

Клеточные и рецепторные механизмы нарушения сократимости миокарда и аорты в модели болезни Альцгеймера

А.В. Леушина¹, Р.Ф. Гайфуллина^{1,2}, А.Л. Зефирова¹, А. Палотас³, М.А. Мухамедьяров¹

¹ Казанский государственный медицинский университет, Казань

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

³ «Асклепиос-Мед», Венгрия

Cellular and receptor mechanisms of impairment of myocardium and aorta contractility at Alzheimer's disease model

A.V. Leushina¹, R.F. Gaifullina^{1,2}, A.L. Zefirov¹, A. Palotas³, M.A. Mukhamedyarov¹

¹ Kazan State Medical University, Kazan

² Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan

³ Private medical practice and research center «Asklepios-Med», Hungary

Введение. Многочисленные исследования последних лет свидетельствуют о наличии взаимосвязи между болезнью Альцгеймера и патологией сердечно-сосудистой системы, однако механизмы этого феномена не ясны. В данной работе мы исследовали влияние β -амилоидного пептида (β АП), играющего ключевую роль в патогенезе болезни Альцгеймера, на сократимость миокарда и аорты крысы.

Материал и методы. Сократимость полосок миокарда желудочков и поперечных фрагментов брюшной аорты крыс исследовали при помощи стандартной миографической методики на установке Power Lab. Сократительные ответы полосок аорты вызывали путем аппликации агонистов различных рецепторов, а сократительные ответы полосок миокарда — электрической стимуляцией. Были исследованы сократительные ответы полосок аорты на добавление карбохолина (10^{-6} – 10^{-4} М), гистамина (10^{-6} – 10^{-4} М), норадреналина (10^{-5} – 10^{-3} М) и АТФ (10^{-6} – 10^{-4} М).

Результаты и обсуждение. На фоне действия β АП (10^{-6} М) наблюдалось нарушение карбахолин- и гистамин-вызванной сократительной активности аорты, заключающееся в извращенной сократительной реакции (расслабление вместо сокращения). На фоне действия β АП (10^{-6} М) наблюдались также нарушения сократительной активности миокарда желудочков, заключающиеся в уменьшении длительности фазы расслабления и увеличении скорости расслабления (положительный луситропный эффект). При этом, на фоне действия β АП (25–35) пропадал собственный положительный луситропный эффект норадреналина.

Таким образом, β АП (25–35) оказывает выраженное влияние на сократимость миокарда и аорты крысы, а также процессы их регуляции. Полученные данные расширяют наши представления о механизмах патогенеза болезни Альцгеймера, а также о патофизиологии сердечно-сосудистой системы.

Ключевые слова: β -амилоидный пептид, болезнь Альцгеймера, миокард, аорта, сократимость, луситропный эффект.

Многочисленные исследования последних лет свидетельствуют о том, что существует взаимосвязь между болезнью Альцгеймера и патологией сердечно-сосудистой системы. Сердечно-сосудистыми факторами риска развития болезни Альцгеймера являются инсульты, артериальная гипертензия, диабет, гиперхолестеринемия, сердечная недостаточность, фибрилляция предсердий и др. [1, 2]. Повышенный риск развития атеросклероза в среднем возрасте приводит к повышению риска развития болезни

Introduction. Recent studies certify the existence of link between Alzheimer's disease and cardiovascular pathology, however the mechanisms of this phenomenon is unclear. Here we studied the influence of Alzheimer's β -amyloid peptide (β AP) on the contractility of rat myocardium and aorta.

Material and methods. Contractility of myocardium ventricle strips and transverse fragments of abdominal aorta was measured at Power Lab setup using conventional myographic technique. Contractile responses of aorta strips were evoked by application of receptor agonists, contractile responses of myocardium — by electrical stimulation. Contractile responses of aorta strips after application of carbachol (10^{-6} – 10^{-4} M), histamine (10^{-6} – 10^{-4} M), norepinephrine (10^{-5} – 10^{-3} M) and ATP (10^{-6} – 10^{-4} M) were measured.

Results and discussion. We found the impairment of carbachol- and histamine-induced contractility of aorta, appearing as perverse contractile reactions (relaxation instead of contraction) under the action of β AP (10^{-6} M). Next, we found β AP-induced impairments of ventricle myocardium contractility, appearing as decrease of relaxation phase duration and increase of relaxation speed (positive lusitropic effect). Also, own positive lusitropic effect of norepinephrine was absent in presence of β AP (10^{-6} M).

Thus, β AP(25–35) significantly impairs the contractility of rat myocardium and aorta, as well as processes of its regulation. Obtained data significantly broad our understanding of mechanisms of Alzheimer's disease pathogenesis and pathophysiology of cardiovascular system.

Key words: β -amyloid peptide, Alzheimer's disease, myocardium, aorta, contractility, lusitropic effect.

Альцгеймера в старости [3]. Кроме того, β -амилоидная ангиопатия сосудов головного мозга является одной из наиболее распространенных патологий в пожилом возрасте, поражая большинство пациентов с болезнью Альцгеймера и около 30% здоровых людей [4]. Вероятно, β -амилоидный пептид (β АП), играющий ключевую роль в патогенезе болезни Альцгеймера [5], может играть важную роль во взаимосвязи между болезнью Альцгеймера и сердечно-сосудистой патологией, оказывая воз-

действие не только на нейроны, но и на кардиомиоциты и гладкомышечные клетки сосудов. β АП часто используется в экспериментах по моделированию болезни Альцгеймера на животных.

Несмотря на большое количество экспериментальных данных, механизмы влияния β АП на функции возбудимых тканей сердечно-сосудистой системы остаются неясными. В данной работе мы изучали влияние β АП на сократимость миокарда и аорты крысы.

Материал и методы

Миография. Эксперименты проводили на белых лабораторных крысах дикого типа. Сократимость полосок миокарда желудочков и поперечных фрагментов брюшной аорты исследовали в изометрическом режиме по стандартной миографической методике на установке Power Lab, оборудованной датчиками силы MLT 050/D (AD Instruments, США). Препараты помещали в перфузионный раствор следующего состава (в мМ): NaCl – 125, KCl – 2.5, CaCl₂ – 2, MgSO₄ – 1, NaH₂PO₄ – 1.25, NaHCO₃ – 25, глюкоза – 11. В течение всего эксперимента раствор азировали карбогеном (95% O₂, 5% CO₂), pH раствора поддерживали в пределах 7,3–7,4, а температуру на уровне 20°C. Препараты фиксировали вертикально одним концом к тензометрическому датчику, другим – к неподвижному штативу, а затем погружали в отдельные резервуары объемом 20 мл, куда подавался перфузионный раствор и карбоген. Сокращения полосок миокарда вызывали электрическими стимулами силой 10 В и длительностью 5 мс, подаваемыми с частотой 6 имп/мин. Сокращения сосудов вызывали аппликацией агонистов различных рецепторов (карбахолин (10⁻⁶–10⁻⁴ М), гистамин (10⁻⁶–10⁻⁴ М), норадреналин (10⁻⁵–10⁻³ М), АТФ (10⁻⁶–10⁻⁴ М). Силу сокращения в ответ на действие агонистов нормировали по отношению к калиевой контрактуре сосудов (240 мМ KCl), амплитуда которой принималась за 100%. После погружения препаратов в резервуары следовал период приработки в течение 60 мин, в ходе которого мышечным полоскам постепенно придавалось оптимальное натяжение.

β АП (фрагмент 25-35, 10⁻⁶ М) (Ascent Scientific, Великобритания) добавляли в перфузионный раствор за 60 минут до начала эксперимента.

Обработка результатов. Регистрация сокращений и обработка полученных результатов проводилась с помощью программы Chart 5.55 (AD Instruments, США). Исходную силу сокращения выражали в граммах, длительность фазы укорочения и длительность фазы полурасслабления – в секундах. Статистическую обработку производили при помощи программного комплекса Origin 7.5. Все результаты представлены в виде $M \pm m$. Статистическую значимость различий между величинами оценивалась по t-критерию Стьюдента, при этом различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В контрольных экспериментах было обнаружено, что норадреналин, гистамин и карбахолин (стойкий аналог ацетилхолина) вызывают сокращение брюшной аорты. С увеличением концентрации агонистов сила сокращения увеличивалась и для наивысшей использованной концентрации норадреналина (10⁻³ М) составила 115,3±11,1% (n = 6), гистамина (10⁻⁴ М) – 129,6±15,3% (n = 8), карбахолина

(10⁻⁴ М) – 103,1±13,9% (n = 7) от амплитуды калиевой контрактуры. АТФ (10⁻⁶М – 10⁻⁴М) достоверно не вызывала сократительного ответа (n = 5, P > 0,05).

На фоне действия β АП (25-35) (10⁻⁶М) эффекты норадреналина и АТФ не изменялись, тогда как действие карбахолина и гистамина извращалось. Как карбахолин, так и гистамин, на фоне действия β АП(25-35) вызывали не сокращение, а расслабление брюшной аорты, составившее 115,2±20% (n = 7) и 72,1±12,1% (n = 8), соответственно (рис.).

Таким образом, β АП (25-35) изменяет холинергическую и гистаминергическую реактивность брюшной аорты крысы, что, вероятно, свидетельствует о нарушении функционирования рецепторного аппарата сосуда. Механизм реализации данного эффекта неизвестен, однако к возможным причинам относятся воздействие β АП (25-35) на клеточные мембраны, ионные каналы и рецепторы плазматических мембран, β АП-вызванный окислительный стресс и внутриклеточный кальциевый дисбаланс и т.д.

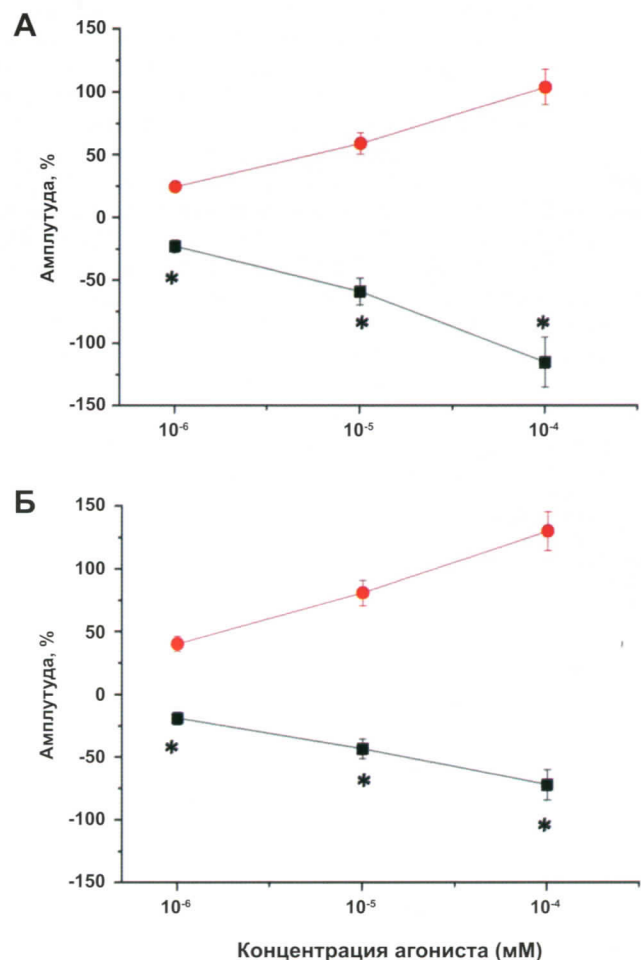


Рис. 1. Влияние β -амилоидного пептида на сократимость аорты крысы.

Представлены графики зависимости сократительных ответов полосок аорты от концентрации карбахолина (А) и гистамина (Б) в контроле (красные кружки) и на фоне действия β АП (25-35) (10⁻⁶ М) (черные квадраты); * – различия статистически значимы ($p < 0,05$)

Апликация β АП (25-35) (10^{-6} М) вызывала достоверное кратковременное увеличение силы сокращения желудочков относительно контрольных значений и через 20 мин она составила $125 \pm 14\%$ от исходных значений. Далее, амплитуда сокращений начинала уменьшаться и к 90 мин составила $112 \pm 12,4\%$ от контрольных значений ($n = 15, p > 0,05$). При этом β АП (25-35) не влиял на длительность фазы укорочения миокарда желудочков, однако уменьшал продолжительность фазы расслабления к 30 мин после подачи вещества до $84,3 \pm 4\%$ относительно исходного значения ($n = 15, p < 0,05$). Согласно расчетам, это сопровождалось значительным увеличением скорости расслабления миокарда желудочков: через 40 мин она составила $121 \pm 14\%$, а к 120 мин — $212,3 \pm 38\%$ от контроля ($n = 15, p < 0,05$). Таким образом, β АП (25-35) вызывает положительный люзитропный эффект в желудочках (увеличение скорости расслабления миокарда).

Симпато-адреналовая система оказывает большое влияние на функции сердечно-сосудистой системы в норме и при патологии. Представлялось интересным изучить эффекты норадреналина на фоне действия β АП. Апликация норадреналина в контрольных условиях приводила к увеличению амплитуды сокращений желудочков к 20-й мин действия до $173,8 \pm 18\%$ от исходных значений ($n = 10, p < 0,05$) (положительный инотропный эффект), снижению длительности фазы расслабления до $87,4 \pm 7,1\%$ ($n = 10, p < 0,05$) и увеличению скорости расслабления миокарда желудочков с $0,82 \pm 0,2$ г/с до $1,47 \pm 0,3$ г/с ($n = 10, p < 0,05$). На фоне действия β АП (25-35) (10^{-6} М) выраженность инотропного эффекта норадреналина достоверно не изменялась ($n = 10, p > 0,05$), а достоверных изменений длительности фазы расслабления и скорости

расслабления желудочков не наблюдалось ($n = 10, p > 0,05$). Таким образом, на фоне действия β АП (25-35) пропадает положительный люзитропный эффект норадреналина. Учитывая, что β АП (25-35) сам по себе оказывает положительный люзитропный эффект, можно предположить, что норадреналин и β АП (25-35) увеличивают скорость расслабления миокарда желудочков по сходному механизму.

Таким образом, β АП(25-35) оказывает выраженное влияние на сократимость миокарда и аорты и процессы регуляции их сократительной активности. Вероятно, не только сердечно-сосудистые нарушения являются факторами риска развития болезни Альцгеймера, но возможно и обратное влияние: деменция Альцгеймеровского типа (и, вероятно, другие заболевания, связанные с избыточной продукцией β АП) может приводить к нарушению функций сердечно-сосудистой системы. В конечном итоге, болезнь Альцгеймера и сердечно-сосудистая патология могут взаимоусиливать друг друга, формируя таким образом «порочный круг» патогенеза. Вероятно, поэтому клиницистам бывает довольно сложно провести дифференциальную диагностику между деменцией Альцгеймеровского типа и сосудистой деменцией, и довольно часто встречаются смешанные виды деменции.

Полученные данные расширяют наши представления о механизмах патогенеза болезни Альцгеймера, а также о патофизиологии сердечно-сосудистой системы.

Благодарности

Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-31502, государственным контрактом ФЦП с Минобрнауки России 16.512.11.2082, грантами Президента РФ №№ НШ-4670.2012.4 и МК-760.2011.4.

ЛИТЕРАТУРА

1. de Toledo Ferraz Alves T.C., Ferreira L.K., Wajngarten M. et al. Cardiac disorders as risk factors for Alzheimer's disease. J. Alzheimers. Dis. 2010; 20: 749–63.
2. Dolan H., Crain B., Troncoso J. et al. Atherosclerosis, dementia, and Alzheimer disease in the Baltimore. Longitudinal study of aging cohort. Ann. Neurol. 2010; 68: 231–40.

3. Skoog I., Lernfelt B., Landahl S. et al. 15-year longitudinal study of blood pressure and dementia. Lancet 1996; 347: 1141–5.
4. Love S., Miners S., Palmer J. et al. Insights into the pathogenesis and pathogenicity of cerebral amyloid angiopathy. Frontiers in Bioscience 2009; 14: 4778–92.
5. Walsh D.M., Selkoe D.J. A beta oligomers — a decade of discovery. J. Neurochem. 2007; 101: 1172–84.

Поступила 12.08.2012