, N=20, n=40

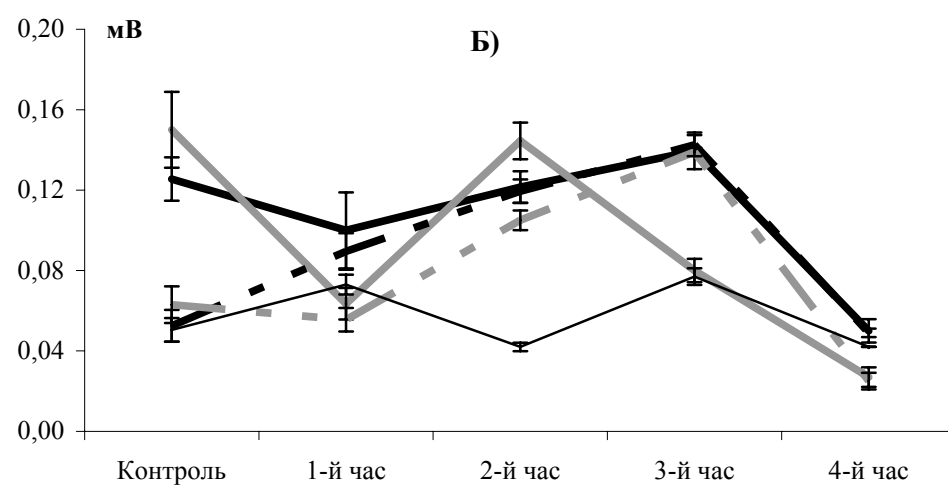
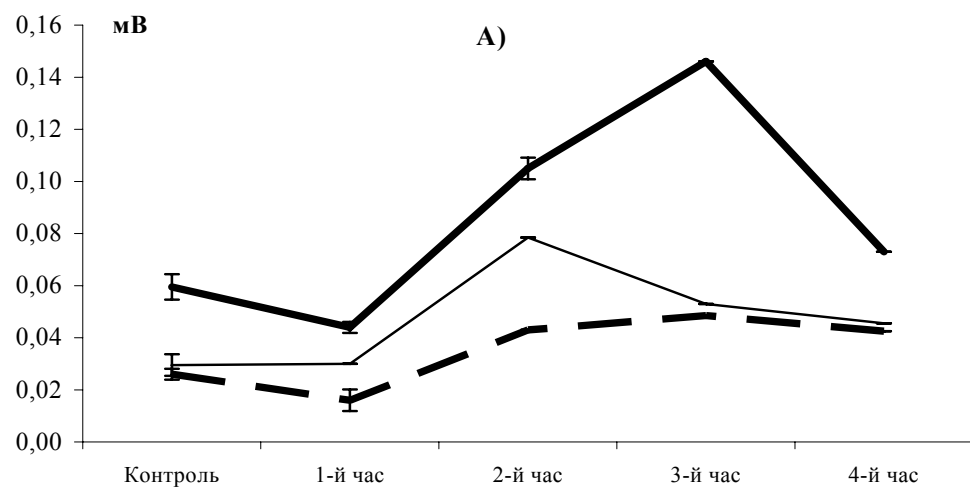


Рис. 28. Влияние водной нагрузки на содержание катехоламинов в различных отделах миокарда А) предсердия, Б) желудочки, N=20, n=40.



Таблица 19

Влияние водной нагрузки на флуоресценцию трансмиттеров (мВ) в строме и ГЛК тимуса, N=10, n=20, M±m

Структуры		Тимус интактных крыс	1 час	2 час	3 час	4 час
строма						
Катехоламины	Субсептальная область	0,011±0,0001	0,068±0,005****	0,014±0,001*	0,021±0,002**	0,043±0,006***
	Толща коркового вещества	0,015±0,0001	0,055±0,006****	0,018±0,002	0,011±0,0003***	0,035±0,003****
	Парамедуллярная область	0,022±0,003	0,082±0,004****	0,014±0,001*	0,018±0,002	0,051±0,003****
	Медуллярная область	0,012±0,0001	0,034±0,002****	0,01±0,001	0,03±0,001****	0,042±0,001****
Серотонин	Субсептальная область	0,004±0,0002	0,037±0,006***	0,004±0,0003	0,005±0,0005	0,016±0,001****
	Толща коркового вещества	0,006±0,0003	0,023±0,002	0,004±0,0003***	0,005±0,0003*	0,016±0,002
	Парамедуллярная область	0,008±0,0005	0,029±0,002****	0,007±0,001	0,008±0,001	0,017±0,002***
	Медуллярная область	0,005±0,0003	0,017±0,002****	0,004±0,0002	0,008±0,0003****	0,015±0,001****
ГЛК						
Катехоламины	Субсептальная область	0,007±0,0003	0,075±0,005****	0,013±0,003*	0,02±0,006*	0,028±0,002****
	Толща коркового вещества	0,009±01,001	0,036±0,003 <sup>#</sup>	0,008±0,001	0,012±0,002	0,02±0,002**
	Парамедуллярная область	0,02±0,002	0,067±0,009***	0,028±0,005	0,029±0,004	0,035±0,004**
Серотонин	Субсептальная область	0,02±0,002	0,17±0,02****	0,05±0,007**	0,08±0,008****	0,07±0,01***
	Толща коркового вещества	0,03±0,002	0,08±0,007****	0,04±0,004*	0,03±0,004	0,05±0,005***
	Парамедуллярная область	0,06±0,007	0,19±0,02**	0,07±0,001	0,1±0,01**	0,1±0,01**

К четвертому часу в правом желудочке наблюдалась тенденция к восстановлению исходного уровня обоих транмиттеров, а в левых – уровень катехоламинов и серотонина снижался на 50% и более. Поскольку при водном диурезе пик диуреза приходится на второй-третий час наблюдения, то наблюдаемые изменения транмиттерного статуса миокарда полностью совпадают с динамикой водного диуреза у крыс, описанной Е.Б. Берхином [11, 12]. При водной нагрузке мы не обнаружили ГЛК в медуллярной области тимуса (табл. 19). В других отделах стромы тимуса и в ГЛК в ответ на водную нагрузку происходило сильное, от 3 до 8 раз в 1-й час эксперимента, увеличение содержания катехоламинов и серотонина. Ко 2-му часу происходило снижение люминесценции обоих аминов, которая, тем не менее, оставалась более высокой, чем у интактных крыс. Накопление серотонина было более значительным в ГЛК (в 3-4 раза), чем в строме тимуса ( $p < 0,001$ ).

Как и в почках, при относительно низком уровне катехоламинов и серотонина в миокарде, водная нагрузка в нашем эксперименте вызывала увеличение их люминесценции, однако эта реакция была более выражена в желудочках, чем в предсердиях, справа больше чем слева и в субэпикардиальной области больше, чем в субэндокардиальной. Индуцированное водной нагрузкой изменение паттерна этих биоаминов, наблюдаемое в предсердиях, отличается от изменений, наблюдаемых в желудочках. Уровень серотонина к первому часу снижался, а затем практически не отличался от исходного количества, тогда как содержание катехоламинов возрастало более чем в два раза в субэпикардиальной области. В целом, возможно, это указывает, что наружные отделы миокарда более контрактильно активны, чем внутренние, а правые отделы более нагружены, чем левые. Кроме того, можно утверждать, что наблюдаемые изменения уровня катехоламинов и серотонина совпадают в динамике с параметрами водного диуреза у крыс, описанными ранее [11, 12, 72, 73, 74] и многими др. Очевидно, что контрактильность миокарда при срочной адаптации к увеличению ОЦК реализуется с помощью катехоламинов, увеличение уровня которых мы и пронаблюдали в безнервных участках миокарда.

Увеличение уровня катехоламинов в миокарде под воздействием водной нагрузки могло быть следствием реализации нескольких механизмов:

во-первых, в результате увеличения высвобождения норадреналина, но нервный медиаторный процесс, судя по классическим электрофизиологическим экспериментам, быстро истощается, мы же наблюдаем увеличение уровня регуляторных аминов в течение 2-3 часов от начала воздействия;

во-вторых, это могло быть следствием уменьшения захвата I, на высокую значимость этого механизма в реализации удаления катехоламинов из интерстиция миокарда указывает работа T.W. Lameris et al. [245], пронаблюдавших шестикратное увеличение уровня катехоламинов в миокарде при блокаде захвата I имипрамином, но такой механизм также быстро приводил бы к истощению кардиальных нервов, поскольку большая часть медиатора в области концевой пластинки накапливается в результате обратного нейронального захвата [177] и это означало бы, что мы значительно преувеличиваем роль нервной регуляции в контроле функций миокарда;

в-третьих, это мог бы быть адреналин, высвобождаемый надпочечником, однако при такой регуляции любая значимая нагрузка объемом, например, инфузионная тера-

пия, сопровождалась бы подъемом артериального давления, например, В.А. Говырин считает, что надпочечниковое происхождение катехоламинов миокарда маловероятно [23];

наконец, в-четвертых, это могут быть и катехоламины, синтезируемые *de novo* в самом миокарде, например миоцитами [23, 112] или хромоаффинными клетками [155].

В увеличении контрактильности в ответ на водную нагрузку, кроме катехоламинов, может принимать участие и серотонин. Как *in vivo*, так и *in vitro* серотонин вызывает положительный инотропный эффект, который в условиях целостного организма сопровождается увеличением ударного объема кровообращения. Серотонин вызывает более выраженное влияние на предсердия, чем на желудочки [75]. В то же время, миокард не получает серотонинергической иннервации. Поэтому наблюдаемое нами увеличение содержания серотонина в тканях миокарда в ответ на водную нагрузку или гиперкатехоламинемию нельзя объяснить нервными влияниями. Так же трудно представить, что эти две совершенно разные нагрузки могут одинаковым способом увеличить поглощение серотонина миокардом из крови. Тем более что при нагрузке водой в объеме 6% от массы тела плазменная концентрация серотонина, как и катехоламинов, вероятно, должна уменьшиться. В то же время, поскольку в сердце описан синтез дофамина и норадреналина [112], то вполне вероятен и синтез серотонина, как вещества, сопутствующего тканевым катехоламинам.

В клубочках и дистальных канальцах ацидоз вызвал статистичное уменьшение люминесценции катехоламинов в 1-й час (табл. 20). В последующие периоды наблюдения в канальцевом аппарате произошло восстановление уровня люминесценции, а в клубочках он оставался сниженным. При нагрузке бикарбонатом во всех отделах нефрона произошло увеличение уровня катехоламинов, максимальное во 2-й час эксперимента. Аналогичные изменения наблюдались и при исследовании люминесценции серотонина (табл. 21). Его уровень уменьшался при кислотной нагрузке и возрастал при бикарбонатной. В отличие от люминесценции катехоламинов, количество серотонина при ацидозе не восстанавливалось и оставалось сниженным, а в дистальных канальцах в 1-й час эксперимента наблюдалось даже увеличение уровня в 1,5 раза.

Как уже упоминалось, люминесцентно-гистохимическая техника мало применялась для изучения биоаминного статуса почки, в том числе для изучения регуляции кислотного баланса. Поэтому в своем исследовании мы практически не имеем возможности сослаться на аналогичные работы, что несколько затрудняет интерпретацию полученных нами данных. Возможно лишь, опираясь на теорию «функциональных блоков» [38] проводить параллели с исследованиями, посвященными изучению регуляции транспорта бикарбоната и  $H^+$  в слизистой желудка.

Известно, что регуляция транспорта  $H^+$  в обкладочных железах желудка регулируется ацетилхолином, гистамином, гастрином (возбуждающая регуляция) и соматостатином (тормозная регуляция) [38]. В наших экспериментах через час после внутрибрюшинного введения 0,1н раствора соляной кислоты в объеме 6% от массы тела происходило трехкратное увеличение флуоресценции ацетилхолина в проксимальных канальцах, которое продолжалось в течение всего периода наблюдения и снизилось только к концу четвертого часа. Поскольку известно, что основной пул  $H^+$  секретируется в проксималь-

ных канальцах [11, 12], обеспечивая реабсорбцию бикарбоната и эквивалентного количества  $\text{Na}^+$  [37, 317], то обнаруженный нами эффект вполне возможно расценивать как доказательство, что в проксимальном отделе нефрона медиаторная регуляция секреции  $\text{H}^+$ , как и в желудке, осуществляется с помощью ацетилхолина и гистамина. Вторым, по значимости и топографии, основным местом секреции  $\text{H}^+$  является петля Генле. Здесь в нашем эксперименте почти десятикратное увеличение интенсивности флуоресценции ацетилхолина происходило только в первый час, а затем эта реакция резко угнеталась, вплоть до статистически достоверного уменьшения к четвертому часу. Возможно, что такой тип реакции связан с быстрым истощением систем активного переноса  $\text{H}^+$ . В юкстамедуллярных канальцах, где секреция  $\text{H}^+$  менее значительна, достоверного изменения уровня флуоресценции ацетилхолина не наблюдалось. Эти факты совпадают с идеями В.Т. Ивашкина и соавт. о единстве строения и работы надмолекулярных функциональных образований, обеспечивающих выполнение аналогичных функций в разных органах и тканях [38]. Соответственно увеличению активности холинергических регуляторных механизмов в клубочковом аппарате почки происходило угнетение катехоламиновой регуляции, тогда как в канальцевом аппарате эта реакция была невыраженной. Поскольку этот эффект полностью согласуется с другими фактами функционального антагонизма холинергической и симпатической систем, то мы можем с достаточной долей уверенности утверждать, что примененный нами новый метод выявления ацетилхолина является достоверным и работоспособным.

Наблюдалось уменьшение интенсивности люминесценции серотонина в клубочках, что, если расценивать его как вазоконстриктор, вполне объяснимо функциональной необходимостью ограничения ацетилхолиновой вазодилатации. Интерпретация канальцевого эффекта затруднительна, уменьшение люминесценции в субкапсулярных канальцах можно расценивать как эффект, направленный на уменьшение реабсорбции бикарбоната, тогда как увеличение люминесценции серотонина в интрамедуллярных канальцах может быть вторичным эффектом, вызванным высвобождением серотонина в провизорную мочу. Поскольку симпатический и парасимпатический контроль, как правило, вызывает противоположные физиологические реакции, то выявленный нами факт увеличения активности симпатической регуляции при неактивированном холинергическом ответе на алкалоз кажется убедительным. Учитывая, что ренальный дофамин является внутривисцеральным регулятором транспорта  $\text{Na}^+$ , например, приоритетная работа L.I. Goldbegr et. al. [193], а также [124, 143] и многие др., наблюдавшийся нами ответ мог быть связан и с увеличением уровня плазменного  $\text{Na}^+$ , вызванного введением натриевой соли, что предполагает необходимость экспериментального уточнения результата.

Таким образом, исходя из наших и литературных данных, становится понятным, что антагонизм между катехоламинами и ацетилхолином, по крайней мере, в отношении почки, возможно, сильно преувеличен. В отношении «малых дозах» и дофамин, и ацетилхолин, как стимулятор NO-синтазы, вазодилататоры, натри- и диуретики. Оба вещества в «больших дозах» – вазоконстрикторы и антидиуретики. Факт обнаружения участия серотонина в регуляции канальцевых механизмов формирования финальной мочи в интрамедуллярных канальцах является новым и его интерпретация требует дальнейшего изучения.

Таблица 20

Изменение содержания катехоламинов (mV) в структурах почки крысы при изменении КОС, N=35, n=70, M±m

Структуры	Интактная почка	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч
внутрибрюшинной нагрузке 0,1н раствором соляной кислоты					
Субкапсулярные клубочки	0,009±2×10 <sup>-3</sup>	0,002±2×10 <sup>-4**</sup>	0,005±9×10 <sup>-4</sup>	0,004±7×10 <sup>-4*</sup>	0,004±5×10 <sup>-4*</sup>
Проксимальные канальцы	0,006±1,7×10 <sup>-3</sup>	0,004±2×10 <sup>-4</sup>	0,007±9×10 <sup>-4</sup>	0,007±1,6×10 <sup>-3</sup>	0,007±1,2×10 <sup>-3</sup>
Петли Генле	0,004±1,1×10 <sup>-3</sup>	0,003±2×10 <sup>-4</sup>	0,004±4×10 <sup>-4</sup>	0,004±7×10 <sup>-4</sup>	0,005±4×10 <sup>-4</sup>
Дистальные канальцы	0,009±2,4×10 <sup>-3</sup>	0,005±2×10 <sup>-4**</sup>	0,009±2,1×10 <sup>-3</sup>	0,009±1,6×10 <sup>-3</sup>	0,009±1,5×10 <sup>-3</sup>
4% раствором бикарбоната					
Субкапсулярные клубочки	0,004±8×10 <sup>-4</sup>	0,005±6×10 <sup>-4</sup>	0,01±2,8×10 <sup>-3</sup>	0,006±6×10 <sup>-4</sup>	0,006±6×10 <sup>-4</sup>
Проксимальные канальцы	0,007±1,3×10 <sup>-3</sup>	0,011±1,5×10 <sup>-3</sup>	0,0146±1×10 <sup>-3**</sup>	0,012±1,5×10 <sup>-3*</sup>	0,012±1,2×10 <sup>-3*</sup>
Петли Генле	0,003±4×10 <sup>-4</sup>	0,005±4×10 <sup>-4***</sup>	0,004±4×10 <sup>-4**</sup>	0,004±2×10 <sup>-4**</sup>	0,005±4×10 <sup>-4***</sup>
Дистальные канальцы	0,005±7×10 <sup>-4</sup>	0,006±5×10 <sup>-4</sup>	0,007±6×10 <sup>-4**</sup>	0,006±7×10 <sup>-4</sup>	0,006±4×10 <sup>-4*</sup>

Таблица 21

Изменение содержания серотонина (mV) в структурах почки крысы при изменении КОС, N=35, n=70, M±m

Структуры	Интактная почка	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч
при внутрибрюшинной нагрузке 0,1н раствором соляной кислоты					
Субкапсулярные клубочки	0,035±0,004	0,022±0,002**	0,02±0,003**	0,027±0,002	0,023±0,002**
Проксимальные канальцы	0,084±0,007	0,058±0,008*	0,075±0,007	0,096±0,008	0,076±0,007
Петли Генле	0,029±0,003	0,044±0,009	0,021±0,002*	0,03±0,003	0,026±0,002
Дистальные канальцы	0,048±0,005	0,074±0,004***	0,037±0,004	0,05±0,003	0,042±0,004
при внутрибрюшинной нагрузке 4% раствором бикарбоната					
Субкапсулярные клубочки	0,06±0,01	0,08±0,01	0,11±0,02*	0,08±0,01	0,09±0,01
Проксимальные канальцы	0,19±0,03	0,26±0,04	0,28±0,04	0,23±0,04	0,22±0,03
Петли Генле	0,04±0,01	0,07±0,01*	0,04±0,01	0,05±0,004	0,04±0,01
Дистальные канальцы	0,08±0,01	0,12±0,01*	0,13±0,021**	0,09±0,01	0,1±0,01

Исходя из полученных данных, можно заключить, что исследованная популяция крыс по уровню катехоламинов делится на две субпопуляции: с относительно высоким и низким (примерно в 2 раза) содержанием катехоламинов в структурах почки. В зависимости от этого водная нагрузка либо снижает, либо увеличивает количество катехоламинов, а диуретический ответ реализуется при каком-то определенном количестве катехоламинов в тканях почки. Для серотонина такие взаимоотношения не характерны.

Водная депривация в первые сутки сопровождается значительным, 2-5 раз, снижением уровней катехоламинов и серотонина, затем происходит восстановление уровней до интактных.

В капсуле почки, в ответ на нагрузку водой люминесценция катехоламинов и серотонина возрастает.

В миокарде первичная реакция на нагрузку водой – снижение уровней катехоламинов и серотонина, которое затем сменяется ростом выше интактного. Увеличение люминесценции катехоламинов и серотонина несколько раньше наблюдается в правых отделах, чем в левых. Завершение этой реакции совпадает с выведением водной нагрузки. Уровень катехоламинов и серотонина тимуса резко возрастает в первый час эксперимента в ответ на нагрузку водой.

Ацидоз уменьшает, а алкалоз увеличивает люминесценцию катехоламинов и серотонина в почке.

#### **4.5. Влияние длительного потребления $\text{Cu}^{++}$ и $\text{Zn}^{++}$ на тканевое содержание катехоламинов и серотонина и их реакцию на водную нагрузку**

Избыточное длительное потребление меди с водой вызвало снижение уровня катехоламинов в субкапсулярных клубочках и проксимальных канальцах крыс группы внутреннего контроля в 3,75 и 5,6 раза соответственно по сравнению с интактной почкой. В других частях нефрона изменений не наблюдается (табл. 22) [235].

После введения водной нагрузки наблюдалось увеличение люминесценции катехоламинов в 2,5 раза в субкапсулярных клубочках ( $p < 0,005$ ) ко 2-му часу. В юкстамедуллярных клубочках их уровень снижался в 1,6 раза к 1-му часу гидратации ( $p < 0,0001$ ) и увеличивался на 75% к 3-му часу ( $p < 0,05$ ). В проксимальных канальцах и петлях Генле гидратация уменьшала интенсивность люминесценции в 1,4 и 1,6 раза, соответственно, ( $p < 0,05$ ) ко 2-у часу с момента ее выполнения. Но к 1-му и 4-му часам наблюдения уровень этих веществ в петлях Генле увеличивался в 1,6 раза ( $p < 0,01$ ). В дистальных канальцах изменении люминесценции имело место к 4-му часу наблюдения: количество катехоламинов превысило внутренний контрольный уровень на 48% ( $p < 0,05$ ) (табл. 22). После 24 недель потребления меди люминесценция серотонина уменьшилась в субкапсулярных клубочках в 3 раза ( $p < 0,001$ ) во внутренней контрольной группе крыс по сравнению с интактной почкой. В других структурах нефрона люминесценция серотонина не менялась (табл. 23) [235].

После внутрибрюшинного введения воды люминесценция серотонина на этом фоне в 1-й час снизилась в юкстамедуллярных и увеличивалась ко 2-му часу в субкапсулярных (табл. 23). В проксимальных канальцах она была ниже внутреннего контрольного уровня на 68-75% ( $p < 0,05$ ) в течение 1-го, 2-го и 4-го часов наблюдения.

В петлях Генле уровень аминов увеличился в 1,6-1,4 раза к концу 1-го и 4-го часов наблюдения ( $p < 0,03$ ) и уменьшился на 48% ко 2-му часу от момента гидратации ( $p < 0,0001$ ). В дистальных канальцах водная нагрузка увеличила уровень серотонина в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) к 4-му часу наблюдения. Под влиянием избытка цинка выраженное уменьшение катехоламинов в 3,7 раза ( $p < 0,0001$ ), по сравнению с интактным органом, наблюдалось в проксимальных канальцах [237], тогда как в других отделах нефрона количество катехоламинов не менялось (табл. 24). Водная нагрузка на этом фоне индуцировала снижение уровня катехоламинов в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ), по сравнению с внутренним контрольным уровнем, в субкапсулярных клубочках к концу 2-го часа эксперимента. К концу 3-го часа люминесценция возвращалась к исходному уровню, и оставалась в тех же пределах в течение следующего часа. В юкстамедуллярных клубочках уровень катехоламинов не менялся в 1-й час наблюдения. К концу 2-го часа он уменьшился на 25% ( $p < 0,005$ ), но затем вернулся к исходному значению (табл. 24). В проксимальных канальцах водная нагрузка инициировала снижение количества катехоламинов в 3,2 раза по сравнению с внутренним контролем к концу 1-го часа эксперимента ( $p < 0,0001$ ) (табл. 24). Менее выраженное (на 30-40%) уменьшение люминесценции наблюдалось в течение следующих двух часов эксперимента ( $p < 0,02$ ), а к концу 4-го часа происходило восстановление до исходного уровня. В петлях Генле количество исследуемого амина не менялось в течение всего периода наблюдения. В дистальных канальцах уровень катехоламинов не менялся в течение первых двух часов гидратации, к концу 3-го часа он уменьшился в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ) и оставался достоверно сниженным в 1,5 раза к концу четвертого ( $p < 0,01$ ).

Люминесценция серотонина под влиянием приема ионов цинка уменьшалась в 2 раза в дистальных канальцах ( $p < 0,0001$ ) и не изменялась в других частях нефрона (табл. 25) [237]. Интенсивность люминесценции этого амина уменьшалась в субкапсулярных клубочках в первые два часа после гидратации по сравнению с внутренним контрольным уровнем в 2,5 раза ( $p < 0,0001$ ) и была на 40% выше контроля в последующий час ( $p < 0,01$ ). К концу 4-го часа водной нагрузки уровень серотонина восстановился до исходного. Достоверное двукратное снижение уровня серотонина ( $p < 0,0001$ ) наблюдалось в юкстамедуллярных клубочках к концу 1-го часа эксперимента, однако в последующем люминесценция серотонина не отличалась от внутреннего контроля (табл. 25). В проксимальных канальцах гидратация была причиной уменьшения количества серотонина в течение всего эксперимента с минимумом в 2,7 раза ниже внутреннего контрольного уровня к концу 1-го часа ( $p < 0,0001$ ) (табл. 25). В петлях Генле уровень люминесценции этого амина не менялся. В дистальных канальцах уровень люминесценции серотонина был сравним с внутренним контрольным к концу 1-го, 3-го и 4-го часов наблюдения и уменьшался на 35% ( $p < 0,0001$ ) к концу 3-го часа. Длительное потребление ионов меди не изменяло уровень катехоламинов в капсуле почки крыс группы внутреннего контроля (Рис. 29), а введение водной нагрузки на этом фоне приводило к фазным изменениям люминесценции: двукратное снижение к концу 2-го часа эксперимента ( $p < 0,0001$ ), к концу 3-го – люминесценция увеличилась в 2,5 раза ( $p < 0,001$ ), в 4-й час уровень восстановился до исходного. В отличие от катехоламинов, содержание серотонина в почечной капсуле крыс группы внутреннего контроля под влиянием длительного потребления меди достоверно увеличилось ( $p < 0,05$ ) (Рис. 30). У подопытных крыс водная нагрузка вызвала изменения аналогичные реакции катехоламинов. Во 2-ой час нагрузки люми-

Таблица 22

Влияние длительного потребления  $\text{Cu}^{++}$  и водной нагрузки на его фоне на люминесценцию катехоламинов (mV) в структурах почки, N=45, n=90, M±m

Структуры	Контрольная почка	Почка крыс внутреннего контроля	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч
Субкапсулярные клубочки	0,15±0,03	0,04±0,004*** <sup>И</sup>	0,04±0,004	0,06±0,01**	0,05±0,01	0,05±0,01
Юкстамедуллярные клубочки	0,14±0,03	0,11±0,01	0,06±0,01****	0,16±0,03	0,19±0,03*	0,12±0,02
Проксимальные канальцы	0,79±0,19	0,14±0,01*** <sup>И</sup>	0,15±0,02	0,11±0,01*	0,15±0,01	0,15±0,01
Петли Генле	0,07±0,01	0,05±0,01	0,08±0,004**	0,03±0,003*	0,05±0,01	0,08±0,01**
Дистальные канальцы	0,45±0,09	0,41±0,07	0,37±0,06	0,43±0,07	0,55±0,1	0,61±0,07*

Таблица 23

Влияние длительного потребления  $\text{Cu}^{++}$  и водной нагрузки на его фоне на люминесценцию серотонина (mV) в структурах почки, N=45, n=90, M±m

Структуры	Контрольная почка	Почка крыс внутреннего контроля	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч
Субкапсулярные клубочки	0,56±0,12	0,17±0,02*** <sup>И</sup>	0,15±0,02	0,25±0,02**	0,18±0,01	0,19±0,03
Юкстамедуллярные клубочки	0,58±0,1	0,46±0,05	0,24±0,02****	0,59±0,01	0,75±0,01*	0,47±0,06
Проксимальные канальцы	0,65±0,04	0,77±0,07* <sup>И</sup>	0,52±0,06*	0,58±0,07*	0,69±0,03	0,58±0,04*
Петли Генле	0,24±0,04	0,21±0,03	0,33±0,03*	0,11±0,01****	0,22±0,03	0,29±0,03*
Дистальные канальцы	1,73±0,3	1,72±0,03	1,63±0,21	1,69±0,33	2,14±0,4	2,39±0,03*



Таблица 24

Влияние водной нагрузки на люминесценцию катехоламинов (mV) в структурах почки в условиях длительного приема  $Zn^{++}$ ,  
N=15, n=20, M±m

Структуры	Контрольная почка	Почка крыс внутреннего контроля	1 час	2 час	3 час	4 час
Субкапсулярные клубочки	0,04±0,007	0,03±0,005	0,01±0,001**	0,01±0,001**	0,025±0,003	0,024±0,003
Юкстамедуллярные клубочки	0,03±0,004	0,024±0,002	0,022±0,002	0,016±0,002**	0,027±0,005	0,07±0,009***
Проксимальные канальцы	0,24±0,02	0,096±0,008***И	0,03±0,002**	0,05±0,003**	0,06±0,007**	0,063±0,01
Петли Генле	0,02±0,002	0,013±0,001	0,015±0,001	0,016±0,001	0,014±0,001	0,016±0,001
Дистальные канальцы	0,04±0,002	0,04±0,002	0,034±0,003	0,044±0,003	0,03±0,003*	0,06±0,005*

Таблица 25

Влияние водной нагрузки на люминесценцию серотонина (mV) в структурах почки в условиях длительного приема  $Zn^{++}$ , N=15,  
n=20, M±m

Структуры	Контрольная почка	Почка крыс внутреннего контроля	1 час	2 час	3 час	4 час
Субкапсулярные клубочки	0,08±0,013	0,1±0,013	0,04±0,004**	0,04±0,004**	0,06±0,007**	0,08±0,008
Юкстамедуллярные клубочки	0,1±0,014	0,08±0,009	0,04±0,004**	0,05±0,01	0,07±0,01	0,08±0,008
Проксимальные канальцы	0,22±0,02	0,27±0,029	0,1±0,008**	0,18±0,015**	0,2±0,02*	0,18±0,029**
Петли Генле	0,06±0,01	0,04±0,007	0,04±0,003	0,04±0,004	0,04±0,002	0,04±0,004
Дистальные канальцы	0,23±0,02	0,12±0,007***И	0,13±0,017	0,17±0,013*	0,12±0,001	0,1±0,018

несценция снизилась ( $p < 0,01$ ), а в 3-й – увеличилась ( $p < 0,0001$ ). Как и в предыдущих случаях, не наблюдалось корреляции между ацетилхолином и гистамином и этими трансмитами с катехоламинами и серотонином, тогда как между серотонином и катехоламинами  $r = 0,92$ . В почечной капсуле в ответ на длительный прием  $Zn^{++}$  количество катехоламинов увеличивалось в 3,5, а серотонина в 4 раза ( $p < 0,0001$ ). Водная нагрузка на этом фоне резко в течение всего эксперимента угнетала как люминесценцию катехоламинов, так и серотонина ( $p < 0,0001$ ) (Рис. 31), между серотонином и катехоламинами  $r = 0,99$  ( $p < 0,01$ ).

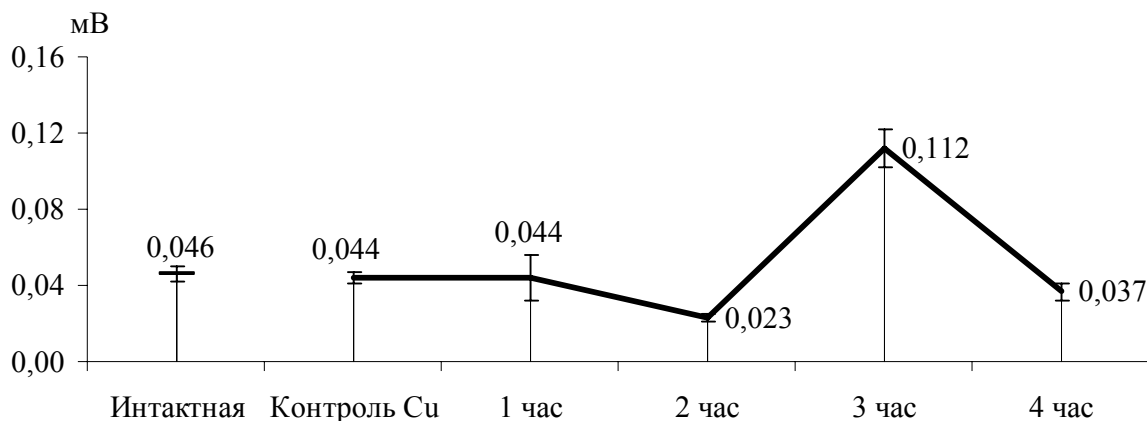


Рис. 29. Влияние длительного приема  $Cu^{++}$  и водной нагрузки на фоне приема меди на уровень катехоламинов в капсуле почки,  $N=10$ ,  $n=20$

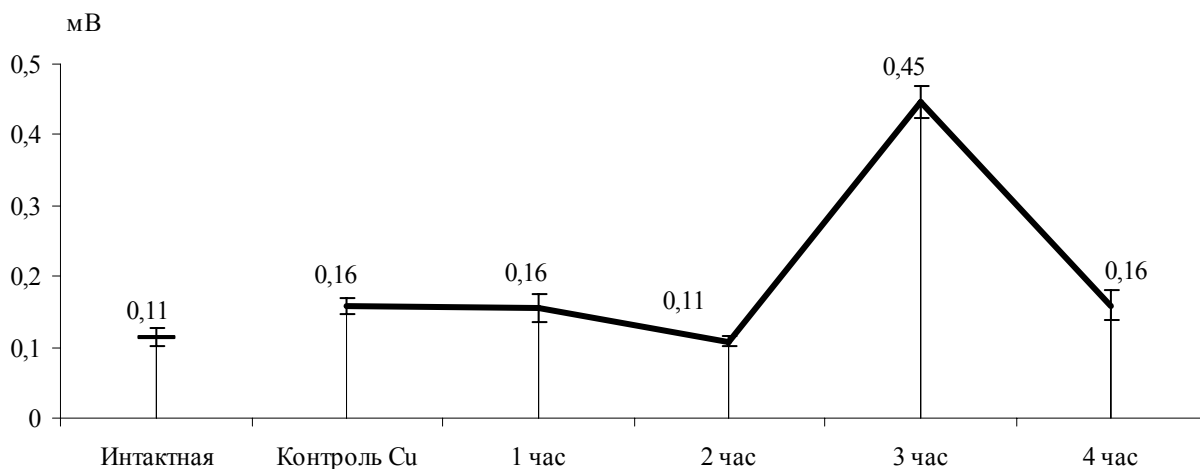


Рис. 30. Влияние длительного приема  $Cu^{++}$  и водной нагрузки на фоне приема меди на уровень серотонина в капсуле почки,  $N=10$ ,  $n=20$

При изучении коэффициента  $I_s$  установлено, что он во всех случаях меняется достоверно (Рис. 32). Если на водной нагрузке без предварительного потребления металлов прирост составляет только 11% ( $p < 0,05$ ), то на фоне меди увеличение  $I_s$  составляет 94% ( $p < 0,01$ ).

На фоне потребления ионов цинка  $I_s$  менялся только в первый час эксперимента 54% ( $p < 0,01$ ), а затем восстанавливается до исходного уровня. Как можно видеть на Рис. 32, динамика изменения  $I_s$  отличается от динамики образующих его аминов. В первую очередь это связано с тем, что при водной нагрузке люминесценция серотонина меняется больше, чем катехоламинов.

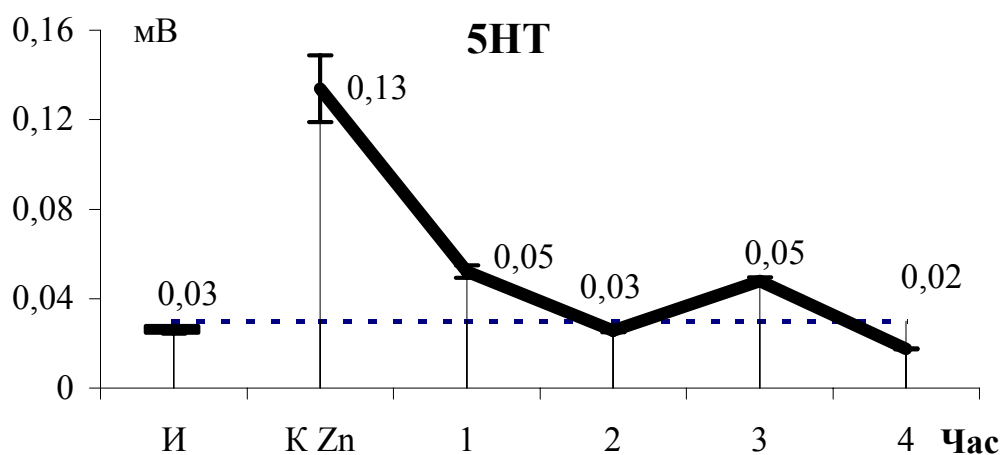
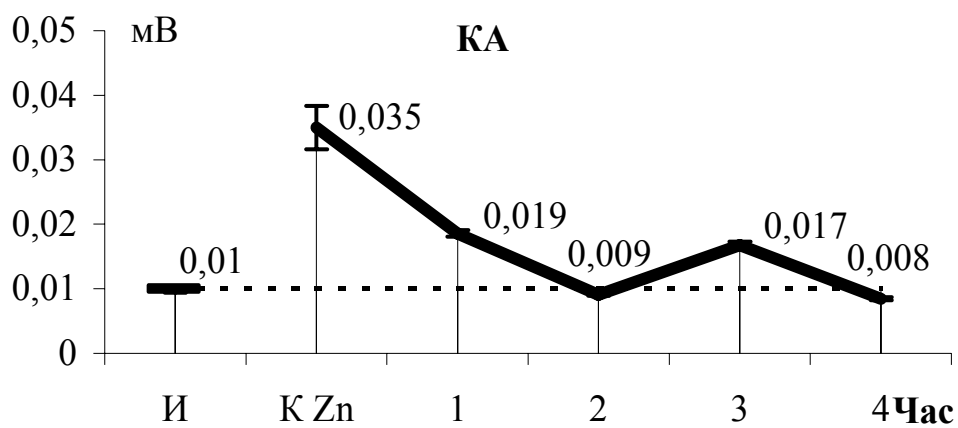


Рис. 31. Влияние длительного приема  $Zn^{++}$  и водной нагрузки на фоне приема цинка на уровень катехоламинов и серотонина в капсуле почки, N=10, n=20

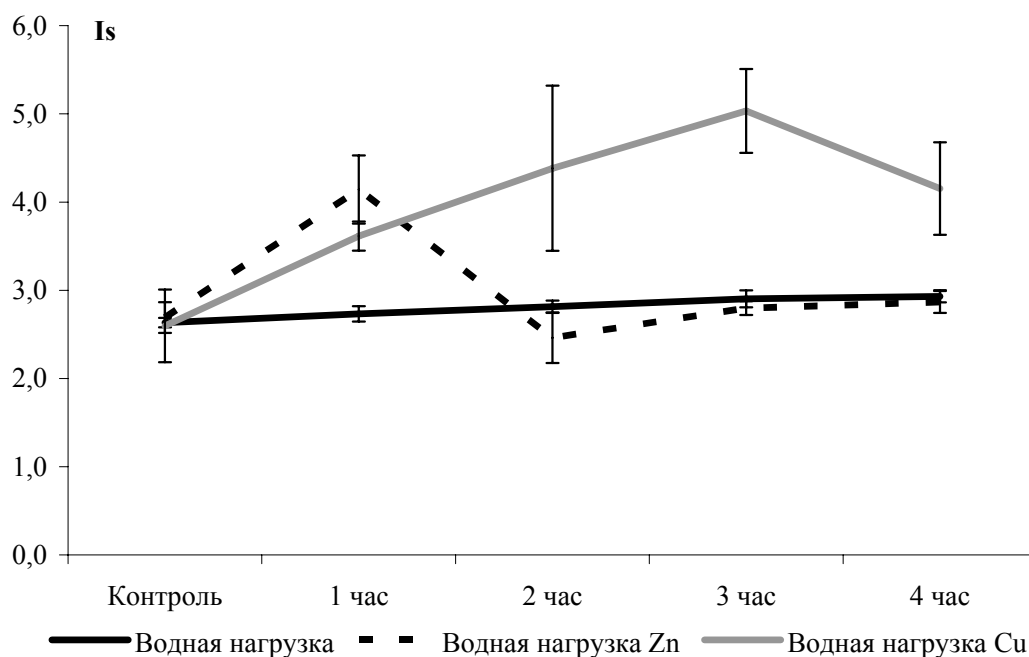


Рис. 32. Влияние водной нагрузки на уровень коэффициент Is в капсуле почки, N=10, n=20

Исходя из полученных данных, следует, что длительное потребление ионов меди и цинка в выбранном дозовом режиме изменяет реакцию на водную нагрузку экстранейрональных трансмиттеров почки и почечной капсулы.  $\text{Cu}^{++}$  уменьшает содержание катехоламинов в кортикальных отделах почки, что совпадает с данными о локализации экстранейронального почечного синтеза дофамина [129, 195, 198, 308].  $\text{Zn}^{++}$  также вызывал уменьшение люминесценции катехоламинов, но, в отличие от меди, только в проксимальных канальцах. И  $\text{Cu}^{++}$ , и  $\text{Zn}^{++}$  уменьшали уровень серотонина в дистальных канальцах.

Прием ионов меди вызвал изменение паттерна катехоламинов в ответ на водную нагрузку. В кортикальных отделах их уровень увеличивается, а затем уменьшается ниже интактного. В дистальных канальцах происходит запаздывание ответа на три часа. На фоне приема ионов цинка водная нагрузка уменьшает люминесценцию и катехоламинов и серотонина во всех отделах почки.

В капсуле почки  $\text{Cu}^{++}$  не меняет параметры люминесценции катехоламинов, но увеличивает количество серотонина. Реакция тканевого содержания аминов на водную нагрузку, по сравнению с ответом без нагрузки металлами, также изменяется. Первоначальное падение уровней обоих аминов сопровождается последующим значительным увеличением.

Как введение хлорида меди (100 мкг/кг), так и медный дефицит в головном мозге крыс уменьшают количество катехоламинов. В то же время в опытах на изолированном кишечнике введение ионов меди в инкубационный раствор полностью прекращает реакцию органа на введение адреналина, тогда как ионы цинка резко усиливали тормозное действие адреналина [83].

Уровни катехоламинов и серотонина, исходно низкий (гораздо более низкий, чем в почке) в ответ на водную нагрузку нарастают до конца наблюдения. Эта реакция аналогична реакции в почках, где при исходно низком уровне этих аминов также наблюдается увеличение их люминесценции при водной нагрузке.

Исходный уровень катехоламинов и серотонина в капсуле почки и различных отделах нефрона интактных крыс сопоставим. Длительный прием цинка вызывал увеличение люминесценции катехоламинов и серотонина в капсуле почки подопытных крыс в 3 и более раз, по сравнению с интактными, тогда как в почках такой интенсивной реакции не наблюдалось. Водная нагрузка индуцировала интенсивное снижение их уровня до количеств, сравнимых с уровнями у интактных животных. В почке, при таком относительно низком уровне катехоламинов, наблюдалось увеличение люминесценции катехоламинов и серотонина в ответ на водную нагрузку.

В отличие от потребления ионов цинка, поступление ионов меди не вызывало значительных изменений количества катехоламинов и серотонина в капсуле почки по сравнению с интактными крысами, но в отличие от экспериментов с насыщением цинком, водная нагрузка на фоне приема меди увеличивала люминесценцию катехоламинов и серотонина. Значительные различия ответа на водную нагрузку в условиях нагрузки цинком или медью, по сравнению с животными, не получавшими избытка металлов, обнаруживаются и при исследовании динамики  $I_s$  в капсуле почки. На водной нагрузке, вне зависимости от изменений содержания катехоламинов и серотонина  $I_s$  стремится быть константой, что, вероятно, является необходимым условием реализации диуретического ответа на нагрузку объемом в физиологических условиях. То-

гда как на фоне нагрузки медью Is увеличивается до 3-го часа эксперимента, а на фоне приема цинка такое увеличение наблюдается только в первый час нагрузки водой. Учитывая, что мы наблюдали худшую переносимость нагрузки медью, чем цинком со значительным падежом подопытных животных, можно сделать вывод, что избыток меди вызывает более грубые нарушения функционирования физиологических систем. Кроме того, наши эксперименты показывают, что для исследования факторов токсичности не достаточно изучения каких-либо биохимических параметров по схеме «сравнение контроля с результатом воздействия». Необходимо еще и предъявление адекватной для данного органа функциональной нагрузки, ответ на которую меняется непредсказуемым образом.

Из наших данных следует, что почечная капсула не является пассивной «корзиночкой» для подвешивания почки на место. Это функционально активный орган, реагирующий на изменение состояния почки и принимающий участие в ответе этого органа на физиологически привычную нагрузку. Ответ почечной капсулы может запускаться, например, в результате увеличения тургорного давления почки при водном диурезе. Косвенным подтверждением правомочности такого предположения является начало ответа в почечной капсуле, как правило, на высоте почечной реакции, когда гидратированность почки при нагрузке объемом максимальна, а, следовательно, максимально и тургорное давление. Какова роль почечной капсулы в реализации интегрального диуретического ответа на увеличение ОЦК требует отдельного подробного изучения. Количество ацетилхолина и гистамина в капсуле почки значительно ниже, чем в самой почке, тогда как уровни катехоламинов и серотонина сопоставимы. Поскольку, как следует из литературного обзора, в почке имеет место как синтез *de novo*, гистамина, так и экстранейрональных ацетилхолина, катехоламинов и серотонина, то допустимо сделать предположение, что в капсуле почки также имеет место синтез катехоламинов и серотонина.

Данные, полученные нами, могут быть интерпретированы следующим образом. Механизм реализации ответа изменяется на максимальных функциональных нагрузках. Потребление  $\text{Cu}^{++}$ , очевидно, ломает взаимоотношения холин-, катехоламин- и серотонинергической систем в реализации диуреза при максимальной водной нагрузке. Однако гистаминовая регуляция не нарушена. Очевидно, это подразумевает, что гистаминовая регуляция диуреза не зависит от состояния почечных экстранейрональных холин-, катехоламин- и серотонинергической систем. Возможно, это также свидетельствует о приоритетности гистаминовой регуляции.

Потребление ионов цинка уменьшало количество серотонина в дистальных канальцах и катехоламинов в проксимальных канальцах. Водная нагрузка на фоне насыщения цинком индуцировала параллельное снижение уровня обоих аминов, сначала в кортикальной области почек, а затем и в медуллярной. Только водная нагрузка (без ионов цинка) вызывает более сложные изменения уровня этих аминов [233]. При таком же исходном количестве катехоламинов, как и в эксперименте с цинком, уровень катехоламинов увеличивается в субкапсулярных клубочках, но уменьшается в канальцевом аппарате в первый час гидратации. К концу эксперимента происходит увеличение уровня катехоламинов в канальцах, тогда как уровень серотонина сразу снижается и остается таковым весь период наблюдения. Между цинком и серотонином существует прямая связь, 5-НТ<sub>3</sub>-рецептор имеет  $\text{Zn}^{++}$ -содержащие места, которые увеличивают аффинитет рецептора к серотонину [212]. Этот факт не объясняет, ка-

ким образом это связано с реакцией серотониновых систем почки на гидратацию организма, в том числе и на фоне избыточного потребления цинка.

Кроме того, найдено, что введение в желудочки мозга цинка в виде ацетата в трех дозах (0,03, 0,3 и 3,0 нмоль/на крысу) вызвало значительное увеличение натри- и калиуреза по сравнению с контролем, в котором в желудочки вводился ацетат натрия. Лозартан, (10,8 нмоль/на крысу в третий желудочек за 10 мин до введения ацетата цинка) предотвращал развитие натри- и калиуреза [162]. Из этого эксперимента следует, что цинк может принимать участие в работе блокируемых лозартаном ангиотензиновых рецепторов.

Из наших данных следует: цинк принимает участие в ответе экстранейрональных почечных транзиттерных систем на водную нагрузку и реализации диуреза. Кроме того, цинк уменьшает влажную массу почек. В то время как водная нагрузка восстанавливает влажную массу почек, сниженную длительным приемом цинка.

#### **4.6. Влияние водной нагрузки и длительного приема $\text{Cu}^{++}$ и $\text{Zn}^{++}$ на содержание катехоламинов и серотонина в тимусе**

Нагрузка ионами меди практически не изменяла уровень катехоламинов в структурах тимуса крыс группы внутреннего контроля. Статистически значимое увеличение уровня катехоламинов наблюдалось только в толще коркового вещества (табл. 26) [236]. У подопытных крыс водная нагрузка на этом фоне явилась причиной изменений уровня катехоламинов, подобных гистаминовому ответу. То есть, наблюдалось увеличение количества катехоламинов в различных областях тимуса (табл. 26). Но в ГЛК водная нагрузка увеличивала содержание катехоламинов только к 4-му часу наблюдения.

Содержание серотонина сильно различается в различных частях интактного тимуса (табл. 27). Наименьшее количество обнаруживалось в толще коркового вещества и септах, максимальное – в парамедулярной области. Длительный прием ионов меди изменял эти отношения: количество серотонина уменьшается, и его распределение у крыс группы внутреннего контроля становится однородным [236].

У подопытных крыс водная нагрузка увеличивает флуоресценцию серотонина. В ГЛК количество серотонина в толще коркового вещества уменьшалось до уровня, сравнимого с наблюдаемым в ближайшем клеточном окружении (табл. 27). Длительный прием ионов меди стал причиной выравнивания различий между контрольными крысами и группой внутреннего контроля. Водная нагрузка увеличивала количество серотонина, как и других транзиттеров.

На фоне длительного потребления ионов цинка содержание катехоламинов уменьшалось в 3 раза в ГЛК субсептальной области ( $p < 0,03$ ). В ГЛК других частей тимусной доли, по сравнению с интактным органом, количество катехоламинов не менялось (табл. 28). У подопытных крыс под влиянием водной нагрузки в ГЛК субсептальной области увеличивалось количество катехоламинов к концу 1-го и 3-го часов в 3,2-3,5 раза по сравнению с контрольным уровнем ( $p < 0,01$ ) [237]. За все время эксперимента в ГЛК парамедулярной области содержание катехоламинов увеличивался на 50% только в 1-й час внутрибрюшинного введения воды ( $p < 0,0001$ ). В другие часы наблюдения клеточные концентрации катехоламинов не отличались от ве-

личин у интактных крыс (табл. 29). В контрольной группе крыс потребление  $Zn^{++}$  в дозе 10ПДК с водой уменьшало содержание катехоламинов в 3 раза в септах ( $p < 0,01$ ) и на 10% в мозговом веществе ( $p < 0,04$ ). В микроокружении ГЛК других частей долики тимуса люминесценция исследуемого вещества не отличалась от контрольного уровня (табл. 29). В субсептальной области после водной нагрузки количество катехоламинов было в 1,8 раза выше, чем на контроле ( $p < 0,02$ ) к концу 1-го, 3-го и 4-го часов. Люминесценция исследуемой биологически активной субстанции была увеличена в 2 раза к концу 3-го часа после гидратации ( $p < 0,0001$ ) в ближайшем клеточном окружении ГЛК толщи коркового вещества и не менялось по сравнению с контролем в остальные часы наблюдения. В парамедуллярной области уровень катехоламинов не отличался от контроля в первые 2 часа наблюдения и превышал его на 80% к концу 3-го и 4-го часов гидратации ( $p < 0,02$ ). Через один час после введения воды крысам люминесценция катехоламинов достоверно уменьшилась на 25% в мозговом веществе ( $p < 0,01$ ), к концу второго часа была сравнима с контрольным уровнем, а в 3-й и 4-й час достигала уровня в 1,5 раза большего, чем на контроле ( $p < 0,001$ ). В септах количество катехоламинов не отличалось от контроля в первые два часа эксперимента и превышало его на 50% в течение остального экспериментального периода ( $p < 0,01$ ) (табл. 28).

Длительное потребление цинка индуцировало уменьшение количества серотонина в 2,2 раза в ГЛК субсептальной зоны у крыс контрольной группы, но при этом его уровень увеличивался в два раза в ГЛК толщи коркового вещества ( $p < 0,01$ ). Люминесценция серотонина не менялась в ГЛК субсептальной зоны (табл. 29) [237]. В исследуемых клетках субсептальной области после гидратации люминесценция серотонина достоверно увеличилась в 1,8-2 раза к концу 1-го, 3-го и 4-го часов наблюдения ( $p < 0,01$ ). К концу 2-го часа уровень этого амина не отличался от контрольного. В ГЛК толщи коркового вещества к концу 3-го часа после введения водной нагрузки крысам интенсивность люминесценции трансмиттера увеличилась на 50% по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ). В ГЛК парамедуллярной зоны гидратация была причиной уменьшения уровня серотонина в 1,5 раза к концу 1-го часа ( $p < 0,03$ ), с последующим увеличением люминесценции в 2 раза к концу 2-го и 3-го часов ( $p < 0,03$ ). К концу 4-го часа уровень люминесценции возвращался к контрольному (табл. 28).

Длительное потребление цинка индуцировало уменьшение содержания серотонина в септах в 2 раза по сравнению с интактной тканью ( $p < 0,0001$ ) [238]. Уровень трансмиттера не менялся в остальных частях тимуса (табл. 29). Через один час после гидратации люминесценция серотонина в микроокружении ГЛК субсептальной зоны увеличилась в 1,8 раз ( $p < 0,01$ ) и возвратилась к контрольному уровню к концу 2-го часа. В течение 3-го и 4-го часов после нагрузки его люминесценция оставалась выше контрольного 1,8-1,5 раза ( $p < 0,001$ ). Уровень амина был в 1,5 и 2,3 раза выше контроля ( $p < 0,05$ ) в микроокружении ГЛК толщи коркового вещества к концу 1-го и 3-го часов эксперимента и не отличался от него во 2-й и 4-й часы после гидратации. К концу 3-го часа после гидратации в парамедуллярной области и в мозговом веществе долики тимуса содержание исследуемого вещества превышало контрольный уровень в 1,5 и 2 раза ( $p < 0,0001$ ), соответственно и не менялось в течение остального периода эксперимента. В септах после интраперитонеального введения воды в течение всего периода наблюдения люминесценция серотонина превышала контрольные значения в 1,5-2 раза ( $p < 0,0001$ ) (табл. 29).

Таблица 26

Влияние водной нагрузки на люминесценцию катехоламинов (мВ) в структурах тимуса на фоне длительного приема меди, N=15, n=20, M±m

Структуры	Тимус контрольных крыс	Тимус крыс внутреннего контроля	1 час	2 час	3 час	4 час
Строма						
Субсептальная область	0,005±0,001	0,005±0,001	0,005±0,001	0,008±0,001**	0,008±0,002	0,012±0,001**
Толща коркового вещества	0,002±0,0001	0,004±0,0001***И	0,006±0,001*	0,005±0,0001	0,008±0,001*	0,012±0,001*
Парамедуллярная область	0,007±0,001	0,005±0,001	0,009±0,002	0,008±0,001*	0,012±0,001*	0,016±0,001*
Медуллярная область	0,004±0,0001	0,003±0,0001	0,012±0,001****	0,006±0,0001****	0,007±0,001****	0,012±0,001****
Септа	0,002±0,0001	0,002±0,0001	0,004±0,0001***	0,001±0,0001	0,007±0,001***	0,008±0,001***
гранулярные люминесцирующие клетки						
Субсептальная область	0,01±0,002	0,01±0,001	0,01±0,001	0,02±0,001	0,01±0,001	0,02±0,002****
Толща коркового вещества	0,03±0,0001	0,01±0,001	0,01±0,002	0,01±0,001	0,01±0,001	0,02±0,001****
Парамедуллярная область	0,02±0,002	0,01±0,001	0,02±0,002	0,01±0,0001	0,02±0,0001	0,03±0,002****

Таблица 27

Влияние водной нагрузки на люминесценцию серотонина (мВ) в строме тимуса на фоне длительного приема меди, N=15, n=20, M±m

Структуры	Тимус контрольных крыс	Тимус крыс внутреннего контроля	1 час	2 час	3 час	4 час
Строма						
Субсептальная область	0,02±0,004	0,017±0,002	0,02±0,002	0,033±0,002****	0,024±0,003	0,031±0,002****
Толща коркового вещества	0,007±0,0001	0,013±0,001***И	0,02±0,003	0,015±0,002*	0,028±0,002*	0,033±0,004*
Парамедуллярная область	0,17±0,001	0,03±0,004***И	0,029±0,002	0,029±0,001	0,03±0,002	0,04±0,002*
Медуллярная область	0,15±0,002	0,021±0,004***И	0,027±0,017	0,017±0,001	0,021±0,001	0,034±0,003*
Септа	0,009±0,0001	0,011±0,001	0,011±0,001	0,005±0,001**	0,02±0,0001	0,015±0,001
гранулярные люминесцирующие клетки						
Субсептальная область	0,05±0,01	0,04±0,001	0,03±0,01	0,06±0,001*	0,04±0,01	0,06±0,001*
Толща коркового вещества	0,01±0,001	0,02±0,001****	0,02±0,001	0,02±0,001	0,04±0,001**	0,05±0,01**
Парамедуллярная область	0,06±0,001	0,05±0,001	0,07±0,01	0,06±0,001	0,05±0,001	0,08±0,001****



Таблица 28

Влияние водной нагрузки на содержание катехоламинов в ГЛК различных зон тимуса на фоне длительного приема  $Zn^{++}$ , N=10, n=10, M±m

Структуры	Тимус контрольных крыс	Тимус крыс внутреннего контроля	1 час	2 час	3 час	4 час
Строма						
Субсептальная область	0,012±0,001	0,011±0,001	0,017±0,002*	0,011±0,001	0,018±0,002*	0,017±0,001*
Толща коркового вещества	0,01±0,0001	0,01±0,001	0,013±0,001	0,011±0,002	0,021±0,002****	0,013±0,001
Парамедуллярная область	0,012±0,001	0,011±0,001	0,011±0,001	0,014±0,001	0,019±0,001*	0,018±0,002*
Медуллярная область	0,01±0,0001	0,009±0,0001* <sup>И</sup>	0,007±0,001**	0,01±0,001	0,014±0,001***	0,013±0,001***
Септа	0,008±0,001	0,003±0,0001** <sup>И</sup>	0,004±0,0001	0,003±0,0001	0,005±0,0001**	0,005±0,0001**
гранулярные люминесцирующие клетки						
Субсептальная область	0,03±0,001	0,01±0,001* <sup>И</sup>	0,03±0,001**	0,02±0,001	0,04±0,01	0,03±0,001
Толща коркового вещества	0,01±0,001	0,01±0,001	0,02±0,001	0,02±0,001	0,03±0,001****	0,02±0,001
Парамедуллярная область	0,03±0,01	0,03±0,001	0,05±0,01*	0,04±0,001	0,04±0,001	0,03±0,001

Таблица 29

Влияние водной нагрузки на содержание серотонина в ГЛК различных зон тимуса на фоне длительного приема  $Zn^{++}$ , N=10, n=10, M±m

Структуры	Тимус контрольных крыс	Тимус крыс внутреннего контроля	1 час	2 час	3 час	4 час
Строма						
Субсептальная область	0,03±0,006	0,03±0,003	0,053±0,006**	0,041±0,004	0,067±0,008****	0,051±0,002****
Толща коркового вещества	0,03±0,002	0,033±0,003	0,041±0,002*	0,039±0,006	0,067±0,006**** <sup>К</sup>	0,038±0,003
Парамедуллярная область	0,04±0,008	0,044±0,003	0,04±0,004	0,046±0,003	0,069±0,004****	0,047±0,006
Медуллярная область	0,03±0,001	0,026±0,002* <sup>И</sup>	0,022±0,003	0,028±0,002	0,051±0,004****	0,03±0,004
Септа	0,02±0,003	0,007±0,001**** <sup>И</sup>	0,009±0,001****	0,008±0,001****	0,013±0,001****	0,011±0,001****
гранулярные люминесцирующие клетки						
Субсептальная область	0,11±0,01	0,05±0,01** <sup>И</sup>	0,09±0,01**	0,07±0,02	0,1±0,01**	0,09±0,001**
Толща коркового вещества	0,03±0,001	0,06±0,001** <sup>И</sup>	0,06±0,001	0,06±0,01	0,09±0,01***	0,05±0,001
Парамедуллярная область	0,13±0,02	0,09±0,01	0,07±0,01*	0,017±0,02*	0,015±0,01*	0,1±0,02

Подобно гистамину, содержание катехоламинов и серотонина в ГЛК и их ближайшем клеточном окружении меняется однонаправлено под влиянием нагрузки цинком или водой. Но факт уменьшения уровня катехоламинов в мозговом веществе и септах тимуса, вызванный длительным потреблением избытка цинка, является трудно объяснимым. Возможно, это следствие антагонизма между цинком и медью, наблюдаемое, например, у пациентов с болезнью Вильсона-Коновалова, у которых обнаруживается положительная клиническая динамика при лечении сульфатом цинка [280]. Как упоминалось выше,  $Zn^{++}$  является обязательным компонентом 5-НТ<sub>3</sub> рецептора [212], поэтому изменение количества цинка в организме может быть причиной изменения аффинитета 5-НТ<sub>3</sub> рецептора. Например, гиперчувствительность рецептора сопровождается, как правило, уменьшением синтеза соответствующего трансмиттера. Водная нагрузка является причиной увеличения количества, как катехоламинов, так и серотонина в тимусной дольке. Но если уровень катехоламинов достоверно увеличивается только к третьему часу эксперимента, то уровень серотонина увеличивается с первого часа наблюдения. Как следует из наших данных изучения реакции серотонина на различные нагрузки функциональных систем крыс, серотонин, вероятно, более активный положительный защитник тканей (актопротектор) чем это полагали ранее.

Исходя из результатов проведенного исследования, можно сделать вывод, что цинк влияет на уровень исследованных трансмиттеров тимуса и их реакцию на водную нагрузку, и массу тимуса.

#### **4.7. Реакция экстранейрональных катехоламинов и серотонина миокарда на гиперсимпатикотонию**

При постановке экспериментов с гиперкатехоламинемией нами было обращено внимание на значительное увеличение суточного потребления воды крысами, без существенного увеличения массы тела и даже наличия тенденции к снижению. Это сопровождалось увеличением дозы мезатона с потребляемой водой (Рис. 12 и Рис. 13). И только в последние двое суток эксперимента у подопытных крыс наблюдались отеки по типу анасарки. Вероятно, этот эффект мог быть связан с увеличением высвобождения натрийуретического фактора, вызванного активацией  $\alpha$ -адренергических систем, которую наблюдали при острой инфузии норадреналина уткам [217].

В предсердиях контрольных крыс содержание катехоламинов в субэпикардиальной области было выше, чем в субэндокардиальной в среднем на 48% ( $p < 0,05$ ) (табл. 30). Продолжающееся введение катехоламинов к концу второй недели снижало их количество в субэндокардиальной области предсердий в 2 раза ( $p < 0,05$ ) и в субэпикардиальной области левого желудочка на 93% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. В субэндокардиальной области правого желудочка наблюдался рост на 55% ( $p < 0,01$ ). Тогда как по сравнению с подопытными крысами первой недели практически во всех отделах наблюдалось увеличение люминесценции. В третью неделю люминесценция катехоламинов в предсердиях была сопоставима с интактным уровнем, а в межжелудочковой перегородке, субэпикардиальных областях обоих желудочков и субэндокардиальной области левого желудочка – снижена на 286-486% ( $p < 0,001$ ). В субэндокардиальной области правого желудочка снижение статистически не достоверно вследствие большого разброса вариационного ряда. К окончанию эксперимента

люминесценция катехоламинов сопоставима с интактным уровнем во всех областях кроме субэндокардиальной области левого желудочка и межжелудочковой перегородки, где люминесценция оставалась сниженной ( $p < 0,05$ ) (табл. 30).

У интактных крыс первой и третьей недель эксперимента величина люминесценции серотонина достоверно выше в субэпикардиальной области левого желудочка, чем в субэндокардиальной ( $p < 0,05$ ) (табл. 31). Гиперсимпатикотония снижала люминесценцию серотонина в стенках предсердий к концу 1-й недели на 51% ( $p < 0,05$ ) и 273% ( $p < 0,001$ ) соответственно в субэпи- и субэндокардиальной областях. Аналогичная по величине и направленности реакция наблюдалась в желудочках и межжелудочковой перегородке. Со второй недели наблюдается рост люминесценции серотонина, который сохраняется до окончания эксперимента.

Не смотря на то, что динамика изменений катехоламинов и серотонина выглядит аутентично, исследование Is выявляет другую картину. Снизившись в первую неделю, до второй недели Is, по сравнению с контролем не меняется, и не различается в предсердиях и желудочках. Поскольку наблюдался продолжающийся рост уровня серотонина, к концу третьей недели серотониновый индекс вырос в 1,5 и более раз (табл. 31).

Из полученных данных следует, что распределение ацетилхолина и катехоламинов в интактном миокарде неоднородно. Ацетилхолина в 1,5-2 раза больше в субэпикардиальной области, чем в субэндокардиальной, максимальное содержание обнаруживается в перегородке предсердий. Распределение катехоламинов и серотонина противоположно, их в 2 раза больше в субэндокардиальной области левого желудочка, чем в субэпикардиальной. В правых отделах различия выражены менее.

В ответ на длительное введение катехоламинов мы получили уменьшение содержания ацетилхолина в тканях миокарда, особенно выраженное в предсердиях. Этот результат парадоксален, поскольку в свете устоявшегося мнения, что симпатика и парасимпатика – антагонистичные системы, ожидаемо увеличение содержания ацетилхолина в ответ на гиперкатехоламинемию, как компенсаторной реакции. Для сопоставления, уровень ацетилхолина плазмы у детей с хроническим аритмиями составлял 0,09-0,1 мкг/мл и не менялся во время пароксизма тахикардии или аритмии [97]. В другом исследовании изучалось острое введение крысам адреналина в дозе 0,1 мг/100 г, которое вызывало увеличение содержания ацетилхолина в сердце на 43% ( $p < 0,01$ ), по сравнению с интактными животными. Активность холинэстеразы при этом снижалась на 65% ( $p < 0,001$ ). В дозе 0,3 мг/100 г адреналин уже уменьшал содержание ацетилхолина в тканях на 2-е сутки наблюдения на 26% ( $p < 0,05$ ) и активность ацетилхолинэстеразы на 22% ( $p < 0,001$ ). На 5-е сутки активность ацетилхолинэстеразы возрастала на 16% ( $p < 0,001$ ), а к двадцатому дню вновь снижалась на 20% ( $p < 0,01$ ) [109]. Не смотря на то, что первичная реакция на введение адреналина в этом исследовании сопровождалась увеличением уровня ацетилхолина, его результаты хорошо корреспондируют с нашими данными. Аналогичное наблюдение независимо от нас сделано Казанской школой физиологов. В ответ на физическую нагрузку (предельное плавание) в тканях миокарда происходит накопление норадреналина, а содержание ацетилхолина уменьшается [90]. Поэтому, несмотря на новизну нашего метода исследования ацетилхолина в тканях и отсутствие прецедентов, мы считаем свои данные достаточно убедительными. Биологическая целесообразность такой реакции неясна и, вероятно, уменьшение уровня ацетилхолина в миокарде в ответ на гиперкатехоламинемию

является не компенсаторной, а патогенетической реакцией. С другой стороны, и ацетилхолин и адреналин для миокарда являются вазодилататорами и поэтому уменьшение уровня ацетилхолина, как реакция, направленная на восстановление микроциркуляции в миокарде, оправдано. Возможно, что это генетически детерминированная реакция, так введение морфина собакам в течение двух недель вызывало увеличение плотности мускариновых рецепторов миокарда в правом предсердии на 17% и левом желудочке на 34% и, кроме того, увеличение количества G-белка на 115% и 223% соответственно. Активация холинергических систем сопровождалась уменьшением содержания норадреналина в желудочках, но не в предсердиях [268].

С другой стороны, с точки зрения идей о функциональной неоднородности сократительного миокарда, максимально эффективная работа сердца по перекачиванию крови обеспечивается различиями возбудимости отдельных частей и миофибрилл миокарда [39, 67]. Это обеспечивается тем, что функционально кардиомиоциты неоднородны: в эндокардиальной области – медленные, а в эпикардиальной – быстрые [39]. По этой причине, для обеспечения одновременности сокращения, миоциты эпикардиальной области необходимо притормаживать, а эндокардиальной – ускорять. Поскольку перегородка исполняет роль «якоря», на котором закреплен сократительный миокард, то она должна сокращаться медленнее и позже стенок желудочков, обеспечивая как бы выкачивание последней порции ударного объема. Тонкая настройка функционирования механической неоднородности миокарда в режиме реального масштаба времени осуществляется как физическими свойствами самих мышц, так и специальным механизмом управления сегментарной неоднородности стенок миокарда, о существовании которого пока есть только косвенные данные [39, 67].

При предъявлении быстрых чрезмерных нагрузок и нервная система, и надпочечник достаточно быстро истощаются. Так, например, при большой физической нагрузке высвобождение катехоламинов надпочечником, обеспечивающее работу миокарда в этих условиях, приводит к быстрому истощению запасов катехоламинов в надпочечнике, а дополнительный синтез катехоламинов не обеспечивает потребностей организма [1, 2]. Таким образом, по крайней мере, для обеспечения симпатической регуляции в условиях повышенной нагрузки, требуется дополнительный источник катехоламинов, кроме нейронального и надпочечникового происхождения. Поэтому кардиомиоцит может быть третьим источником синтеза катехоламинов и серотонина для обеспечения собственной работы.

Из наших и процитированных данных следует, что отношения холинергической и симпатической регуляции контрактильности миокарда синергичны. К аналогичному выводу пришли и другие исследователи, расценивающие взаимодействие холинергической и симпатической систем, по крайней мере, в отношении миокарда, как взаимокompенсацию, задача которой – защитить сердце от перегрузок [90]. Аналогичные результаты получены при исследовании активности ацетилхолинэстеразы почек после введения норадреналина, адреналина, мезатона и серотонина кошкам, это сопровождалось увеличением активности ацетилхолинэстеразы [78]. Таким образом, от представлений о физиологическом антагонизме холинергических и симпатических регуляторных систем, по-видимому, пора переходить к идее о функциональном синергизме этих систем. То есть, противопоставление отдельных элементов функционального единства некорректно.

Таблица 30

Влияние гиперсимпатикотонии на уровень катехоламинов в предсердиях и желудочках, N=24, n=30

		Недели			
		1	2	3	4
		контр/опыт	контр/опыт	контр/опыт	контр/опыт
Предсердия	Субэпикардальная область	$\frac{0,04 \pm 0,005}{0,033 \pm 0,002}$	$\frac{0,038 \pm 0,004}{0,044 \pm 0,005}$	$\frac{0,045 \pm 0,006}{0,053 \pm 0,01}$	$\frac{0,042 \pm 0,007}{0,032 \pm 0,003}$
	Субэндокардиальная область	$\frac{0,027 \pm 0,003}{0,011 \pm 0,001^{***}}$	$\frac{0,038 \pm 0,004}{0,019 \pm 0,005^{*/\circ\circ\circ}}$	$\frac{0,028 \pm 0,003}{0,033 \pm 0,006^{\circ\circ\circ}}$	$\frac{0,031 \pm 0,003}{0,037 \pm 0,001^{\circ\circ\circ}}$
	перегородка	$\frac{0,03 \pm 0,003}{0,03 \pm 0,002}$	$\frac{0,026 \pm 0,002}{0,048 \pm 0,001^{\circ\circ\circ}}$	$\frac{0,028 \pm 0,008}{0,037 \pm 0,005}$	$\frac{0,039 \pm 0,008}{0,037 \pm 0,002^{\circ\circ}}$
Желудочки	левый субэпикардальная область	$\frac{0,076 \pm 0,015}{0,019 \pm 0,001^{**}}$	$\frac{0,083 \pm 0,016}{0,043 \pm 0,004^{*/\circ\circ\circ}}$	$\frac{0,082 \pm 0,013}{0,036 \pm 0,005^{**/\circ\circ}}$	$\frac{0,096 \pm 0,017}{0,049 \pm 0,003^{*/\circ\circ\circ}}$
	левый субэндокардиальная область	$\frac{0,066 \pm 0,015}{0,013 \pm 0,001^{**}}$	$\frac{0,062 \pm 0,016}{0,059 \pm 0,007^{\circ\circ\circ}}$	$\frac{0,085 \pm 0,024}{0,015 \pm 0,001^*}$	$\frac{0,079 \pm 0,021}{0,037 \pm 0,003^{\circ\circ\circ}}$
	правый субэпикардальная область	$\frac{0,044 \pm 0,008}{0,031 \pm 0,002}$	$\frac{0,042 \pm 0,008}{0,034 \pm 0,003}$	$\frac{0,064 \pm 0,01}{0,033 \pm 0,006^*}$	$\frac{0,058 \pm 0,008}{0,058 \pm 0,004^{\circ\circ\circ}}$
	правый субэндокардиальная область	$\frac{0,038 \pm 0,008}{0,017 \pm 0,002^*}$	$\frac{0,036 \pm 0,006}{0,056 \pm 0,005^{**/\circ\circ\circ}}$	$\frac{0,044 \pm 0,009}{0,027 \pm 0,014}$	$\frac{0,044 \pm 0,008}{0,035 \pm 0,001^{\circ\circ\circ}}$
	перегородка	$\frac{0,045 \pm 0,007}{0,031 \pm 0,002}$	$\frac{0,036 \pm 0,006}{0,043 \pm 0,006}$	$\frac{0,058 \pm 0,009}{0,015 \pm 0,001^{***/\circ\circ\circ}}$	$\frac{0,054 \pm 0,007}{0,033 \pm 0,001^*}$

Таблица 31

Влияние гиперсимпатикотонии на уровень серотонина в предсердиях и желудочках, N=24, n=30

		Недели			
		1	2	3	4
		контр/опыт	контр/опыт	контр/опыт	контр/опыт
Предсердия	Субэпикардальная область	$\frac{0,174 \pm 0,021}{0,115 \pm 0,011^*}$	$\frac{0,2 \pm 0,041}{0,148 \pm 0,016}$	$\frac{0,194 \pm 0,03}{0,192 \pm 0,034^\circ}$	$\frac{0,173 \pm 0,025}{0,121 \pm 0,008}$
	Субэндокардиальная область	$\frac{0,112 \pm 0,014}{0,03 \pm 0,001^{***}}$	$\frac{0,2 \pm 0,041}{0,07 \pm 0,006^{**/\circ \circ \circ}}$	$\frac{0,121 \pm 0,03}{0,16 \pm 0,023^\circ \circ \circ}$	$\frac{0,121 \pm 0,013}{0,155 \pm 0,006^{*/\circ \circ \circ}}$
	перегородка	$\frac{0,12 \pm 0,019}{0,08 \pm 0,007}$	$\frac{0,111 \pm 0,013}{0,087 \pm 0,006}$	$\frac{0,121 \pm 0,02}{0,127 \pm 0,018}$	$\frac{0,125 \pm 0,021}{0,156 \pm 0,015^\circ \circ \circ}$
Желудочки	левый субэпикардальная область	$\frac{0,324 \pm 0,068}{0,048 \pm 0,002^{**}}$	$\frac{0,267 \pm 0,057}{0,139 \pm 0,011^{*/\circ \circ \circ}}$	$\frac{0,398 \pm 0,079}{0,171 \pm 0,027^{*/\circ \circ \circ}}$	$\frac{0,381 \pm 0,075}{0,182 \pm 0,014^{*/\circ \circ \circ}}$
	левый субэндокардиальная область	$\frac{0,2 \pm 0,052}{0,037 \pm 0,002^{**}}$	$\frac{0,207 \pm 0,044}{0,218 \pm 0,026^\circ \circ \circ}$	$\frac{0,205 \pm 0,043}{0,059 \pm 0,005^{**/\circ \circ \circ}}$	$\frac{0,221 \pm 0,044}{0,116 \pm 0,007^{*/\circ \circ \circ}}$
	правый субэпикардальная область	$\frac{0,182 \pm 0,025}{0,076 \pm 0,005^{***}}$	$\frac{0,199 \pm 0,033}{0,07 \pm 0,004^{**}}$	$\frac{0,247 \pm 0,038}{0,165 \pm 0,024^\circ \circ}$	$\frac{0,246 \pm 0,031}{0,182 \pm 0,013^\circ \circ \circ}$
	правый субэндокардиальная область	$\frac{0,195 \pm 0,065}{0,053 \pm 0,004^*}$	$\frac{0,182 \pm 0,05}{0,106 \pm 0,01^\circ \circ \circ}$	$\frac{0,227 \pm 0,068}{0,053 \pm 0,006^{**}}$	$\frac{0,239 \pm 0,063}{0,134 \pm 0,011^\circ \circ \circ}$
	перегородка	$\frac{0,195 \pm 0,034}{0,087 \pm 0,003^{**}}$	$\frac{0,189 \pm 0,032}{0,164 \pm 0,027^\circ \circ \circ}$	$\frac{0,22 \pm 0,038}{0,138 \pm 0,016}$	$\frac{0,215 \pm 0,034}{0,115 \pm 0,009^{*/\circ \circ \circ}}$

Влияние гиперсимпатикотонии на величину серотонинового индекса Is  
в предсердиях и желудочках, N=24, n=30

		Недели			
		1	2	3	4
		контр/опыт	контр/опыт	контр/опыт	контр/опыт
Предсердия	Субэпикардальная область	$\frac{5,1 \pm 0,8}{3,5 \pm 0,2}$	$\frac{5,1 \pm 0,8}{3,7 \pm 0,3}$	$\frac{5,2 \pm 1,0}{11,6 \pm 3,1^\circ}$	$\frac{5,2 \pm 0,9}{4,0 \pm 0,4}$
	Субэндокардиальная область	$\frac{4,9 \pm 0,6}{2,9 \pm 0,2^{**}}$	$\frac{4,6 \pm 0,6}{3,7 \pm 0,3^\circ}$	$\frac{4,8 \pm 0,6}{13,1 \pm 2,9^{*/\circ\circ}}$	$\frac{4,3 \pm 0,6}{4,2 \pm 0,2^{\circ\circ\circ}}$
	перегородка	$\frac{4,5 \pm 0,5}{2,8 \pm 0,3^{**}}$	$\frac{4,5 \pm 0,7}{2,4 \pm 0,3^{**}}$	$\frac{3,2 \pm 0,5}{7,5 \pm 1,7^{*/\circ}}$	$\frac{4,7 \pm 0,8}{4,4 \pm 0,5^\circ}$
Желудочки	левый субэпикардальная область	$\frac{4,1 \pm 0,2}{2,7 \pm 0,2^{***}}$	$\frac{3,3 \pm 0,3}{3,4 \pm 0,2^{\circ\circ}}$	$\frac{4,0 \pm 0,4}{6,8 \pm 1,4^{**/\circ\circ\circ}}$	$\frac{3,9 \pm 0,3}{3,9 \pm 0,5^\circ}$
	левый субэндокардиальная область	$\frac{3,5 \pm 0,4}{3,1 \pm 0,2}$	$\frac{3,8 \pm 0,4}{4,0 \pm 0,4}$	$\frac{4,9 \pm 0,4}{4,4 \pm 0,5^\circ}$	$\frac{3,5 \pm 0,4}{3,3 \pm 0,4}$
	правый субэпикардальная область	$\frac{4,9 \pm 0,7}{2,8 \pm 0,3^*}$	$\frac{5,2 \pm 0,6}{2,4 \pm 0,3^{**}}$	$\frac{3,8 \pm 0,5}{8,9 \pm 3,0^{**/\circ\circ}}$	$\frac{4,5 \pm 0,4}{3,3 \pm 0,4^*}$
	правый субэндокардиальная область	$\frac{4,6 \pm 0,7}{3,5 \pm 0,4}$	$\frac{4,7 \pm 0,6}{2,4 \pm 0,4^{**}}$	$\frac{5,2 \pm 0,6}{11,6 \pm 0,7}$	$\frac{5,5 \pm 0,3}{3,9 \pm 0,4}$
	перегородка	$\frac{5,0 \pm 0,9}{3,2 \pm 0,4}$	$\frac{4,0 \pm 0,7}{3,6 \pm 0,3}$	$\frac{4,8 \pm 0,3}{13,1 \pm 0,5^{***/\circ\circ\circ}}$	$\frac{4,2 \pm 0,5}{3,5 \pm 0,3}$

Ранее работами Казанской школы физиологов было установлено, что панкреатэктомия вызывает двукратное тотальное уменьшение синтеза ацетилхолина в нервах и других тканях, но не в головном мозге, где наблюдается только 25% уменьшение, что было связано с вызванным панкреатэктомией нарушением липидного обмена и дефицитом липокаина [34, 45]. Их данные могут быть объяснены и по-другому. Поджелудочная железа является основным источником ацетилхолина плазмы и эритроцитов. В других тканях часть ацетилхолина может быть как синтезированной *in situ*, так и захваченной из крови. Поэтому уменьшение плазменного содержания ацетилхолина будет сопровождаться уменьшением захвата II в этих тканях. Поскольку через гематоэнцефалический барьер ацетилхолин не проникает, то его содержание в головном мозге в меньшей степени зависит от плазменного уровня ацетилхолина, который может быть одним из источников холина для головного мозга. В свете этих данных можно предположить, что в наших экспериментах индуцированная гиперсимпатикотония могла вызвать снижение уровня ацетилхолина в миокарде не только в результате прямого действия, но и опосредованно, через влияние на поджелудочную железу.

В нашем эксперименте гиперсимпатикотония к концу первой недели эксперимента индуцировала снижение уровня катехоламинов как в предсердиях, так и в желудочках. Тогда как в острых экспериментах норадреналин в дозе 1-4 мг/кг внутривенно через 10-15 мин после введения вызывал у кроликов увеличение содержания норадреналина в миокарде в 2-10 раз. Но внутрибрюшинное и внутримышечное введение норадреналина, адреналина или изадрина, аналогично нашему исследованию, уменьшало содержания норадреналина в сердце, аорте, желудке и печени в 3-5 раз по сравнению с интактными животными [32].

По данным других авторов, острое введение адреналина в нижнюю полую вену крысам в терапевтических дозах не меняло количества катехоламинов в миокарде, а увеличение дозы до 200 мкг/кг через 1 мин приводило к полному исчезновению катехоламинов в миокарде. Доза 120 мкг/кг увеличивала количество адреналина в миокарде от  $0,18 \pm 0,015$  до  $0,79 \pm 0,038$  мкг/г через 3 мин после введения. Близкие результаты были получены при подкожном введении дозы 500 мкг/кг, до двадцатой минуты эксперимента наблюдалось полное отсутствие адреналина, а после двадцатой – достоверное увеличение содержания катехоламинов [29]. Кроме того, экзогенный адреналин снижал количество норадреналина в сердце, но не менял содержания серотонина. Тогда как в наших экспериментах наблюдалось синхронное катехоламиновым уровням изменение количества серотонина в тканях миокарда. Этот результат можно сопоставить с данными об увеличении содержания серотонина в крови при аритмиях у детей. Так у здоровых детей оно составляет 0,08 мкг/мл, а при различных хронических аритмиях – 0,275-0,321 мкг/мл, при пароксизмах тахикардии – 0,353 мкг/мл, тогда как после приступа снижалось до 0,1 мкг/мл. Резерпин восстанавливал уровень серотонина до исходного, что у большинства детей, но не у всех, сопровождалось восстановлением ритма [97].

Интересно, что в нашем исследовании восстановление исходного уровня серотонина и катехоламинов в желудочках по времени совпадало с гипертрофией миокарда, а с уменьшением массы миокарда их уровень вновь снижался. По-видимому, этот факт является косвенным подтверждением синтеза катехоламинов и серотонина непосредственно в миокарде. В предсердиях изменения уровня серотонина происходило



больше в субэндокардиальной области, а в субэпикардиальной – наблюдался рост вплоть до третьей недели эксперимента.

Не менее интересным является обнаружение своего рода градиента тканевых концентраций катехоламинов и серотонина, убывающего в направлении от эпикарда к эндокарду в желудочках. С уменьшением их количества градиент исчезает в тканях желудочков, но не предсердий. Тогда как в предсердиях динамика противоположна: в интактном миокарде градиент минимален, а при гиперсимпатикотонии наблюдается резкое снижение количества катехоламинов и серотонина в эндокардиальной области. На наличие подобного градиента между периваскулярными и интерстициальными областями миокарда указано, например, в исследовании T.W. Lameris et al. [245], которые обнаружили, что в области венечных артерий тканевое содержание норадреналина составляет  $0,3 \pm 0,1$  нмоль/л, в интерстиции –  $0,9 \pm 0,1$  нмоль/л, а в коронарных венах –  $1,5 \pm 0,3$  нмоль/л. Локальное подавление обратного нейронального захвата дезипраминол вызывало увеличение содержания норадреналина в интерстиции до  $6,5 \pm 0,9$  нмоль/л. С нашей точки зрения, эти данные прямо свидетельствуют, что в миокарде имеет место экстранейрональный синтез норадреналина, который удаляется из интерстиция миокарда как в венозную систему, так и с помощью нейронального захвата. Тогда как авторы причиной наличия градиента считают эндотелиальный барьер.

Если бы миокард получал медиаторный контроль своих функций исключительно через кардиальные нервы, то ни о какой трансплантации миокарда не могло бы быть и речи. Денервированный донорский миокард не только функционирует, но и адекватно адаптируется к меняющимся нагрузкам, что позволяет предполагать наличие внутрисердечной медиаторной ауторегуляции, природа которой до сих пор неясна [287].

Как процитированные работы, так и собственные данные хорошо корреспондируют с современными представлениями о катехоламинергических регуляторных процессах. Так катехоламины перемещаются через плазменные мембраны транспортерами, принадлежащими к двум большим семействам: нейрональным и тканевым (экстранейрональным). У млекопитающих к группе нейрональных транспортеров катехоламинов относят транспортер дофамина в дофаминергических нейронах и транспортер норадреналина в норадренергических нейронах. В тканях перенос катехоламинов осуществляется органическими катионными транспортерами, в частности классическим кортикостерончувствительным экстранейрональным транспортером моноаминов. Катехоламинергические транспортеры функционируют как часть системы захвата и метаболизма, прежде всего ответственной за инактивацию медиатора, высвобожденного нейронами. Кроме того, нейрональные транспортеры катехоламинов, обеспечивают повторное использование катехоламинов, таким образом сокращая затраты на синтез медиатора. В более широком смысле, транспортеры катехоламинов функционируют как часть объединенных систем, в которых синтез катехоламинов, высвобождение, захват и метаболизм регулируются скоординированным способом в ответ на требования, предъявленные к функциональной системе.

Нейрональные транспортеры необходимы для быстрого прекращения нейрональной передачи, тогда как тканевые транспортеры катехоламинов необходимы для ограничения распространения сигнала и очищения системы кровообращения от катехоламинов. Кроме пресинаптического расположения, нейрональные и экстранейро-

нальные транспортеры катехоламинов также обнаруживаются экстранейронально, в том числе в неиннервированных органах и клетках: синцитиотрофобласте плаценты, эндотелиальных клетках легкого и поджелудочной железы, ворсинках кишечника. Экстранейрональный транспортер моноаминов широко распространен в тканях, тогда как два других экстранейрональных транспортера катехоламина ОСТ1 и ОСТ2 в основном обнаруживаются в печени, почках и кишечнике [177], а ОСТ3 – в сердце и трофобласте плаценты [338]. Нарушение функций периферийных транспортеров катехоламина может быть вовлечено в нарушение работы автономной нервной системы, например при застойной сердечной недостаточности и гипернорадренергической гипертензии [177]. Обнаруживаемый градиент катехоламинов в миокарде, видимо, обусловлен деятельностью этих транспортных систем.

Не менее интересно исследование динамики серотонинового индекса, который не менялся вплоть до развития сердечной декомпенсации к концу третьей недели, что зарегистрировано по резкому увеличению суточного потребления воды, появлению анасарки к окончанию эксперимента и уменьшению массы миокарда. С нарастанием декомпенсации, когда у крыс появились отеки,  $I_s$  возвратился к исходному уровню. Примечательно, что, не смотря на значительные различия динамики паттерна катехоламинов и серотонина в предсердиях и желудочках,  $I_s$  в них менялся аутентично и  $r=0,99$  ( $p<0,01$ ). Возможно, что наблюдавшиеся нами изменения вариабельности содержания транскмиттеров могут быть причиной изменения вариабельности ритма, которая наблюдается у больных с гипертрофией миокарда.

Динамика  $I_s$  полностью совпадает с динамикой уровня гистамина в желудочках,  $r=0,99$  ( $p<0,01$ ). Тогда как в предсердиях количество гистамина было резко снижено в период гипертрофии миокарда, а к моменту декомпенсации – резко возросло и оставалось высоким до конца эксперимента. Этот результат может свидетельствовать об участии гистамина в патогенезе поражений миокарда, вызванных гормонально-медиаторным дисбалансом. Роль этого амина в патогенезе поражений миокарда современными теориями не рассматривается.

Судя по наблюдавшимся нами изменениям суточного потребления воды, динамики массы миокарда и экстранейронального уровня исследованных транскмиттеров, выбранный дозовый режим катехоламинов оказался адекватным поставленной задаче – вызвать состояние гиперсимпатикотонии с развитием гипертрофии миокарда и сердечной недостаточности, как это наблюдается при естественном течении симпатoadреналового типа гипертонической болезни. Такой патогенез хронической сердечной недостаточности, предполагающий дисбаланс между вазоконстрикторными и вазодилатирующими нейрогуморальными системами, в настоящее время является общепризнанным [60]. Процитированные нами экспериментальные данные о роли гиперсимпатикотонии в патогенезе повреждения миокарда достаточно противоречивы, что связано с различиями дизайна этих экспериментов. Исходя из полученных данных, можно сделать следующие предварительные выводы:

1. Экспериментальная симпатoadреналовая гиперактивация вызывает фазовые изменения экстранейронального количества ацетилхолина, гистамина, катехоламинов и серотонина, совпадающие по времени с основными этапами патогенетических изменений миокарда – гипертрофия с последующей декомпенсацией;

2. Наряду с катехоламинами, серотонином и ацетилхолином, гистамин принимает участие в развитии декомпенсации при гиперсимпатикотонии.

\* \* \*

Представленные данные свидетельствуют, что в корковом веществе почек и тимуса осуществляется экстранейрональный синтез ацетилхолина, который участвует как в регуляции тонуса сосудов почечного клубочка, так и в реализации транспортных функций канальцевого аппарата почки. Из полученных нами данных следует, что локальное распределение изученных трансммиттеров в органах неоднородно, максимальное содержание обнаруживается в функционально активных областях. Гомеостатические изменения влияют на локальное содержание трансммиттеров в соматических клетках. Динамика ответа определяется типом тканей, а не видом воздействия. В целом контроль тканевого содержания трансммиттеров мультивариантен и определяется клеточной потребностью. Этот тканевой пул трансммиттеров является дополнительной регуляторной системой.

Вероятно, что эта система сформировалась еще на начальных этапах развития живых существ. Как это доказано Г.А. Бузниковым (1967, 1987), в донервную фазу в клетках существовал пул трансммиттеров, участвовавших в реализации клеточного ответа на меняющиеся условия среды. Эволюционно часть этих клеток (эпителиального происхождения) специализировалась в новую систему – нервную. В этой системе те же самые трансммиттеры продолжили выполнять ту же функцию, что и в донервной фазе развития.

Для чего необходима почечная экстранейрональная холинергическая регуляторная система? Возможно, что она сформировалась еще задолго до формирования нервной регуляции почечной функции. С одной стороны – ацетилхолин филогенетически является наиболее древним регулятором межклеточных взаимоотношений в безнервных тканях и в донервный период развития [15]. С другой стороны, наиболее древние позвоночные, у которых уже встречается почка, содержащая гломерулы, это миксины [73] – круглоротые рыбы, с крайне примитивной нервной системой, более близкие к червям, чем к рыбам [14]. При этом даже у высокоорганизованных животных в почке холинергические нервы мало-распространены и встречаются, в основном, по ходу крупных артерий, вплоть до междольковых. Даже у собак и в почках плодов человека холинергические волокна возле эфферентных артериол и в перитубулярной области наблюдаются очень редко [95, 114]. Кроме того, обнаружены холинергические внутрипочечные нервы, то есть – не имеющие связей с *plexus renalis*, иннервирующие канальцы и прилежащие сосуды [131].

Согласно расчетам С. Тучека [99] содержание ацетилхолина в нейронах 360 нмоль/г, а в крови – от 0,3-3,5 мкг%, [115] до 86,6±5,5 мкг/мл, то есть ацетилхолина в нейронах может быть в 16,5 раз меньше, чем в крови. С. Тучек прямо указывает, что в области терминальной пластинки содержание ацетилхолина максимальное [99]. Такие же данные, в отношении, как ацетилхолина, так и катехоламинов, приводят Л. Н. Зефилов и соавт., которые указывают что, чем менее иннервирован орган, тем больше в нем содержится экстранейронального медиатора, например в плаценте, ацетилхолина 100 мкг/г [34]. Принимая во внимание эти данные, наблюдавшиеся нами количественные изменения уровня трансммиттеров от 50 до 200% исходного уровня, поддерживаемые в течение 2-3 часов, нельзя объяснить изменением нейронального высвобождения ацетилхолина и катехоламинов. Поэтому приходится признать, что мы наблюдали изменение содержания экстранейронального пула трансммиттеров, но

полностью отрицать, что нейрональный пул не принимал участия в ответе на примененные нами воздействия также нельзя.

Различия тканевых концентраций ацетилхолина, катехоламинов и серотонина в миокарде, вероятно, обусловлены необходимостью притормаживать субэпикардальные кардиомиоциты и стимулировать субэндокардиальные для обеспечения их одновременного сокращения и усиления эффективности сокращения сердца. Необходимость такой регуляции показана, например, в модельных экспериментах на разных типах кардиомиоцитов [39, 67]

Из полученных нами данных следует, что локальное распределение изученных транмиттеров в органах неоднородно, максимальное содержание обнаруживается в функционально активных областях. Гомеостатические изменения влияют на локальное содержание транмиттеров в соматических клетках. Динамика ответа определяется в основном типом тканей, а не видом воздействия. Вне зависимости от направленности количественных изменений содержания транмиттеров, индуцированных применявшимися нагрузками, очевидно их кооперативное участие в формировании интегрального ответа органа на меняющиеся условия гомеостаза. В целом контроль тканевого содержания транмиттеров мультивариантен и определяется клеточной потребностью.

Проведенный анализ литературных и собственных данных позволяет сделать ряд практических рекомендаций:

- ✓ при разработке новых лекарственных препаратов сердечно-сосудистого действия следует учитывать, что в патогенезе формирования сердечной недостаточности принимают участие гистамин и серотонин;
- ✓ при разработке и внедрении новых селективных агонистов или антагонистов транмиттерных систем, следует учитывать, что изменение активности одной медиаторной системы вызывает изменения статуса остальных. В результате клинический эффект может быть не прямым, а опосредованным, что вносит путаницу в трактовку механизмов действия и формирование показаний и противопоказаний;
- ✓ необходима коррекция СанПиН на предельно допустимые концентрации меди и цинка в питьевой воде;
- ✓ требуется дополнительная проверка адекватности доз ионизированного цинка, предлагаемых в аннотациях на лекарственные вещества и в справочной литературе;
- ✓ в связи с тем, что медиаторные эффекты микроэлементов изучены недостаточно, необходим жесткий контроль допуска на рынок БАД, содержащих микроэлементы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абзалов Р.А. Взаимодействие функциональных систем организма при мышечной деятельности // Третья всероссийская с международным участием школа-конф. по физиол. кро-вообр. – М.: МГУ. 2004. – С. 3-4.
2. Абзалов Р.А. Регуляция функций сердца неполовозрелого организма при различных двигательных режимах: Автореф. дис...д.м.н. – Казань, 1987. 28с.
3. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека. – М.: М, 1991. – 496с.
4. Агроскин Л.С., Папаян Г.В. Цитофотометрия. – Л.: Наука, 1977. – 295с.
5. Ажялис В.П., Стропус Р.С., Тамашаускас К.А. Применение алюминия-формальдегида для выявления катехоламинов в криостатных срезах // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1981, N3. – С. 102-106.
6. Альперн Д.Е. Холинергические процессы в патологии. – Москва, 1963. 280 с.
7. Аникин Г.Д. О механизме прямого влияния на почку некоторых биологически активных веществ: Автореф. дис. ... д.м.н. Барнаул; Чебоксары, 1971, 28с.
8. Беляева З.В. Вопросы физиологии и морфологии центральной нервной системы. – М.:М, 1953.
9. Бергольц В.М. Люминесцентная микроскопия. – М.: Медгиз, 1953. – 136с.
10. Берн Г. Функция химических передатчиков вегетативной нервной системы. – М., Изд. иностр. лит. – 1961.
11. Берхин Е.Б. Фармакология почек и ее физиологические основы. – М.: М., 1979. – 336с.
12. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. Методы экспериментального исследования почек и водносолевого обмена. – Барнаул: Алтайское кн. Изд-во, 1972. – 199с.
13. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов М.: Мир, 1986. – 442с.
14. Брэм А. Жизнь животных. – М.: ЭКСМО. 2002. 960с.
15. Бузников Г.А. Нейротрансмиттеры в эмбриогенезе. – М.: Наука. 1987.
16. Бузников Г.А. Низкомолекулярные регуляторы эмбрионального развития. – М.: Наука. 1967.
17. Вайсфельд И.Л., Кассиль Г.Н. Гистамин в биохимии и физиологии. – М.: Наука, 1981. – 280с.
18. Валеева Х.Г. К морфологии нервного аппарата почки млекопитающих. Труды Казанск. мед. Ин-та. – 1966. – Т. 18. – С. 67-74.
19. Винницкая К.Б. Определение содержания суммарных и связанных форм ацетилхолина в крови. // Лаборат. дело. – 1972, N2. – С. 89-90.
20. Винницкая К.Б., Большакова Т.Д. Методы определения ацетилхолина. // Вопр. мед. химии. – 1985. – Т. 31. – вып. 1. – С. 136-142.
21. Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов I-IV группы: Справ. изд. / А.Л. Бандман, Г.А. Гудзовский, Л.С. Дубейковская и др.; Под ред. проф. В.А. Филова и др. Л.: Химия. 1988. 512 с.
22. Гинецинский А.Г. Физиологические механизмы водно-солевого равновесия. – М., Л.: Наука. – 1964.
23. Говырин В.А. Трофическая функция симпатических нервов сердца и скелетных мышц. – Л.: Наука. – 1967. 132с.
24. Голиков П.П. Рецепторные механизмы глюкокортикоидного эффекта. – М.:М, 1988. – 285с.
25. Голиков С.Н., Долго-Сабуров В.Б., Елаев Н.Р., Кулешов В.И. Холинергическая регуляция биохимических систем клетки. – М.: М., 1985. – 224с.
26. Гордон Д.С., Сергеева В.Е., Зеленова И.Г. Нейромедиаторы лимфоидных органов. – Л.: Наука. 1982. – 128 с.

27. Громова Е.А. Серотонин и его роль в организме. – М.: М., 1966. 264с.
28. Гуревич К.Г. Нарушение обмена микроэлементов // Вопр. биол. мед. и фармацевт. хим. 2002, №2. – С. 7-14.
29. Данилов И.Н. Влияние веществ, изменяющих обмен биогенных моноаминов, на катехоламины и серотонин в тканях животного организма. – Автореф...дисс. к.м.н. Харьков. – 1972. – 24с.
30. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. – М.: Мир, 1968. – 816с.
31. Дискуссия о химическом методе определения ацетилхолина. // Лаборат. дело. – 1972, N2. – С. 80-81.
32. Заводская И.С., Морева Е.В., Заскалько Н.И., Бульон В.В. Влияние катехоламинов на содержание норадреналина в тканях // Фармакол. и токсикол. 1975. Т. 38. №1. С. 44-45.
33. Западнюк И.П., Захария Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте. – Киев, 1983. – 284 С.
34. Зефиоров Л.Н., Рахманкулова Г.М. Медиаторы. Обмен, физиологическая роль и фармакология. – Казань: Казан. ун-т, 1975. – 185с.
35. Зуга М.В., Невзорова В.А., Баранов В.Ф., Гельцер Б.И. Активность НАДФ-диафоразы эпителия бронхов и их подвижность при ингаляции ацетилхолина // Пульмонология. – 1997а. N 3. С. 32-39
36. Зуга М.В., Невзорова В.А., Гарцман Т.Ю., Гельцер Б.И. Активность НАДФ-диафоразы и состояние тучных клеток бронхов при вагусной деафферентации легкого крысы // Пульмонология. – 1997б. N 3. С. 39-46
37. Иванова Л.Н. Регуляция почкой кислотно-основного состояния организма //В кн.: Физиология водно-солевого обмена и почки / Под ред. акад. Ю.В. Наточина, СПб., Наука, 1993. С. 417-446.
38. Ивашкин В.Т., Минаян Г.Я., Уголев А.М. Теория функциональных блоков и проблемы клинической медицины. – Л., Наука, 1990. – 303с.
39. Изаков В.Я., Иткин Г.П., Мархасин В.С. и соавт. Биомеханика сердечной мышцы. М.: Наука, 1981. – 328с.
40. Карлберг К. EXCEL 5 для Windows в вопросах и ответах. – ВHV-Санкт-Петербург, С. Пб, 1995. – 416с.
41. Карнаухов В.Н. Биологические функции каротиноидов. – М.: Наука, 1988. – 241с.
42. Карнаухов В.Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки. – М.: Наука, 1978. – 208с.
43. Карупу В.Я. К вопросу об иннервации почек // Физиол. журн. АН УССР. – 1963, №6. – С. 795-799.
44. Кассиль Г.Н., Вайсфельд И.Л. Обмен гистамина при некоторых формах нервной патологии // Патол. физиол. и эксперим. Терапия. – 1959. – Т. 3,с. 16.
45. Кибяков А.В. Химическая передача нервного возбуждения / Кибяков А.В.; АН СССР. Объед. науч. совет. «Физиол. человека и животных». – М.: Наука, 1964. – 208с.
46. Козлов В.А. Ренальные эффекты дофамина и дофаминергических препаратов. Автореф. дисс.... к.м.н. Чебоксары, 1990. – 24 с.
47. Козлов В.А., Уфукова А.Ю., Толмачев А.С. Патент N 2159433, приоритет 27 октября 1999, Способ определения ацетилхолина.
48. Козлов В.А., Маринова К.П., Захарова В.В. Биоаминный статус почки при ацидозе и алкалозе // Нефрология. – 2001. Т. 5, N 3. – С. 102
49. Козлов В.А., Уфукова А.Ю., Толмачев А.С. Влияние фамотидина на активность некоторых почечных дегидрогеназ при водной нагрузке // Нефрология. – 2001. – Т. 5, N 3. – С. 103
50. Козлов В.А., Глазырина О.С., Толмачева А.Ю. Содержание некоторых медиаторов в интактных почках крыс. Нефрология и диализ. 2003. Т. 5, № 3. С. 104.

51. Козлов В.А., Глазырина О.С., Толмачева А.Ю. Водная депривация влияет на экстранейрональный медиаторный пул почек белых крыс и почечную популяцию тучных клеток // Нефрология. 2003. Т. 7. N 2. С. 76-81.
52. Козлов В.А., Глазырина О.С. Влияние хронического водного потребления молибдена на трансмиссивный статус почек крыс // Вестн. Оренбургского гос. университета. Прил. «Биоэлементология». 2004. № 4. С. 47-48.
53. Кривой И.И., Кулешов В.И., Матюшкин Д.П. Нервно-мышечный синапс и антихолинэстеразные вещества / Л. Изд-во Ленингр. ун-та. 1987. 240 с.
54. Кришталь Н.В. Адренергическая и дофаминергическая регуляция кислотывыделительной функции почек // Физиол. ж. – 1992. – Т. 38, N 2. – С. 63-68.
55. Крохина Е.М., Александров П.Н. Симпатический (адренергический) компонент эффекторной иннервации сердечной мышцы // Кардиология. – 1969. N 3. – С. 97-102.
56. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Молекулярные механизмы действия гормонов I. Рецепторы. Нейромедиаторы. Системы со вторыми посредниками // Биохимия. – 2005. – Т. 70. № 1. С. 33-50.
57. Леви М.Н., Мартин П.Ю. Нейрогуморальная работа сердца / В кн.: Физиология и патофизиология сердца. Т. 2: Пер. с англ. / Под ред. Н. Сперелакиса. – М., М.: 1990. – 624с.
58. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М.: Мир, 1969. – 648с.
59. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. – М.: Мир, 1982. – 272с.
60. Лопатин Ю.М. Симпато-адреналовая система при сердечной недостаточности: роль в патогенезе и возможности коррекции // Ж. сердечная недостаточность. 2003. Т. 4. №2(18). С.105-106.
61. Лысов В.Ф. К иннервации канальцев почки // Бюл. эксперим. биол. мед. 1962. – Т. 64. N 10. – С. 118-122.
62. Лысов В.Ф. О рефлекторных влияниях через систему блуждающих нервов на функции почек // Физиология и патология кортико-висцеральных взаимоотношений. Иваново. 1965. Вып. 1. С. 603-606.
63. Любовцева Л.А. Люминесцентно-гистохимическое исследование аминсодержащих структур костного мозга, тимуса и крови при действии некоторых нейромедиаторов и антигенов. – Чебоксары. 1993. – 100 с.
64. Малкина О.М. К механизму межсистемных взаимоотношений серотонина и ацетилхолина // Автореф. дисс....к.мн / – Казань. 1978. 20с.
65. Малкоч А.В., Майданник В.Г., Курбанова Э.Г. Физиологическая роль оксида азота в организме // Нефрология и диализ. – 2000. – Т.2. – №1-2. – С. 69-75.
66. Манухина Е.Б., Лапшин А.В., Меерсон Ф.З. и соавт. Влияние адаптации к физической нагрузке эндотелий-опосредованной реакции изолированных сосудов в продукции NO у крыс. // Физиол. журн. им. Сеченова. 1996. Т. 82, N 7, С. 54-60.
67. Мархасин В.С., Кацнельсон Л.Б., Никитина Л.В. и соавт. Биомеханика неоднородного миокарда. Екатеринбург. УРО РАН, 1999. – 254с.
68. Мельман Е.П. Функциональная морфология иннервации органов пищеварения. – М.: М, 1970.
69. Мельман Е.П., Шутка Б.В. Нервный аппарат почки // Архив анат., гистол. и эмбриол. – 1986. – Т. 90, N6. – С. 90-97.
70. Моисеев В.С. Сердечная недостаточность и достижения генетики // Сердечная недостаточность. – 2000. – Т.1, № 4. – С.121-131.
71. Мотавкин П.А. Современные представления о механизмах регуляции мозгового кровообращения // Морфология. – 1992. – Т. 103, N7-8. – С. 7-34
72. Наточин Ю.В. Основы физиологии почки. Л.: Медицина, 1982. 208с.

73. Наточин Ю.В. Проблемы эволюционной физиологии водно-солевого обмена. – Л.: Наука, 1984. – 38с.
74. Наточин Ю.В., Чапек К. Методы исследования транспорта ионов и воды. – Л.: Наука, 1976. – 220с.
75. Нигматулина Р.Р., Ахметзянов В.Ф., Насырова Д.И. Роль серотонина в регуляции функций сердца в раннем постнатальном онтогенезе крыс // Третья всероссийская с международным участием школа-конф. по физиол. кровообр. – М.: МГУ. 2004. – С. 68-69.
76. Ноздрачев А.Д., Котельников С.А., Мажара Ю.П., Наумов К.М. Один из взглядов на управление сердечным ритмом: интракардиальная регуляция // Физиол. человека. – 2005. Т. 31, № 2. – С. 116-129.
77. Ноздрихина Л.Р. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. – М., Наука. – 1977. 184с.
78. Нужненко Е.А. Активность ацетилхолинэстеразы почки при действии некоторых нейротропных веществ. – «Физиология, фармакология и патология функции почек» Всерос. научн. студ. конф. – Куйбышев, 1974. – С. 122-123.
79. Павлов И. А., Гринько А. А., Шкляр Т. Ф., Бляхман Ф. А. Влияние неоднородности на ударную работу левого желудочка сердца (экспериментальное моделирование) // Сб. трудов Второй Российской Конференции "Физика в биологии и медицине". – Екатеринбург. – 2001. – С. 31.
80. Пидевич И.Н. Фармакология серотонина (периферические эффекты). // В кн.: Фармакология моноаминергических процессов. Под ред. В.В. Закусова и Н.В. Кавериной. М.: М., 1971. – С. 263-276.
81. Пидевич И.Н. Фармакология серотонинреактивных структур. – М.: М., 1977. 280с.
82. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества: Санитарные правила и нормы (СанПиН 2.1.4.559-96). – М.: Информационно-издательский центр Госкомсанэпиднадзора России, 1996. – 111с.
83. Райцес В.С. Нейрофизиологические основы действия микроэлементов. – Л.: Медицина. – 1981. 152 с.
84. Розенгард В.И. О химическом методе определения ацетилхолина в крови и тканях. // Вопр. мед. химии. – 1968. – Т. 14. – вып. 5. С. 555-556.
85. Розенгард В.И., Розенгард Е.В. Химические методы определения содержания ацетилхолина. // Лаборат. дело. – 1972, N2. – С. 81-84.
86. Салей А.П. К механизму адаптивного натриевого аппетита // Вестн. ВГУ. Серия химия, биология. – 2000. С. 134-137.
87. Самойлович И.М. Фармакологический анализ серотонинчувствительных структур. – Автореф. дисс. ... к.м.н. – Донецк. – 1966.
88. Сергеев П.В. Биохимическая фармакология. – М.: Высшая школа, 1982. – 340с.
89. Сергеева В.Е., Гордон Д.С. Люминесцентно-гистохимическая характеристика ранней реакции моноаминсодержащих структур тимуса на антигенные воздействия. – Чебоксары. – 1992. – 352 с.
90. Ситдииков Ф.Г., Аникина Т.А., Гильмутдинова Р.И. Принцип взаимокompенсации в регуляции деятельности сердца // Третья всероссийская с международным участием школа-конф. по физиол. кровообр. – М.: МГУ. – 2004. – С. 97-99.
91. (Смирнов А.Е.) Smirnov A.E. Über die Nervenendigungen in der Nieren der Säugetiere // Anat. Anz. 1901, Bd 19, H. 14. – S. 349-359.
92. Смирнова В.И. Видовые особенности аутолюминесценции и адренергической иннервации почки кошки и крысы. Морфофизиология нервной и сердечно-сосудистой системы в норме и патологии, Чебоксары, 1974. – С. 23-26.



93. Смирнова В.И. Люминесцентно-гистохимический анализ действия адренотропных препаратов и серотонина на почку. Автореф. дисс ... к.м.н., Чебоксары, 1976, 24с.
94. Смирнова В.И., Аникин Г.Д. Анализ влияния мезатона на люминесцентные структуры почки. В кн.: Вопросы теоретической медицины. – Чебоксары, 1976. – С. 78-84.
95. Стопек Д., Гомбош А., Сиротякова М. Адренергическая и холинергическая иннервация почек некоторых млекопитающих // Архив анатомии, гистологии и патологии. – 1978, №9. – С. 37-43.
96. Сусликов В.Л. Геохимическая экология болезней. Атомовитозы. Т. 3. – М.: Гелиос Арв, 2000. – 670 с.
97. Тернова Т.И., Борисова Т.П., Федотова А.М., Громова Е.А., Прессман А.А. Некоторые данные о роли серотонина и ацетилхолина в патогенезе аритмий сердца у детей // Кардиология. – 1968. – Т. 8, № 5. – С. 99-102.
98. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А. Проблемы нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) // Под ред. проф. И.М. Трахтенберга М.: Медицина, 1991. 208с.
99. Тучек С. Синтез ацетилхолина в нейронах. / Пер. с англ. под ред. проф. Н.Н. Демина – М.: Мир. – 1981. – 284с.
100. Уразаев А.Х., Зефиоров А.Л. Физиологическая роль оксида азота (обзор) // Успехи биологических наук. – 1999. – Т. 30, № 1. – С. 54-72.
101. Федоров В.И. Современные представления о холинергическом влиянии на секрецию активность ренина и ангиотензиопреобразующего фермента // Успехи физиол. наук. – 2003. – Т. 34, № 1. – С. 63-77.
102. Федоров В.И. Холинергическое влияние на гемодинамику и экскреторные функции почки. // Успехи физиол. наук. – 1998. – Т. 29, №4. – С. 42-54.
103. Федоров В.И. Холинергическое угнетение ангиотензин I конвертирующей реакции // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 1992. – Т. 78, № 6. С. 79.
104. Физиология и патофизиология сердца: В 2 Т. Пер. с англ. / Под ред. Н. Сперелакиса. – М.: М., 1990.
105. Физиология кровообращения. Физиология сердца. (Руководство по физиологии) / Г.П. Конради, В.В. Глаголева, Ю.С. Чечулин и др. // Под ред. проф. Е.Б. Бабского. – Л., Наука. – 1980. – 598с.
106. Филонова К.С. Нервы почек человека. В кн.: Материалы к макро-микроскопии вегетативной нервной системы и желез слизистых оболочек и кожи. М.: Медгиз. – 1948. – С. 83-120.
107. Фоменко Г.Ф., Аникин Г.Д. Содержание холинэстеразы в почках различных животных при изменениях водного режима // VI Поволжская конференция физиологов с участием биохимиков, фармакологов и морфологов. – 1973. Т. 1. – С. 171.
108. Фрёмтер Э. Механизмы транспорта кислот и оснований в проксимальном канальце почки / В кн. Современные проблемы физиологии почек. Рига. 1991. С.30-36.
109. Хома М.А. Активность холинэстеразы и содержание ацетилхолина в сердце при экспериментальной адреналиновой миокардиодистрофии. // Бюлл. эксперимент. биол. и мед. 1971. Т. 72. № 7. С. 22-23.
110. Хэм А., Кормак Д. Гистология. – Т. 5, М.: Мир, 1983. – 296с.
111. Черницкий Е.А., Слобожанина Е.И. Спектральный люминесцентный анализ в медицине. – Минск: Наука и Техника, 1989. – 141с.
112. Чифликян М.Д., Григорян Г.Г., Марукян Т.Х. и соавт. Действие сердечного фактора H<sub>1</sub> на синтез и захват дофамина и норадреналина в сердце крыс // Физиол. журн. СССР им. И.М. Сеченова. – 1988. – Т. 74, № 7. – С. 948-952

113. Швалеv В.Н. Патоморфологические изменения симпатического отдела вегетативной нервной системы и сердечно-сосудистая патология // Архив патологии. – 1999. – Т. 3. – С. 50-52.
114. Швалеv В.Н. Иннервация почек. – М.: Наука, 1965. – 179с.
115. Шпильрейн М.И. О соотношении показателей холинэргической активности крови в норме // Лаб. дело. – 1974, N4. – С. 230-207.
116. Шток В.Н. Головная боль. М.: М. 1988.
117. Ястребова С.А., Сергеева В.Е. Механизмы гидрокортизоновой иммуномодуляции биоаминной клеточной системы тимуса. – Чебоксары. – 2000. 83с.
118. Abboud H.E. Kidney catabolism of histamine in the isolated glomeruli and tubules of the rat kidney // *Kidney Int.* – 1983. – Vol. 24, N 4. – P. 534-541.
119. Abe Y. Intrarenal blood flow distribution and autoregulation of renal blood flow and glomerular filtration rate // *Jap. Circulat. J.* – 1971. – V. 35. – P. 163-173.
120. Adam H.M., Hardwick D.C., Spencer K.E. Method of estimating histamine in plasma // *Brit. J. Pharmacol. and Chemoter.* – 1957. – V. 12, N 4. – P. 397.
121. Alessandri M.G., Giovannini L., Mian M., et al. PAF-induced histamine release in the isolated perfused rat kidney // *Int. J. Tissue Reactions.* – 1988. – V. 10, N 1. – P. 33-38.
122. Amenta F. Light microscope autoradiography of peripheral dopamine receptor subtypes. // *Clinical & Experimental Hypertension.* – 1997 Jan-Feb. – V. 19, N 1-2. – P. 27-41.
123. Amenta F., Ricci A., Tayebati S.K., Zaccheo D. The peripheral dopaminergic system: morphological analysis, functional and clinical applications // *Ital. J. Anat. Embryol.* – 2002. – V.107, N 3. – P. 145-167.
124. Aperia A., Bertorello A., Seri I. Dopamine causes inhibition of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity in the rat proximal convoluted tubule segments. // *Boll. Sok. Ital. Boil. Sper.* – 1987. – V. 59, N 5. – P. 356-361.
125. Arvidsson U., Riedl M., Elde R., Meister B. Vesicular acetylcholine transporter (VACHT) protein: a novel and unique marker for cholinergic neurons in the central and peripheral nervous systems // *J. Comp. Neurol.* 1997. V. 378, N4. – P. 454-467.
126. Bachmann S., Mundel P. Nitric oxide in the kidney: synthesis, localization, and function. // *Am. J. Kidney Diseases.* – 1994 Jul. – V. 24, N 1. – P. 112-129.
127. Baer P.G., Navar L.G., Guyton A.C. Renal autoregulation, filtration rate, and electrolyte excretion during vasodilatation // *Am. J. Physiol.* – 1970. – V. 19. – P. 619-625.
128. Bainbridge F.A. The influence of venouse filling upon the rate of the heart // *J. Physiol. (London).* – 1915. – V. 50. – P. 65-84.
129. Ball S.G., Lee M.R. The effect of carbidopa administration on urinary sodium excretion in man, is dopamine on intrarenal natriuretic hormone // *Brit. J. Clin. Pharmacol.* – 1977. V. 4. – N6. – P. 115-119
130. Banks R.O., Fondacaro J.D., Schwaiger M.M., Jacobson E.D. Renal histamine H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> receptors: Characterization and functional significance // *Am. J. Physiol.* – 1978. – V. 235. – F570-F575.
131. Barajas L., Müller J. The innervation of the juxtaglomerular apparatus and surrounding tubules: A quantitative analysis by serial section electron microscopy // *J. Ultrastruct. Res.*, 1973. – V. 43, N 1-2. – P. 107-132
132. Barajas L., Silverman A.J., Müller J. Ultrastructural localization of acetylcholinesterase in the renal nerves // *J. Ultrastruct. Res.*, 1974. – V. 49, N 3. – P. 297-311
133. Baranano D.E., Ferris C.D., Snyder S.H. Atypical neural messengers // *Trends Neurosci.* – 2001. – V. 24. – P. 99-106.
134. Barbour B., Hausser M. Intersynaptic diffusion of neurotransmitter // *Trends Neurosci.* 1997. V. 20. P. 377-384.

135. Bascal Z.A., Montgomery A., Holden Dye L. et al. Histochemical mapping of NADPH diaphorase in the nervous system of the parasitic nematode // *Ascaris suum*. *Parasitology*. – 1996. – V. 110, N5. – P. 625-637.
136. Batulevicius D., Pauziene N., Pauza D.H. Topographic morphology and age-related analysis of the neuronal number of the rat intracardiac nerve plexus // *Ann. Anat.* – 2003. – V. 185, N 5. – P. 449-459.
137. Bayer P.G., Navar L.G., Guyton A.C. Renal autoregulation, filtration rate, and electrolyte, excretion during vasodilatation // *Am. J. Physiol.* – 1970. – V. 19. –P. 619-625.
138. Beck F.W.J, Prasad A.S., Kaplan J., Fitzgerald J.T., Brewer G.J. Changes in cytokines production and T cell subpopulations in experimentally induced zinc-deficient humans // *Am. J. Physiol.* – 1997. – V. 272. – P. E1002-E1007.
139. Beierwaltes W.H. Nitric oxide participates in calcium-mediated regulation of renin release // *Hypertension*. – 1994. – V. 21. – Suppl.1. – P. 140-144.
140. Beierwaltes W.H., Carretero O.A. Nonprostanoid endothelium-derived factors inhibit renin release // *Hypertension*. – 1992. – V. 19. Suppl. 2. – P. 11-68.
141. Berkelmans H.S., Burton G.A., Schipper J., de Vente J. Effects of atrial natriuretic factor, nitroprusside and acetylcholine on cGMP immunostaining in the isolated perfused rat kidney. // *Histochem.* – 1991. – V. 96, N 1. – P. 13-19.
142. Bertoldi M., Moore P.S., Maras B., Dominici P., Voltattorni C.B. Mechanism-based inactivation of dopa decarboxylase by serotonin // *J. Biol. Chem.* – 1996. – V. 271. – N 39. – P. 23954-23959.
143. Bertorello A., Aperia A. Effect of L-Dopa, dopamine, dihydroxyphenilacetic acid on Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity in rat proximal tubule segments. // *Acta Physiol. Scand.* – 1987. – V. 130, N 4. – P. 571-574.
144. Bhardwaj R., Moore P.K. Endothelium-derived relaxing factor and the effects of acetylcholine and histamine on resistance blood vessels. // *British J. Pharmacol.* – 1988 NoV. – V. 95. – N 3. – P. 835-843.
145. Blandina P., Bacciottin L., Giovannini M., Mannaioni P. H<sub>3</sub> receptor modulation of the release of neurotransmitters in vivo / In *The Histamine H<sub>3</sub> Receptor*. Leurs R.L., Timmerman H. eds. – 1998. – P. 27-40.
146. Bornstein S.R., Yoshida-Hiroi M., Sotiriou S. et al. Impaired adrenal catecholamine system function in mice with deficiency of the ascorbic acid transporter (SVCT2) // *FASEB J.* – 2003. – V. 17, N 13. – P. 1928-1930.
147. Børresen H.C. // *Acta Chem. Scand.* 1967. v. 21. p. 2463-2470.
148. Brecht D.S., Hwang P.H., Snyder S.H. Localization of nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase // *Nature*. – 1991. – V. 352. – P. 714-718.
149. Brecht D.S., Snyder S.H. Nitric oxide, a novel neuronal messenger // *Neuron*. – 1992. – V. 8. – P. 3-11
150. Brostrom C.O., Hunkeler F.L., Krebs E.G. The regulation skeletal muscle phosphorylase kinase by Ca<sup>2+</sup> // *J. Biol. Chem.* 1971. V. 246. P. 1961-1967.
151. Buffoni F. and Blaschko H. Benzylamine oxidase and histaminase: purification and crystallization of an enzyme from pig plasma // *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* – 1964-65. – V. 161 P. 153-167.
152. Burn J.H., Rand M.J. Sympathetic postganglionic mechanism // *Nature*. – 1959. – V. 184. – P. 163-165.
153. Carter M.K., Greig C. Relationship between ion transport and cholinesterase activity in kidney cortex slices from normal adrenalectomized rats // *Federat. Proc.* – 1955. – V. 14. – P. 34.
154. Cavallotti C., Artico N., Cavallotti D. Occurrence of adrenergic nerve fibers and of noradrenaline in thymus gland of juvenile and aged rats // *Immunol. Lett.* – 1999. – V. 70. – P. 53-62.

155. Chakravorti B.P. Are there chromaffin cells inside the ventricle of frog's // *Indian J. Med. Sci.* – 1959. V. 13. – P. 311.
156. Corsini W.A., Hook J.B., Bailie M.D. // *Circulat. Res.* – 1975. – VI. – V. 37. – P. 1523.
157. Cote F., Thevenot E., Fligny C. et al., Disruption of the nonneuronal tph1 gene demonstrates the importance of peripheral serotonin in cardiac function // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2003. – V. 100, N 23. – P. 13525-13530.
158. Crick S.J., Anderson R.H., Ho S.Y., Sheppard M.N. Localisation and quantitation of autonomic innervation in the porcine heart II: endocardium, myocardium and epicardium // *J. Anat.* – 1999. – V. 195. – P. 359-373.
159. Cross S.A.M., Even S.W., Rost F.W.D. A study of methods available for cytochemical localization of histamine by fluorescence induced with o-phthaldehyde or acetaldehyde // *Histochemistry.* – 1971. – V. 3. N 6. – P. 471-476.
160. Daniels M., Hauswirth W. // *Science.* 1971. V. 171. P. 675-677.
161. Dawson T.M., Brecht D.S., Fotuhi M. et al. Nitric oxide synthase and neuronal NADPH-diaphorase are identical in brain and peripheral tissues // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1991. – V. 88. – P. 7797-7801.
162. De Castro-e-Silva E., Luz C.P., Marinho C.A., et al. Central administration of zinc increases renal sodium and potassium excretion in rats // *Brain Res.* – 1999. – V. 845, N2. – P. 176-184.
163. De Michele M., Amenta F., Cavallotti C. Autoradiographic localization of muscarinic receptors within the rat kidney. // *European Journal of Pharmacology.* – 1989 Oct. – V. 10, N 169 (2-3). – P. 297-305.
164. Dick A.T. The control of copper storage in the liver of sheep by inorganic sulfate and molybdenum // *Aust. Vet. J.* – 1953. – V. 29. – P. 233.
165. Dietrich H.J. Electron microscopic studies of the innervation of the rat kidney // *Z. Anat. Entwickl.* – 1974, V. 145. – P. 169-186.
166. Dinerstein R.J., Henderson R.C., Goldberg L.I. et al. Histofluorescence techniques provide evidence for dopamine-containing neuronal elements in canine kidney // *Science.* – 1979. v. 205. – p. 497-499.
167. Dinerstein R.J., Jones R.T., Goldberg L.I. Evidence for dopamine-containing nerves // *Fed. Proc.* – 1983. – v. 42, N13. – P. 3005-3008.
168. Do Q.B., Dandan N., Cardinal R., Page P. A study of autonomic innervation of the atrial septum by iso-integral mapping in dogs // *Ann. Chir.* – 1996. – V. 50. – P. 659-666.
169. Donato M.T., Ponsoda X., O'Connor E., et al. Role of endogenous nitric oxide in liver-specific functions and survival of cultured rat hepatocytes // *Xenobiotica.* – 2001. – V. 31, N 5. – P. 249-264.
170. Duchene-Marullaz P., Arnould R., Schaff G., Lavarenne J., Billaud J. Comparasion des effets chronotrope, inotrope et dromotrope de l'excitation du stellaire droit chez le chien chloralose // *C. R. Soc. Biol. (Paris).* – 1966. – V. 160. P. 1586-1589.
171. Duner H., Pernow B. Determination of histamine in blood and urine by absorption on amberlite IRC-50 // *Scand. J. Clin. and Lab. Invest.* – 1958. V. 10, N 3. – P. 233.
172. Duner H., Pernow B. The correlation between the occurrence of histamine in blood and urine // *Scand. J. Clin. and Lab. Invest.* – 1958. – V. 10, N 4. – P. 390.
173. Duner H., Pernow B. Urinary excretion of histamine in healthy human subjects // *Scand. J. Clin. and Lab. Invest.* – 1956. – V. 8, N 4. – P. 296.
174. Durand G., Feger J., et al. Isolement du serum humain normal d'une proteine capable de diminuer l'activite biologique de l'histamine sur l'ileon isole de cobaye: Etude preliminaire du mode l'action // *Biochemie.* – 1971. – V. 53, N 8. – P. 909.
175. Durand G., Feger J., et al. Etude de mode d'action du facteur plasmatique diminuant l'activite de histamine sur l'ileon isole de Cobaye // *Biochem. Pharmacol.* – 1973. – V. 22, N 8. – P. 919.

176. Eisenhofer G., Åneman A., Friberg P. et al. Substantial Production of Dopamine in the Human Gastrointestinal Tract // *J. Clin. Endocrinol. & Metab.* – 1997. – V. 82, N 11. – P. 3864-3871.
177. Eisenhofer G. The role of neuronal and extraneuronal plasma membrane transporters in the inactivation of peripheral catecholamines // *Pharmacol. Ther.* – 2001. – V. 91, N 1. – P. 35-62.
178. Elenkov I.J., Wilder R.L., Chrousos G.P., Vizi E.S. The Sympathetic Nerve An Integrative Interface between Two Supersystems: The Brain and the Immune System // *Pharmacol. Rev.* – 2000. – V. 52, N 4. – P. 595-638.
179. Eltze M., Ullrich B., Mutschler E. et al. Characterization of muscarine receptors mediating vasodilatation in rat perfused kidney // *EuroP. J. Pharmacol.* – 1993. – V. 238. – P. 343-355.
180. Endlich K., Kuhn R., Steinhausen M. Visualization of serotonin effects on renal vessels of rats // *Kidney International.* – 1993 Feb. – V. 43, N2. – P. 314-323.
181. Erspamer V. Peripheral physiological and pharmacological actions of indolealkylamines // *Handbook of Experimental pharmacol.* – V. 19. – P. 245-359.
182. Evans S., Garg L.C., Meyer E.M. Synthesis and release of acetylcholine in the rabbit kidney cortex. // *Life Sciences.* – 1992. – V. 51, N 22. – P. 1699-1703.
183. Falck B., Hillarp N.A., Thieme G., Torp A. Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde // *J. Histochem. and Cytochem.* – 1962. – V. 10. – P. 348-354.
184. Fellman J.H. Determination of acetylcholine: Its application in a study of presynaptic release and a choline acetyltransferase assay. // *J. Neurochem.* – 1969. – P. 135-143.
185. Felten D.L., Felten S.Y., Carlson S.L., Olschowka J.A., Livnat S. Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid tissue. // *J. Immunol.* – 1985. – V. 135. P. 755s-765s.
186. Forstermann U., Closs E.I., Pollock J.S. et al. Nitric oxide synthase isozymes, characterization, purification, molecular cloning and function // *Hypertension.* – 1994. – V. 23. – P. 1121-1131.
187. Fryckstedt J., Meister B., Aperia A. Control of electrolyte transport in the kidney through a dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein, DARPP-32. // *J. Autonomic Pharmacol.* – 1992. – V. 12. – N 3. – P. 183-189.
188. Furchgott R.F., Zawadzki S. The obligatory role of endothelial cells in relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine // *Nature.* – 1980. – V. 288. – P. 373-376.
189. Gaddium J.H., Piracelli Z.P. Two kinds of tryptamine receptor // *Brit. J. Pharmacol.* – 1957. – V. 11. – P. 323-328.
190. Geller D.A., Lowenstein C.J., Shapiro R.A. et al. Molecular cloning and expression of inducible nitric oxide synthase from human hepatocytes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1993. – V. 90. – P. 3491-3495
191. Gfell B., Kloas W., Hanke W. Neuroendocrine effects on adrenal hormone secretion in carp (*Cyprinus carpio*) // *General & Comparative Endocrinology.* – 1997 Jun. – V. 106, N3. – P. 310-319.
192. Gibson E.P., Turnbull J.H. // *J. Photochem.* 1979. V. 11. P. 313-318.
193. Goldberg L.I., McDonald R.M., Zimmerman M.N. Sodium diuresis produced by dopamine in patient with congestive heart failure // *New Eng. J. Med.* – 1963. – V. 269. – P. 1060.
194. Grandes S., Gallego M.J., Riesco A. et al. Mechanism of renal effects of different agents simulating production of cGMP // *Amer. J. Physiol.* – 1991. – V. 261. – P. H1109-1114.
195. Guimaraes J.T., Vieira-Coelho M.A., Serrao M.P., Soares-da-Silva P. Opossum kidney (OK) cells in culture synthesize and degrade the natriuretic hormone dopamine: a comparison with rat renal tubular cells. // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 1997. – V. 4. – P. 681-688.
196. Gullo F., Ales E., Rosati B. et al., ERG K<sup>+</sup> channel blockade enhances firing and epinephrine secretion in rat chromaffin cells: the missing link to LQT2-related sudden death? // *FASEB J.* – 2003. – V. 17, N 2. – P. 330-332.

197. Hafdi Z., Couette S., Comoy E. et al. Locally formed 5-hydroxytryptamine stimulates phosphate transport in cultured opossum kidney cells and in rat kidney // *Biochemical Journal.*– 1996.– V. 320 (Pt 2). – P. 615-621.
198. Hagege J., Richet G. Proximal tubule dopamine histofluorescence in renal slices incubated with l-dopa // *Kidney Int.* – 1985. – V. 27. – P. 3-8
199. Hamamori Y., Hoshijima M., Ohmori T. et al. Serotonin as a major serum factor inducing the phospholipase C-mediated hydrolysis of phosphoinositides in normal rat kidney cells // *Cancer Research.* – 1988. – V. 48, N 23. – P. 6697-6702.
200. Hayakawa H., Hirata Y., Suzuki E. et al. Endothelium-derived relaxing factors in the kidney of spontaneously hypertensive rats // *Life Sci.* – 1995. – V. 56. – PL401-PL408.
201. Haynes W.G., Hand M.F., Dockrell M.E. et al., Physiological role of nitric oxide in regulation of renal function in humans. // *Amer. J. Physiol.* – 1997. – V. 272. – N 3, Pt 2. – F364-71.
202. Heald J.I., Hollis T.M. Histidine decarboxylase-mediated histamine synthesis in glomeruli from rat kidneys // *Am. J. Physiol.* – 1976. – V. 230. – V. 5. – P. 1349-1353.
203. Hein M.S. Copper deficiency anemia and nephrosis in zinc-toxicity: a case report // *S. D. J. Med.* – 2003. – V. 56, N4. – P. 143-147.
204. Hestrin S. The reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with hydroxylamine and its analytical application // *J. Biol. Chem.* – 1949. – V. 180. – P. 249.
205. Higgins C.B., Vatner S.F., Braunwald E. Parasympathetic control of the heart // *Pharmacol. Rev.* – 1973. V. 25. P. 205-216.
206. Hill C., Lateef A.M., Engels K., Samsell L., Baylis C. Basal and stimulated nitric oxide in control of kidney function in the aging rat. // *American Journal of Physiology.* – 1997 Jun. – V. 272, N 6 (Pt 2). – R1747-53.
207. Hine R.J. Keim N.L. Hegstrand L.R. Effect of total parenteral nutrition on histamine in the rat brain and other tissues // *In Vivo.* – 1990. – V. 4, N 4. – P. 239-242.
208. Ho S.S., Yun J.C., Gill J.R., Jr. Kelly G.D. Keiser H.R. On the mechanism of renal vasoconstriction induced by acetylcholine in indomethacin-treated dogs // *Renal Physiol.* – 1985. – V. 8. – P. 310.
209. Hope B.T., Vincent S.R. Histochemical characterization of neuronal NADPH-diaphorase // *J. Histochem. Cytochem.* – 1989. – V. 37. – P. 653-661
210. Hope G.T., Michael G.S., Knigge K.M. et al. Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1991. – V. 88. – P. 2811-2814.
211. Hsu J.M., Rubenstein B. Effect of zinc deficiency on histidine metabolism in rats // *J. Nutr.* – 1982. – V. 12, N3. – P. 461-467.
212. Hubbard P.C., Lummis S.C. Zn(2+) enhancement of the recombinant 5-HT(3) receptor is modulated by divalent cations // *Eur. J. Pharmacol.* – 2000. – V. 394, N2&3. – P. 189-197.
213. Ichikawa I., Brenner B.M. Mechanism of action of histamine and histamine antagonists on the glomerular microcirculation in the rat // *Circ. Res.* – 1979. – V. 45. – P. 737-744.
214. Inman S.R., Stowe N.T., Albanese J. et al. Contrasting effects of vecuronium and succinylcholine on the renal microcirculation in rodents. // *Anesthesia & Analgesia.* – 1994 Apr. – V. 78, N 4. – P. 682-686.
215. Ito S., Ren Y. Evidence for the role of nitric oxide in macula densa control of glomerular hemodynamics. // *Journal of Clinical Investigation.*– 1993 Aug.– V. 92, N 2. – P. 1093-1098.
216. Jose P.A., Yu P.Y., Yamaguchi I., Eisner G.M. et al. Dopamine D1 receptor regulation of phospholipase C. // *Hypertension Research.* – 1995. – Suppl 1.– S39-42.
217. Jungbluth D., Simon-Oppermann C., Schutz H., Gerstberger R., Simon E. Noradrenergic modulation of avian kidney function // *Comp. Biochem. Physiol. Comp. Physiol.* – 1994. – V. 108, N 1. – P. 7-16.

218. Kamata K., Hosokawa M. Endothelial dysfunction in the perfused kidney from the streptozotocin-induced diabetic rat. //Research Communications in Molecular Pathology & Pharmacology.– 1997a Apr.– V. 96, N 1. – P. 57-70.
219. Kamata K., Hosokawa M. Characteristics of vasodilatation induced by cyclopiazonic acid in the rat perfused kidney. //Research Communications in Molecular Pathology & Pharmacology.– 1997b May.– V. 96 N 2. – P. 147-156.
220. Kawashima K., Fujii T. Extraneuronal cholinergic system in lymphocytes // Pharmacol. Ther. 2000. – V. 86, N1. – P. 29-48.
221. Kawashima K., Oohata H., Fujimoto K., Suzuki T. Extraneuronal localization of acetylcholine and its release upon nicotinic stimulation in rabbits // Neurosci Lett 1989. – V. 104, N3. – P. 336-339.
222. Kendall M.D., Al-Shawaf A.A. Innervation of the rat thymus gland // Brain Behav. Immun. – 1991. – V. 5. – P. 9-28.
223. Key P.S., Vaziri N.D., Childester M. Effect of H<sub>2</sub>-histamine receptor blockade and stimulation on urinary acidification // Gen Pharmacol. – 1985. – V. 16, N6. – P. 621-623.
224. Knighton W.B., Giscas G.O., Callis P.R. // J. Phys. Chem. – 1982. – V. 86. –P. 49-52.
225. Kobzik L., Reid M.B., Brecht D.S., Stamler J.S. Nitric oxide in skeletal muscle. Nature. 1994; V.372; 546-549.
226. Koelle G.B. A new general concept of the neurohumoral functions of acetylcholine and acetylcholinesterase // J. Pharm. And Pharmacol. – 1962. V. 14. – P. 65-90.
227. Koelle G.B. Cholinesterases and anticholinesterase agents. Handbuch der exper. Pharmacologie, Bd. 15. 1967a.
228. Koelle G.B. Cytological distributions and physiological functions of cholinesterase. In: Cholinesterases and anticholinesterase agents. Ed. By G.B. Koelle. Handbuch der exper. Pharmacologie, Bd. 15. 1967b.
229. Kondo M. // Bull. Chem. Soc. Jap. – 1976. – V. 49. – P. 2679-2682.
230. Kook Y.J., Kim K.K., Yang D.K. et al. Mechanism of renal effects of intracerebroventricular histamine in rabbits // Arch. Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie. – 1988, Jan-Feb. – V. 291. – P. 280-295.
231. Kozlov V.A., Ufukova A.Y., Tolmachev A.S., Suslikov V.L. Fluorescent method of Acetylcholine detection. // 20<sup>th</sup> Workshop The biological essentiality of macro and trace elements, Germany, Jena, 1-3 December, 2000. – P. 895-899.
232. Kozlov V.A., Glazirina O.S., Kuzmina O.V., Suslikov V.L. Choline and L-Dopa influence on biogenic regulators kidney level and kidney mastocytes behaviour. // 21<sup>th</sup> Workshop The biological essentiality of macro and trace elements, Germany, Jena, 18-19 October, 2002, P. 846-856.
233. Kozlov V.A., Glazirina O.S., Kuzmina O.V., Suslikov V.L. Water diuresis and choline influence on biogenic regulators kidneys level and kidney mastocytes behavior in acute expparement. // 21<sup>th</sup> Workshop The biological essentiality of macro and trace elements, Germany, Jena, 18-19 October, 2002, P. 831-839.
234. Kozlov V.A., Glazirina O.S., Ufukova A.U. et al. The choline changes acetylcholinesterases activity and Acetylcholinum fluorescence intensity in the kidneys // 21<sup>th</sup> Workshop The biological essentiality of macro and trace elements, Germany, Jena, 18-19 October, 2002. – P. 839-846.
235. Kozlov V.A., Glazirina O.S. Influence of chronic consumption Cu 10 maximum concentrations limits on rats kidney bioaminic status // 4 th International symposium on trace elements in human: new perspective. Greece. Athens. 9-11 October. 2003. P. 680-689
236. Kozlov V.A., Glazirina O.S. Influence of chronic consumption Cu 10 maximum concentrations limits on rats thymic bioaminic status // 4 th International symposium on trace elements in human: new perspective. Greece. Athens. 9-11 October. 2003. P. 690-704.

237. Kozlov V.A., Glazirina O.S. Influence of chronic consumption Zn 10 maximum concentrations limits on rats kidney bioaminic status // 4 th International symposium on trace elements in human: new perspective. Greece. Athens. 9-11 October. 2003. P. 705-715.
238. Kozlov V.A., Glazirina O.S. Influence of chronic consumption Zn 10 maximum concentrations limits on rats thymus bioaminic status // 4 th International symposium on trace elements in human: new perspective. Greece. Athens. 9-11 October. 2003. P. 721-734.
239. Koyama M., Seyedi N., Wai-Ping Fung-Leung et al. Norepinephrine Release from the Ischemic Heart Is Greatly Enhanced in Mice Lacking Histamine H<sub>3</sub> Receptors // *Mol. Pharmacol.* – 2003. – V. 63. – N 2. – P. 378-382.
240. Kranz A., Kendall M.D. von Gaudecker B. Studies on rat and human thymus to demonstrate immunoreactivity of calcitonin gene-related peptide, tyrosine hydroxylase and neuropeptide Y // *J. Ana.* – 1997. – V. 191. – P. 441-450.
241. Kuchel O., Bun T., Unger T. Dopamine sodium relationship: is dopamine a part of the endogenous natriuretics system? // *Contributions to Nephrology.* – 1978. – V. 13. – N 27. – P. 36.
242. Kuzu M.A., Koksoy C., Alacayir L. et al. Tromboxane synthase inhibitor, UK 38485, prevents renal injury in the rabbit isolated perfused kidney exposed to cold ischemia // *Transplantation.* – 1995. – V. 59. – P. 1096-1099.
243. Laight D.W., Woodward B., Waterfall J.F. Renal vasodilation to histamine in vitro: roles of nitric oxide, cyclo-oxygenase products and H<sub>2</sub> receptors // *Inflammation Research.* – 1995. – Mar 44(3):116-20.
244. Lamas S., Marsden P.A., Li G.K. et al. Endothelial nitric oxide synthase: molecular cloning and characterization of a distinct constitutive enzyme isoform // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1992. – V. 89. – P. 6348-6352.
245. Lameris T.W., A.H. van den Meiracker, Boomsma F., et al. Catecholamine handling in the porcine heart: a microdialysis approach // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 1999. – V. 277. – H1562-H1569.
246. Larsen T.H., Helle K.B., Saetersdal T. Immunoreactive atrial natriuretic peptide and dopamine beta-hydroxylase in myocytes and chromaffin cells of the heart of the African lungfish, *Protopterus aethiopicus* // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1994. – V. 95, N 1. – P. 1-12.
247. Laskin J.D., Heck D.E., Gardner C.R., Laskin D.L. Prooxidant and antioxidant functions of nitric oxide in liver toxicity // *Antioxid Redox Signal.* – 2001. – V. 3, N2. – P. 261-271.
248. Lavender A.R., Aho I., Pullman T.N. Renal responses to acetylcholine // *Proc. Soc. Exptl Biol. Med.* – 1965. – V. 119. – P. 887-892.
249. Levine L. Actions of vanadate on arachidonic acid metabolism by cells in culture // *Prostaglandins.* – 1991. – V. 41, N1. – P. 7-19.
250. Lewis A.J., Nicholls P.J. The effect of circadian and seasonal variations upon histamine turnover in the rat // *Pharm. Res. Commun.* – 1972. – V. 2. P. 4.
251. Li T., Core K., Inquest R.J. Vasoconstrictor and vasodilator effects of serotonin in the isolated rabbit kidney // *J. Pharmacol. & Experimen. Ther.* – 1992. – V. 263. — N 3. – P. 928-932.
252. Lowenstein C.J., Glatt C.S., Bredt D.S. et al. Cloned and expressed macrophage nitric oxide synthase contracts with the brain enzyme // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1992. – V. 89. – P. 6711-6715.
253. Luscher T.F., Cooke J.P., Houston D.S. et al. Endothelium-depended relaxation in human peripheral and renal arteries // *Mayo Clin. Pro.* – 1987. – V. 62. – P. 601-606.
254. Mannaioni P.E., Moroni F. Uptake, disposition and metabolism of histamine in isolated heart preparations // *Brit. J. Pharmacol.* – 1973. – V. 49. – p 457.
255. Mark M.R., Domino E.F., Han S.S. et al. Effect of parasympathetic denervation on acetylcholine levels in the rat parotid gland. Is there an extraneuronal pool of acetylcholine? // *Life Sci.* – 1983. – V. 33, N12. – P. 1191-1197.



256. Marletta M.A. Nitric oxide: biosynthesis and biological significance // Trends. Boil. Sci. – 1989. – V. 14. – P. 488-492.
257. Marsden P.A., Schappert K.T., Chen H.S. et al. Molecular cloning and characterization of human endothelial nitric oxide synthase // FEBS Lett. – 1992. – V. 307. – P. 287-293.
258. Mattson D.L., Roman R.J., Cowley A.W. Role of nitric oxide in renal papillary blood flow and sodium excretion // Hypertension. – 1992. – V. 19, N6. Part 2. – P. 766-769.
259. Melander A., Ericson L.E. Intrathyroidal amines in the regulation of thyroid activity // Rev. Physiol. Biochem. And Pharmacol. – 1975. – P. 39.
260. Mezey E., Eisenhofer G., Harta G. et al. A novel nonneuronal catecholaminergic system: Exocrine pancreas synthesis and release dopamine // Proc Nat. Acad. Sci. USA. – 1996. – V. 93, N 19. – P. 10377-10382.
261. Mitchel G.A.G. Anatomy of the autonomic nervous system. Edinburg, London. – 1953.
262. Mocchegiani E., Fabris N. Age-related thymus involution: zinc reverses in vitro the thymulin secretion defect // Int. J. Immunopharmacol. – 1995. – V. 17, N 9. – P. 745-749.
263. Morcos S.K., Oldroyd S., Haylor J. Effect of radiographic contrast media on endothelium derived nitric oxide-dependent renal vasodilatation. //British Journal of Radiology.– 1997 Feb.– V. 70. – P. 154-159.
264. Morgan J.P., Daniels M. // Photochem. Photobiol. – 1980. – V. 31. – P. 101-104.
265. Morgunov N., Baines A.D. Vagal afferent activity and renal nerve release of dopamine // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 1985. – V. 63. – P. 636-641.
266. Mosebach K.O., Popoola K. Histidindecarboxylaseaktivitat in Samenblasen unreifer und testosteronbehandelter Ratten // Experientia. – 1965. – Bd. 21, N 9, S. 522.
267. Muscholl E. Пресинаптические м-холинорецепторы и торможение высвобождения. В кн.: Освобождение катехоламинов из адренергических нейронов: Пер. с англ. / Под ред. Д.М. Патона. – М.: Медицина, 1982. 352 с.
268. Napier L.D., Roerig S.C., Yoshishige D.A., Barron B.A., Caffrey J.L. Canine cardiac muscarinic receptors, G proteins, and adenylate cyclase after long-term morphine // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1999. – V. 291, N 2. – P. 725-732.
269. Naveh Y., Weis P., Chung H.R., Bogden J.D. Effect of cimetidine on tissue distribution of some trace elements and minerals in the rat // J. Nutr. – 1987. – V. 117, N9. – P. 1576-1587.
270. Nevekim A. Regulation of dopamine D<sub>2</sub> receptors by sodium and pH // Mol. Pharmacol. – 1991. – V. 39, N4. – P. 570-578.
271. Novotny G.E.K., Sommerfeld H., Zirbes T. Thymic innervation in the rat: A light and electron microscopical study // J. Comp. Neurology. – 1990. – V. 302. – P. 552-561.
272. Oner G., Bilgen I., Edremitlioglu M. et al. Dietary zinc modifies the characteristics of endothelial dilation in normozincemic rats // Biol. Trace Elem. Res. – 2003. – V. 92, N2. – P. 123-138.
273. Palmer R.M.J., Ferrige A.G., Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor // Nature. – 1987. – V. 327. – P. 534-526.
274. Pauza DH; Skripka V; Pauziene N; Stropus R. Anatomical study of the neural ganglionated plexus in the canine right atrium: implications for selective denervation and electrophysiology of the sinoatrial node in dog // Anat. Rec. – 1999. – V.255. – P. 271-294.
275. Pinter G.C., O'Morchoe C.C., Sikand R.S. Am. J. Physiol.– 1964.– V. 208, N 6. – P. 1107.
276. Pirola C.J., Alvarez A.L., Balda M.S. et al. Evidence for cholinergic innervation in dog renal tissue // Am. J. Physiol.– 1989.– V. 257, N 5 (Pt 2). – F746-754.
277. Pirola C.J., Alvarez A.L., Finkielman S. et al. Release of acetylcholine from isolated canine renal tissue // Am. J. Physiol. 1991. – V. 260, N 2 (Pt 2). – F198-203.
278. Policard A. // Compt. Rend. Sol. Biologie. – 1924. – V. 21. – P. 1423-1435.
279. Porter J.P., Ganong W.F. Vasoactive intestinal peptide and renin secretion. // Annals of the New York Academy of Sciences.– 1988.– V. 527. – P. 465-477.

280. Prasad A.S. Zinc: The Biology and Therapeutics of an Ion // *Ann. Intern. Med.* – 1996. – V. 125. – P. 142-144.
281. Prasad A.S., Meftah S., Abdallah J. et al. Serum thymulin in human zinc deficiency // *J. Clin. Inves.* – 1988. – V. 82. – P. 1202-1210.
282. Quik M., Afar R., Geertsen S., et al. Thymopoietin, a thymic polypeptide, regulates nicotinic alpha-bungarotoxin sites in chromaffin cells in culture // *Mol Pharmacol.* – 1990. – V. 37, N 1. – P. 90-97.
283. Rand M.J., Li C.G. Nitric oxide as a neurotransmitter in peripheral nerves: nature of transmitter and mechanism of transmission // *Ann. Rev. Physiol.* – 1995. – V. 57. – P. 659-682.
284. Rankin J.I. An investigation of the catecholamines receptors // *Quart. J. Microsc. Sci.* 1954. – V. 95 (2), N 30. – P. 217-230.
285. Richet G, Wahbe F, Hagege J, Wiemeyer W. Extraneuronal production of dopamine by kidney slices in normo and hypertensive rats // *Clin. Exp. Hypertens. A.* – 1987. – V. 9. – P. 127-134.
286. Sanada H., Yao L., Jose P.A., Carey R.M., Felder R.A. Dopamine D3 receptors in rat juxtaglomerular cells. // *Clinical & Experimental Hypertension.* – 1997. – V. 19, N 1-2. – P. 93-105.
287. Sanatani S., Chiu C., Nykanen D. et al. Evolution of Heart Rate Control After Transplantation: Conduction Versus Autonomic Innervation // *Pediatr Cardiol.* – 2003. – Published online: Dec 4.
288. Sandros K. // *Acta chem. Scand. A.* – 1976. – V. 30, N 9. – P. 761-763.
289. Sandstead H.H., Prasad A.S., Schulert A.R. et al. Human zinc deficiency, finisocrinic manifestations and response to treatment // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1967. – V. 20. – P. 2242.
290. Schafer U., Schneider A., Neugebauer E. Identification of a nitric oxide-regulated zinc finger containing transcription factor using motif-directed differential display // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2000. – V. 1494, N3. – P. 269-76.
291. Schmidt H.H., Gagne G.D., Nakane M. et al. Mapping of neural nitric oxide synthase in the rat suggests frequent co-localization with NADPH diaphorase but not with soluble guanylyl cyclase, and novel paraneural functions for nitrinergic signal transduction. *J. Histochem. Cytochem.* 1992. V. 40. N 10. P. 1439-1456
292. Scholz H., Kurtz A. Involvement of endothelium-derived relaxing factor in the pressure control of renin secretion from isolated perfused kidney. // *J. Clin. Invest.* – 1993. – V. 91, N 3. – P. 1088-1094.
293. Schrauser G.N. The discovery of the essential trace elements: An outline of the history of biological trace element research. *Biochemistry of the essential ultratrace elements* // Ed. E. Friden. New York, London: Plenum Press. – 1984. – P. 17-32.
294. Shahedi M., Laborde K., Azimi S. et al. Mechanisms of dopamine effects on Na-K-ATPase activity in Madin-Darby canine kidney (MDCK) epithelial cells. // *Pflugers Archiv – Europ. J. Physiol.* – 1995. – V. 429, N 6. – P. 832-840.
295. Sharpe M.A., Ollosson R., Stewart V.C., Clark J.B. Oxidation of nitric oxide by oxomanganese-salen complexes: a new mechanism for cellular protection by superoxide dismutase/catalase mimetics // *Biochem. J.* – 2002. – V. 366, Pt 1. – P. 97-107.
296. Shoji T., Tamaki T., Fukui K., Iwao H., Abe Y. Renal hemodynamic responses to 5-hydroxytryptamine (5-HT): involvement of the 5-HT receptor subtypes in the canine kidney // *Europ. J. Pharmacol.* – 1989. – V. 171, N 2-3. – P. 219-228.
297. Shore P.A., Burkhalter A., Cohn V.H. A method for the fluorometric assay of histamine in tissues // *J. Pharmacol. And Exp. Ther.* – 1959. – V. 127. – P. 182.
298. Sigmon D.H., Beierwaltes W.H. Degree of renal artery stenosis alters nitric oxide regulation of renal hemodynamics // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 1994. – V. 5. – 1369-1377.
299. Silver R.B., Mackins C.J., Smith N.C.E. et al. Coupling of histamine H<sub>3</sub> receptors to neuronal Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange: A novel protective mechanism in myocardial ischemia // *PNAS* – 2001. – V. 98. – N 5. – P. 2855-2859.

300. Silver R.B., Poonwasi K.S., Seyedi N. et al. Decreased intracellular calcium mediates the histamine H<sub>3</sub>-receptor-induced attenuation of norepinephrine exocytosis from cardiac sympathetic nerve endings // *PNAS* – 2002. – V. 99. – N 1. – P. 501-506.
301. Smith R.B. Atrioventricular and semilunar valve innervation in ship, pigs and cattle // *Cardio-vasc. Res.* – 1971. – V. 5. – P. 113-117.
302. Soares-da-Silva P., Serrao M.P., Vieira-Coelho M.A. A comparative study on the synthesis of the natriuretic hormone dopamine in OK and LLC-PK1 cells // *Cell Biol. Int.* – 1996. – V. 20, N8. – P. 539-544.
303. Spinazzola A.J., Sherrod T.R. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* – 1957. – V. 111. –P. 1-119.
304. Steinbeck G. Genesis, pathophysiology and clinical aspects of cardiac arrhythmias. Characterization of the risk patient // *Med. Klin.* – 1997. – V. 92. – P. 192-196.
305. Stock K., Westermann T.O. Concentration of norepinephrine, serotonin, histamine, and amino-metabolizing enzymes in mammalian adipose tissue // *J. Lipid Res.* – 1963. – V. 4, N3. – P. 297.
306. Stoos B.A., Carretero O.A., Garvin J.L. Endothelial-derived nitric oxide sodium transport by affecting apical membrane channels in cultured collecting duct cells // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 1994. – V. 4. – P. 1855-1860.
307. Suresh A., Sivaramakrishna B., Victoriamma P.C., Radhakrishnaiah K. Comparative study on the inhibition of acetylcholinesterase activity in the freshwater fish *Cyprinus carpio* by mercury and zinc // *Biochem. Int.* – 1992. – V. 26, N2. – P. 367-375.
308. Suzuki H., Nakane H., Kawamura M. et al. Excretion and metabolism of dopa and dopamine by isolated perfused rat kidney // *Am. J. Physiol.* – 1984. – V. 247, N 3 (Pt. 1). – E285-E290.
309. Takahashi T., Hisa H., Satoh S. Serotonin-induced renin release in the dog kidney // *Source Europ. J. Pharmacol.* – 1991. – V. 193, N 3. – P. 315-320.
310. Takahashi T., Hisa H., Satoh S. Serotonin-induced vasoconstriction in dog kidney // *J. Cardiovascular Pharmacol.* – 1992. – V. 20, N5. – P. 779-784.
311. Talib S., Okarma T.B., Lebkowski J.S. Differential expression of human nicotinic acetylcholine receptor alpha subunit variants in muscle and non-muscle tissues. // *Nucleic Acids Research.* – 1993. – V. 21, N 2. – P. 233-237.
312. Theiler K. *The house mouse: Atlas of Embrionic development.* Springer-Verl. NewYork. 1989.
313. Thomas C.E., Ott C.E., Bell D. et al. Glomerular filtration dynamics during renal vasodilatation with acetylcholine in the dog // *Amer. J. Physiol.* – 1983. – V. 244. – P. F606-F611.
314. Tsushima H., Mori M., Matsuda T. Antidiuretic effects of alpha- and beta-adrenoceptor agonists microinjected into the hypothalamic supraoptic nucleus in a water-loaded and ethanol-anesthetized rat // *Jpn. J. Pharmacol.* – 1985. – V. 39, N 3. – P. 365-374.
315. Ugaily-Thulesius L. Thulesius O. The effects of urine on mast cells and smooth muscle of the human ureter. // *Urological Res.* – 1988b. – V. 16, N 6. – P. 441-447.
316. Ugaily-Thulesius L. Thulesius O., Sabha M. The effect of urothelial damage on ureteric motility. An ultrastructural and functional study. // *British J. Urology.* – 1988a. – V. 62, N 1. – P. 19-25.
317. Valtin H., Gennari F. *Acid-bases disorders. Basic concepts and clinical management.* Boston: Little, Brown, 1987. 196 p.
318. Vanderputte van Messon G., Pecters G. Effects of intracerebroventricular administration of dopamine on urinary function in goats // *Arch. Int. Pharmacol. and Ther.* – 1979. – V. 241, N 1. – P. 108-120.
319. Vane J.R. A sensitive method for the assay of 5-hydroxytryptamine // *Brit. J. Pharmacol.* – 1957. – V. 12. – P. 344-349.
320. Vargas F., Osuna A., Fernandez-Rivas A. Abnormal renal vascular reactivity to acetylcholine and nitroprusside in aging rats // *General Pharmacology.* – 1997. – V. 28, N1. – P. 133-137.

321. Vatner S.F., Manders W.T., Knight D.R. Vagally mediated regulation of renal function in conscious primates // *Amer. J. Physiol.* – 1986. – V. 250. – P. H546-H549.
322. Verbeke M., Smollich B., van de Voorde J. et al. Beneficial influence of ketanserin on auto-regulation of blood flow in post-ischemic kidneys // *J. Am. Society Nephrol.* – 1996. – V. 7, N4. – P. 621-627.
323. Vigny P., Ballini J.P. // *Excited States in Organic Chemistry and Biochemistry*. Reidel, 1977. P. 1.
324. Vizi E.S., Orso E., Osipenko O.N., Hasko G., Elenkov I.J. Neurochemical, electrophysiological and immunocytochemical evidence for a noradrenergic link between the sympathetic nervous system and thymocytes // *Neuroscience*. – 1995. – V. 68. – P. 1263-1276.
325. Wang Z.Q., Siragy H.M., Felder R.A., Carey R.M. Intrarenal dopamine production and distribution in the rat. Physiological control of sodium excretion // *Hypertension*. – 1997. – V. 29, N 1 (Pt 2). – P. 228-234.
326. Wegelins O., Asboe-Hansen J. Histamine and connective tissue // *Acta rheumatol. Scand.* – 1957. – V. 3, N 1. – P. 18.
327. Weller A. // *Ibid.* – 1956. Bd. 60. – S. 1144-1147.
328. Williams J.M., Felten D.L. Sympathetic innervation of murine thymus and spleen: A comparative histofluorescence study // *Anat. Rec* – 1981. – V. 199. – P. 531-542.
329. Wolbfeis O.S. // *Molecular Luminescence Spectroscopy Method and Application*. N. Y., 1985. Pt 1. – P. 167.
330. Woodruff G.N. Plenary lecture on dopamine receptors // *Adv. Dopamine Res. Proc. Satell. Symp. 8 Int. Congr. Pharmacol.*, Okayama, July, 1981, Oxford e.a., 1982. – P. 1-24.
331. Wyeth R.P., Temma K., Siefen E. et al. Negative inotropic actions of nitric oxide require high doses in rat cardiac muscle // *Pfluegers Arch.* – 1996. – V. 432. – P. 678-684
332. Yamaguchi I., Yao L., Sanada H. et al. Dopamine D1A receptors and renin release in rat juxtaglomerular cells. // *Hypertension*. – 1997. – V. 29, N 4. – P. 962-968.
333. Yamasaki S., Sakurai E., Hikichi N. et al. The disposition of (R)-alpha-methylhistamine, a histamine H<sub>3</sub>-receptor agonist, in rats // *J. Pharmacy & Pharmacol.* – 1994 May. – V. 46, N 5. – P. 371-374.
334. Yokokoji K., Otsuka Y., Okabe T., Kanmatsuse K. The role of nitric oxide in two-kidney, one-clip renovascular hypertensive rats. // *Nippon Jinzo Gakkai Shi. Japanese J. Nephrol.* – 1997. – V. 39, N 4. – P. 395-409.
335. Young J.B. Regulation of urinary dopamine by protein and NaCl. A model of extraneuronal amine formation in kidney // *Am. J. Hypert.* – 1990. – V. 3, N 6 (Pt 2). – P. 14S-17S.
336. Yun J.C.H., Bartter F.C., Kelly G.D., Ramwell P. Interrelationship between acetylcholine and prostaglandins in the control of sodium excretion and renin secretion in anesthetized dogs // *Nephron*. – 1979. – V. 23. – P. 247.
337. Zoli M., Torri C., Ferrari R. et al. The emergence of the volume transmission concept // *Brain Res. Rev.* – 1998. – V. 26. – P. 136-147.
338. Zwart R., Verhaagh S., Buitelaar M. et al. Impaired Activity of the Extraneuronal Monoamine Transporter System Known as Uptake-2 in *Orct3/Slc22a3*-Deficient Mice // *Molecular and Cell. Biol.* – 2001. – V. 21, N 13. – P. 4188-4196.