

ФАРМАКОЛОГИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

ГЕКСЭСТРОЛ УГНЕТАЕТ СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ ОТВЕТЫ ИЗОЛИРОВАННЫХ ФРАГМЕНТОВ БЕРЕМЕННОЙ МАТКИ ЧЕЛОВЕКА, ВЫЗВАННЫЕ АТФ

А. У. Зиганшин, Д. Н. Аблаева, А. А. Хасанов, С. И. Аблаева,
Д. В. Нуруллина, Л. Е. Зиганшина¹

В экспериментах *in vitro* установлено, что синтетический аналог эстрогенных гормонов гексэстрол в высоких концентрациях угнетает АТФ-индуцируемые сократительные ответы изолированного миометрия беременных женщин. Делается предположение о возможном взаимодействии эстрогенных гормонов с P2-рецепторами в матке человека во время беременности.

Ключевые слова: АТФ, P2-рецепторы, гексэстрол, эстрогены, беременная матка человека

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на многочисленные попытки поиска эффективных методов лечения аномалии родовой деятельности являются одной из основных причин, по которой проводится оперативное родоразрешение, составляя до 25 % показаний к кесареву сечению [1]. Широко применяемые для лечения этих аномалий утеротонические средства, такие как окситоцин и простагландины, не всегда эффективны и обладают рядом побочных эффектов [2]. В этой связи изучение альтернативных механизмов регуляции сократительной деятельности матки представляется весьма актуальным для практического акушерства.

Известно, что во многих тканях человека и животных присутствуют P2-рецепторы, эндогенным агонистом которых является внеклеточная аденозин-5'-трифосфорная кислота (АТФ) [5]. Наличие P2-рецепторов и их функциональная активность были показаны и изучены в репродуктивных органах многих лабораторных животных [6]. В нашей лаборатории были получены данные о наличии P2-рецепторов в матке человека [4, 13 – 15]. Показано, что на поздних сроках беременности в матке человека выявляются сократительные ответы на АТФ и другие агонисты P2-рецепторов, тогда как на небеременной матке подобные ответы не регистрировались [15]. Наличие некоторых подтипов P2-рецепторов в миометрии беременных женщин подтверждено нами с помощью иммуофлюоресцентного

метода [13]. Однако до сих пор остаются не исследованными вопросы влияния женских половых гормонов на P2-рецепторопосредованные сокращения матки человека, взаимоотношения этих гормонов с агонистами и антагонистами P2-рецепторов.

В связи с этим целью настоящего исследования было оценить влияние синтетического аналога эстрогенных гормонов гексэстрола на сокращения беременного миометрия человека, вызываемые АТФ.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовались образцы миометрия беременных, поступивших на плановое оперативное родоразрешение в родильные дома Казани. У всех женщин получали информированное согласие на участие в исследованиях. Ткань забирали во время операции кесарева сечения на сроке 38 – 41 неделя. Для исключения влияния на результаты эксперимента спонтанной сократительной деятельности матки во время родов забор материала проводился только при плановых операциях до начала родовой деятельности.

Показаниями к оперативному родоразрешению явились: миопия высокой степени и патология глазного дна, тазовое предлежание и предполагаемый крупный плод, срок беременности 41 неделя и неподготовленные родовые пути, рубец на матке после кесарева сечения и после консервативной миомэктомии, хроническая гипоксия плода и фетоплацентарная недостаточность.

Образец миометрия иссекали из верхнего края операционного разреза матки, который проводился в области ее нижнего сегмента, немедленно помещали в охлажденный до 4 – 6 °С раствор Кребса и в таком виде доставляли в лабораторию для исследования.

В течение 2 – 4 часов от момента забора материала из него готовили гладкомышечные препараты цирку-

¹ Кафедра фармакологии фармацевтического факультета (зав. — проф. А. У. Зиганшин) и кафедра акушерства и гинекологии № 1 (зав. — доц. А. А. Хасанов) Казанского государственного медицинского университета, Казань, 420012, ул. Бултерова, 49;
Кафедра клинической фармакологии и фармакотерапии (зав. — проф. Л. Е. Зиганшина) Казанской государственной медицинской академии.

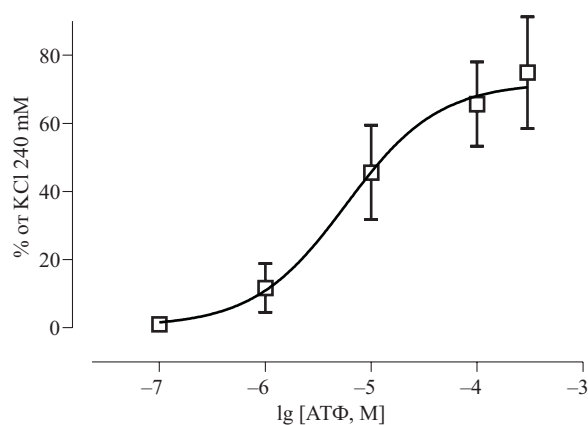


Рис. 1. Сократительные ответы изолированных гладкомышечных препаратов беременного миометрия человека, вызванные АТФ ($M \pm m$, $n = 10$).

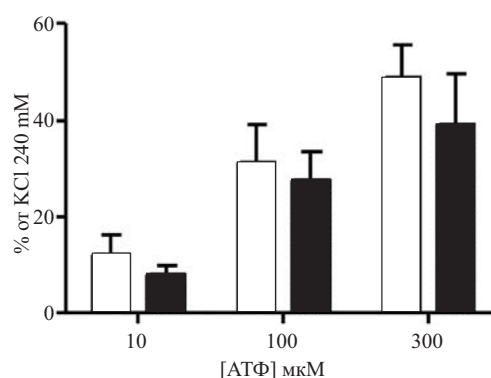


Рис. 2. АТФ-индуцированные сократительные ответы изолированных гладкомышечных препаратов беременного миометрия человека, зарегистрированные до (светлые столбики) и после (темные столбики) инкубации с ДМСО ($M \pm m$, $n = 6$).

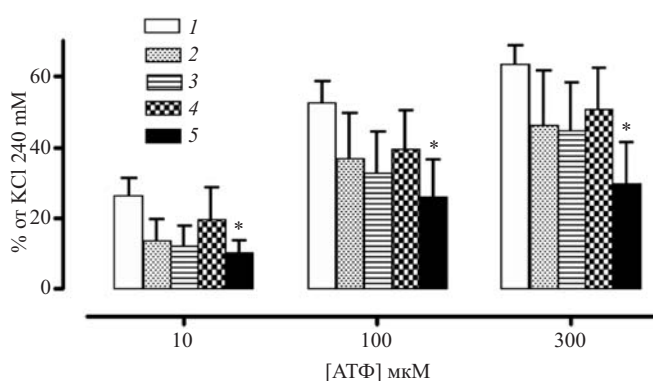


Рис. 3. АТФ-индуцированные сократительные ответы изолированных гладкомышечных препаратов беременного миометрия человека, зарегистрированные до (1) и после инкубации ткани с гексэстролом в концентрации 10^{-8} М (2), 10^{-7} М (3), 10^{-6} М (4) и 10^{-5} М (5). Результаты представлены в виде $M \pm m$, $n = 10 - 30$, * — $p < 0,05$ по сравнению со столбиком 1.

лярного слоя миометрия размером примерно 3×15 мм, которые помещали в термостатируемые стаканчики с модифицированным раствором Кребса. Сокращения регистрировали с помощью изометрического электронного датчика механической активности, запись сигнала, преобразованного с помощью специального интерфейса, проводили на компьютере.

Определялись сокращения мышечной ткани в ответ на введение АТФ в различных концентрациях до и после инкубации с гексэстролом ($10^{-8} - 10^{-5}$ М) в течение 60 мин. Использовали 2 % масляный раствор гексэстрола в виде препарата синестрол фирмы “Фармадон” в ампулах по 1 мл (молярная концентрация — $7,4 \cdot 10^{-2}$ М), разбавлением которого диметилсульфоксидом (ДМСО) получали необходимые концентрации препарата.

В конце каждого эксперимента регистрировали сократительный ответ ткани на раствор КСl в концентрации 240 мМ, по отношению к которому оценивались

все остальные сокращения. Результаты обработаны статистически непараметрическим методом Вилкоксона — Манна — Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

АТФ в концентрациях 0,1 – 300 мкМ вызывала концентрационно-зависимые сокращения изолированных препаратов беременного миометрия. В максимальной использованной концентрации (300 мкМ) сократительный эффект АТФ на изолированный миометрий достигал 70 – 75 % от сокращений, вызываемых КСl в концентрации 240 мМ (рис. 1). Сократительный ответ миометрия на АТФ был стабилен и достоверно не изменялся в течение всего эксперимента.

Для исключения возможного влияния ДМСО, который использовался как растворитель для гексэстрола, на механическую активность изолированных препаратов миометрия в контрольной серии экспериментов оценили собственный эффект этого вещества на АТФ-индуцированные сокращения матки. Установили, что при добавлении в инкубационную среду эквивалентных количеств ДМСО сократительный ответ миометрия на АТФ достоверно не изменялся (рис. 2).

Последующие серии экспериментов были проведены на фоне инкубации ткани с четырьмя концентрациями гексэстрола — 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} и 10^{-5} М. Установили, что АТФ вызывает концентрационно-зависимые сокращения изолированных мышечных препаратов беременного миометрия как до, так и после инкубации с гексэстролом при всех используемых концентрациях вещества. При этом, однако, в трех наименьших концентрациях гексэстрола достоверных изменений в амплитуде сокращений матки на АТФ установлено не было, хотя во всех этих трех концентрациях гексэстрола имела тенденция к достоверному снижению сокращений матки, вызванных АТФ в некоторых концентрациях (рис. 3).

В наибольшей из исследованных концентрации гексэстрола (10^{-5} М) мы выявили достоверное снижение

сократительных ответов матки на все три использованные концентрации АТФ (рис. 3).

Известно, что половые гормоны играют чрезвычайно важную роль в организме женщины как во время беременности, так и вне ее [11]. Начиная с момента оплодотворения, в женском организме вырабатываются многочисленные белки и гормоны беременности [3]. В частности, эстрогены позволяют регулировать продукцию и секрецию прогестерона в третьем триместре, участвуют в процессах созревания шейки матки, повышают чувствительность миометрия к окситоцину, увеличивают биосинтез простагландинов.

В настоящей работе мы установили, что гексэстрол в концентрации 10^{-5} М достоверно угнетает сократительные ответы изолированных препаратов беременной матки, вызванные АТФ. Эта концентрация является довольно высокой и в организме человека вряд ли достижимой, однако, на основании полученных данных при других концентрациях гексэстрола, являющихся более реальными для клинических условий, можно предположить, что в организме человека происходит определенное взаимодействие эстрогенных гормонов с АТФ.

Ранее было показано, что *in vitro* многие стероидные гормоны (эстрогены, как естественные, так и синтетические, фитоэстрогены, прогестерон, андрогены) оказывают ингибирующее влияние на сократительную деятельность матки человека (как на спонтанную, так и индуцируемую различными агентами). Интересно, что это ингибирующее влияние связывают не с привычным действием стероидных гормонов на внутриклеточные рецепторы, а с действием на уровне мембраны клетки, например, при блокировании кальциевых каналов L-типа цитоплазматической мембраны, что показано рядом исследований [9, 12].

Сходные результаты получены и в отношении взаимодействия стероидных гормонов с P2-рецепторами. В частности, негеномное ингибирующее влияние глюкокортикоидов на функцию P2-рецепторов установлено при изучении нейробластомных клеток мышей линии HT4 [8]. Аналогичный эффект 17β-эстрадиола показан в отношении CV-1 клеток почек обезьян [7], а

также эстрогенных гормонов в отношении клеток линии PC12 [10].

ВЫВОДЫ

1. Гексэстрол угнетает P2-рецептор-опосредованные сокращения изолированных препаратов беременной матки человека.

2. P2-рецепторы беременной матки рассматриваются как потенциальная мишень фармакологического воздействия при аномалиях родовой деятельности.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 06-04-48707).

ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Абрамченко, *Активное ведение родов: Руководство для врачей*, СпецЛит, Санкт-Петербург (2003).
2. Э. К. Айламазян, Н. Н. Петрищев, Е. В. Вивуланец и др., *Бюл. exper. биол.*, **134**(5), 439 – 441 (2002).
3. Е. Г. Гуменюк, О. К. Погодин, Т. А. Власова, *Акушерство. Физиология беременности*, ИнтелТек, Петрозаводск (2004).
4. А. У. Зиганшин, А. П. Зайцев, А. Ф. Шамсутдинов, *Бюл. exper. биол.*, **133**, 298 – 300 (2002).
5. G. Burnstock, *Pharmacol. Rev.*, **58**, 58 – 86 (2006).
6. G. Burnstock, G. Knight, *Internat. Rev. Cytol.*, 31 – 304 (2004).
7. C. Cario-Toumaniantz, G. Loirand, L. Ferrier, et al., *J. Physiol.*, **508**, 659 – 666 (1998).
8. J. Han, W. Lin, Y. Chen, *Acta Pharmacol. Sin.*, **26**, 199 – 204 (2005).
9. A. Kostrzewska, T. Laudanski, S. Batra, *Eur. J. Pharmacol.*, **233**(1), 127 – 134 (1993).
10. P. S. Liu, H. L. Hsieh, C. M. Lin, *Neurochem. Int.*, **39**(3), 193 – 198 (2001).
11. B. W. O'Malley, C. A. Strott, *Steroid hormones: metabolism and mechanism of action.*, Reproductive Endocrinology, S. S. C. Yen, R. B. Jaffe, R. L. Barbieri (eds.) Philadelphia, W. B. Saunders, pp. 120 – 129 (1999).
12. M. Perusquia, E. Navarrete, J. Jasso-Kamel, et al., *Biol. Reprod.*, **73**(2), 214 – 221 (2005).
13. А. У. Зиганшин, J. T. Zefirova, A. P. Zaitsev, et al., *Autonom. Neurosci. Bas. Clin.*, **106**, 24 (2003).
14. А. У. Зиганшин, J. T. Zefirova, T. P. Zefirova, et al., *Obstet. Gynecol.*, **105**, 1429 – 1436 (2005).
15. А. У. Зиганшин, А. P. Zaitsev, А. А. Khasanov, et al., *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, **129**, 128 – 134 (2006).

Поступила 16.04.08

HEXESTROL INHIBITS ATP-INDUCED CONTRACTILE RESPONSE OF ISOLATED PREPARATIONS OF PREGNANT HUMAN UTERUS

A. U. Ziganshin, D. N. Ablarva, A. A. Khasanov, S. I. Ablarva, D. V. Nurullina, and L. E. Ziganshina

Department of Pharmacology, Kazan State Medical University, ul. Butlerova 49, Kazan, Tatarstan, 420012, Russia

Department of Clinical Pharmacology and Pharmacotherapy, Kazan State Medical Academy, ul. Mushtari 11, Kazan, Tatarstan, 420012, Russia

The results of *in vitro* experiments showed that hexestrol, a synthetic analog of estrogen hormones, at high concentrations inhibited the contractile response of isolated preparations of pregnant human uterus induced by ATP. It is suggested that estrogen hormones can interact with P2 receptors in human uterus during pregnancy.